

Toksični metali - bioindikatori zagađenja u morskom okolišu - II. dio: arsen i živa

Marija Sedak, Nina Bilandžić, B. Čalopek, Maja Đokić,
Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić,
Ines Varga, B. Šimić, Martina Đuras i T. Gomerčić*



Uvod

Redovita konzumacija hrane i vode za piće predstavlja najznačajniji prehrambeni izvor elemenata za sve žive organizme. Metali prisutni u organizmu mogu rezultirati različitim interakcijama od kojih su neke esencijalne dok druge mogu biti štetne. Teški metali: arsen, olovo, kadmij i živa spadaju u skupinu toksičnih neesencijalnih metala koji su prisutni u organizmu samo kao posljedica zagađenja i bez poznatih korisnih svojstava za život. Organizam ih može tolerirati u niskim koncentracijama, dok kod viših koncentracija postaju toksični. Prirodni procesi, poput: klimatskih reakcija, vulkanske aktivnosti, hidrotermalne aktivnosti u dubinama mora i isparavanje Zemljinog plašta (u slučaju elementarne žive) uvijek mobiliziraju toksične metale iz zemljine kore. Stoga ne iznenađuje činjenica da su mnogi organizmi, uključujući sisavce, razvili detoksikacijske mehanizme protiv štetnih učinaka unesenih toksičnih metala. Bakterije, na primjer, detoksiciraju absorbiranu metil-

živu (CH_3Hg^+) cijepanjem veze C-Hg nakon čega slijedi redukcija nastalog Hg^{2+} do elementarne žive Hg^0 . Elementarna živa može difundirati kroz staničnu membranu čime se uklanja iz organizma (Gailer, 2007.).

Nekoliko incidencija trovanja ljudske populacije nakon Prvog svjetskog rata zbog izloženosti CH_3Hg^+ , kadmiju, As^{III} i As^{V} te selenu otkrili su da na zdravstveno stanje sisavaca mogu znatno utjecati prirodne lokalne geokemijske prilike, antropogene emisije toksičnih metala u okoliš, rudarske aktivnosti i nehotična trovanja (Gailer, 2007.).

Selen i arsen spadaju u mikronutrijente kod životinja sudjelujući u aktivnostima enzima (Shibata i sur., 1992.). S druge strane, kadmij, olovo i živa su egzogeni, štetni elementi koji se akumuliraju tijekom rasta. Eksperimentalnim istraživanjima uočeno je smanjenje bioraspodivnosti pojedinih elemenata u tragovima, kao što su: arsen, živa i kadmij pomoću selen (Feroci i sur., 2005.).

Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ*, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, (dopisni autor, e-mail: bilandzic@veinst.hr), Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Branimir ŠIMIĆ, dipl. ing., redoviti profesor, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Morski sisavci unose kontaminante uglavnom hranom te im je riba glavni izvor selena i žive, a rakovi su važan izvor arsena (Kubota i sur., 2001.). Jetra vodenih organizama može djelovati kao organ za demetiliranje i/ili odvajanja organskog i anorganskog oblika žive, a selen je uključen u oba navedena mehanizma (Caurant i sur., 1996.). Morski sisavci su završne točke bioakumulacije žive u morskom hranidbenom lancu. Mogu akumulirati živu u jetri u koncentracijama višim od 100 µg/g mokre težine bez pojave simptoma trovanja (Ng i sur., 2001.). Živa je imunotoksični metal koji inducira supresiju limfocita dobrih dupina. Značajan pad vijabilnosti stanica otkriven je izolacijom periferne krvi dupina u uvjetima *in vitro* kod 10 mg/kg žive, dok kod 1 mg/kg i 5 mg/kg dolazi do početne faze apoptoze. Stanice dupina izložene živi odumiru na način koji je u skladu s induciranjem apoptoze, kao što je opisano u limfocitima kod ljudi (Shenker i sur., 2000.).

Arsen

Arsen (As) je toksični element rasprostranjen u okolišu. Iako može biti esencijalan jer ga neki mikroorganizmi koriste za proizvodnju energije, nema čvrstih podataka o bitnosti za biološki sustav. Dobro se apsorbira iz dišnog i probavnog sustava. Arsen djeluje na mitohondrijske enzime i koči mehanizam staničnog disanja. Unesen ingestijom, arsen se prosječno odstranjuje za 2-15 dana. Otrovati se može perakutno, akutno i kronično, arsenovodikom ili arsenom, koji je jedan od najotrovnijih plinova, kao i jedno od najjačih hemolitičkih sredstava u industriji (Duraković i Labar, 2000.). Postoji u anorganskom i organskom obliku i u različitim oksidacijskim stanjima (-3, 0, +3 i +5). U slučaju izloženosti okoliša toksikolozi se ponajprije bave arsenom u trovalentnom i pentavalentnom oksidacijskom stanju (Hughes, 2002.).

Za razliku od njegove moguće bitnosti u životu, mnoge studije su usmjerene na visoku toksičnost koja je tijekom godina dobro poznata iz različitih slučajeva trovanja. Toksičnost je posebno visoka kod anorganskog arsena odnosno, trovalentni anorganski arsen (arsenit) se veže za sulfhidrilne skupine enzima dovodeći do njihove inhibicije, dok petovalentni anorganski arsen (arsenat), strukturno sličan fosfatu, može poremetiti metaboličke reakcije koje zahtijevaju fosforilaciju (Cox, 1995.). Simptomi akutnog otrovanja osoba anorganskim arsenom su teški gastrointestinalni poremećaji, zatajenje jetre i bubrega i kardiovaskularni poremećaji. Kronična izloženost uzrokuje pigmentaciju kože, hiperkeratozu, karcinom pluća, mjehura, jetre i bubrega, kao i kože (Kunito i sur., 2008.).

Za razliku od negativnih svojstva, arsen je koristan u medicini. Arsen trioksid (As₂O₃) privukao je veliku pozornost kao terapijsko sredstvo za liječenje akutne promijelocitne leukemije i drugih vrsta karcinoma, iako točan mehanizam djelovanja nije u potpunosti razjašnjen (Zhu i sur., 2002.).

Za odrasle osobe, plodovi mora doprinose 74%-96% od ukupnog dnevnog unosa arsena, dok riža i rižine žitarice većinu ostatka. Kod djece, 41% od procijenjenog ukupnog unosa arsena porijeklom je iz plodova mora i 34% od riže i rižinih žitarica (Tao i Bolger, 1998.).

Toksikokinetika i toksikodinamika arsena

Toksični se anorganski arsen može biometilirati pomoću bakterija, algi, gljiva, beskralježnjaka i čovjeka čime nastaje monometilarsen (MMA) i dimetilarsen (DMA) koji su manje toksični od anorganskog arsena (Moore i sur., 1997.). U ljudi se metilacija anorganskog arsena uglavnom javlja u jetri, ali je moguća i u drugim organima (Roy i Saha, 2002.):

Arsenat (V) → Arsenit (III) → MMA (V) → MMA (III) → DMA (V)

Posredovanjem glutationa prvo dolazi do redukcije peterovalentnog anorganskog arsena (V) u trovalentni anorganski arsen (III). Nakon toga se metilna grupa iz S-adenozil metionina prenosi na trovalentni anorganski arsen (III) formirajući MMA. Zatim slijedi redukcija MMA (V) u međuprodukt MMA(III) i u zadnjem koraku metilacija MMA (III) koji se oksidira u DMA (V) (Roy i Saha, 2002.).

Trovalentni arsen lako reagira *in vitro* s molekulama koje sadrže tiolnu skupinu kao što su: glutation i cistein. Vežanje trovalentnog arsena na kritične tiolne skupine može spriječiti važne biokemijske reakcije koje mogu dovesti do toksičnosti. Međutim, vežanje arsenita na neesencijalna mjesta u proteinima mogu potaknuti detoksikacijski mehanizam. Arsenit inhibira piruvat-dehidrogenazu (PDH). Uloga PDH u citratnom ciklusu je oksidacija piruvata do acetil-CoA koji je osnovni supstrat u ciklusu. Citratni ciklus je glavni ciklus razgradnje kojim stanica osigurava ATP (10 ATP-a po acetilnoj jedinici). Inhibicija PDH u konačnici može dovesti do smanjenja proizvodnje ATP-a. Metilirani trovalentni arsen (MMA III) je potencijalni inhibitor glutation reduktaze i tioredoksin reduktaze. Inhibicija tih enzima može dovesti do citotoksičnosti (Styblo i sur., 2000.).

Zbog slične strukture i svojstva arsenat može zamijeniti fosfat u mnogim biokemijskim reakcijama. Na primjer, arsenat reagira *in vitro* s glukozom i glukonatom i formira glukoza-6-arsenat i 6-arsenogluconat. Ovi spojevi nalikuju glukoza-6-fosfatu i 6-fosfogluconatu. Glukoza-6-arsenat je supstrat za glukoza-6-fosfat dehidrogenazu i može inhibirati heksokinazu kao i glukoza-6-fosfat. Arsenat, također može zamijeniti fosfat i u natrijevoj pumpi (Hughes, 2002.).

Arsenat razdvaja *in vitro* formiranje adenzin-5'-trifosfata (ATP) mehanizmom arsenolize. Na supstratnoj razini,

arsenoliza se može pojaviti tijekom glikolize. U jednom koraku glikolitičkog puta fosfat je povezan enzimatski na D-gliceraldehid-3-fosfat i formira 1,3-difosfo-D-glicerat. Arsenat može zamijeniti fosfat u ovoj reakciji tvoreći anhidrid 1-arseno-3-fosfo-D-glicerat (Dixon, 1997.).

ATP nastaje tijekom glikolize u prisutnosti fosfata. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza se može pojaviti tijekom oksidativne fosforilacije. Adenzin-5'-difosfat-arsenat se sintetizira iz adenzin-5'-Difosfat (ADP) i arsenata u prisutnosti sukcinata. ADP-arsenat hidrolizira lako u odnosu na ADP-fosfata (ATP) koji se stvara tijekom oksidativne fosforilacije. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza smanjuje *in vitro* formiranje ATP-a zamjenom fosfata s arsenatom u enzimskim reakcijama (Hughes, 2002.).

Arsenobetain je dominantan oblik arsena u većini morskih životinja. Razgradnja arsenobetaina u anorganski arsen, nakon otpuštanja u okoliš razlaganjem uginulih životinja, je bitan završetak kruženja arsena u morskim ekosustavima. Postoje dva moguća puta za razgradnju arsenobetaina: pretvorba arsenobetaina u trimetilarsen-oksid (TMAO) ili u dimetilarsenol acetat (DMAA). U TMAO ili u DMAA se dodatno degradira u anorganski arsen kroz dimetilarsen (DMA) u oba puta. Bakterije koje razgrađuju arsenobetain su sveprisutne u morskom okolišu. Pokazalo se da mikrobne zajednice morskih sedimenata, morskih algi i lebdeće čestice mogu pretvoriti arsenobetain u TMAO, DMA pa čak i u anorganski arsen. Mikrobiološke zajednice na lebdećim česticama sakupljene na dubini od 3 500 metara također su u mogućnosti razgrađivati arsenobetain. Vrlo je vjerojatno da su aerobni mikroorganizmi prvenstveno uključeni u razgradnju arsenobetaina, jer se arsenobetain brže razgrađuju u aerobnim, nego u anaerobnim uvjetima (Kunito i sur., 2008.).

Toksičnost arsena u ljudi

Redosljed toksičnosti arsenovih spojeva u ljudi (Benramdane i sur., 1999.) je:

MMA (III) > Arsenit (III) > Arsenat (V) > MMA (V) = DMA (V)

Izloženost arsenu dovodi do nakupljanja arsena u tkivima poput kože, kose i noktiju, što rezultira različitim kliničkim simptomima, npr. hiperpigmentacija i keratoza. Tu je i povećan rizik od karcinoma kože, unutarnjih organa i pluća. Kardiovaskularne bolesti i neuropatija također su povezani s unosom arsena. Arsen može utjecati i na verbalnu komunikaciju i dugoročno pamćenje, može potisnuti hormonske regulacije i hormone koji posreduju pri transkripciji gena. Reprodukcijska toksičnost se manifestira učestalijim gubitcima ploda, prijevremenim porodima i smanjenom težinom novorođenčeta, što se može pojaviti čak i pri niskim (<10 µg/L) razinama izloženosti (Kapaj i sur., 2006.). Smrtonosna doza anorganskog arsena je 100-200 mg arsen trioksida u odraslih osoba, iako čovjek može preživjeti i veće doze (Benramdane i sur., 1999.). Posljedice kronične toksičnosti navedene su u Tabeli 1.

Karakteristike teške akutne toksičnosti arsena kod ljudske populacije uključuju probavne smetnje, povraćanje, proljev, krvave mokraće,

anurije, šok, konvulzije, komu i smrt. Dugi se niz godina vjerovalo da je akutna toksičnost anorganskog arsena veća od organskog te da je metilacija anorganskog arsena temeljni detoksikacijski mehanizam. Međutim, utvrđeno je da je derivat monometil arsen (MMA III) toksičniji nego arsenit, npr. kod *Candida humicola in vitro* te da su ljudske stanice također osjetljivije na citotoksične učinke MMA III u odnosu arsenita (Hughes, 2002.).

Arsen u morskim sisavcima

Morski okoliš ima značajnu ulogu u globalnom kruženju arsena. Anorganski arsen u morskoj vodi se biotransformira u organske spojeve arsena pomoću morske biote. U principu, morske alge akumuliraju anorganski arsen iz morske vode i pretvaraju ga u arsenošećere, nakon čega slijedi daljnja transformacije u arsenobetain kroz morski hranidbeni lanac (Kubota i sur., 2002.).

Arsen se javlja u morskoj vodi uglavnom u anorganskim oblicima arsenata i arsenita. Morski su organizmi, nemogućnosti izbjegavanja izloženosti potencijalno toksičnim anorganskim vrstama arsena, razvili mehanizme biotransformacije i detoksikacije. Rezultat je stvaranje više od 25 vrsta spojeva arsena koji se javljaju u morskim sustavima. Anorganski arsen prevladava u morskoj vodi, arsenošećeri

Tabela 1. Posljedice kronične toksičnosti arsena u ljudi (Hughes, 2002.).

Organ	Djelovanje
Koža	Kožne lezije
Kardiovaskularni sustav	Bolest crnih stopala
Živčani sustav	Periferna neuropatija, encefalopatija
Jetra	Povećanje jetre, ciroza
Hematološki sustav	Depresija koštane srži
Endokrini sustav	Dijabetes
Bubrezi	Proksimalna tubularna degeneracija, papilarne i kortikalne nekroze

u algama, i arsenobetaini u morskim životinjama. U morskoj vodi arsenat je dostupan u algama, vjerojatno zbog svoje kemijske sličnosti s esencijalnim fosfatnim anionom te ga one apsorbiraju u takvom obliku. Međutim, alge općenito ne akumuliraju arsenat nego ga biotransformiraju procesima metilacije i alkilacije u arsenošećer (Francesconi i Edmonds, 1998.).

Morski organizmi sadrže arsen u mnogo većim koncentracijama nego kopneni organizmi, a u nekim morskim vrstama koncentracije arsena premašuju 2 000 µg/g suhe tvari (Gibbs i sur., 1983.). Mnoge studije su provedene o koncentracijama arsena u morskim organizmima u nižim razinama hranidbenog lanca (npr. alge i školjke). Nasuprot tome, mali je broj istraživanja dostupan za morske sisavce, morske kornjače ili više organizme u morskom hranidbenom lancu. Morski sisavci pokazuju jedinstvene značajke u akumulaciji metala što može biti korisno za karakterizaciju akumulacije arsena u tim životinjama i razumijevanje kruženja arsena u morskom ekosustavu. U principu, količina i oblici arsenovih spojeva u morskim životinjama ovise o njihovom plijenu jer su morske životinje izložene arsenu uglavnom kroz svoju prehranu (Kunito i sur., 2008.). Najveće koncentracije arsena zabilježene u morskih sisavaca iznosile su 9,1 do 15,1 mg/kg suhe težine u mišićima, jetri i koži običnih dupina (*Delphinus delphis*) porijeklom iz alžirskog dijela Sredozemnog mora u razdoblju od 1998.-2002. (Carvalho i sur., 2002.). U prehrani kitova važan izvor arsena su rakovi (Kubota i sur., 2001., 2002.).

Potencijalni rizici povezani s konzumacijom plodova mora koji sadrže arsenobetain, glavni spoj arsena u ukupnoj koncentraciji arsena, izgledaju beznačajno. Kemijski gledano, arsenobetain ne djeluje mutageno u bakterijskom *Salmonella typhimurim* testu

(Ames test), nema učinaka na metaboličke inhibicije stanica jajnika kineskog hrčka u koncentraciji od 10 000 mg/L, i ne pokazuju sinergizam ili antagonizam djelovanja s drugim kontaminantima (Jongen i sur., 1985.).

Male koncentracije anorganskog arsena iz morske vode akumuliraju se u morskim životinjama. Morske životinje nakupljaju arsen ponajprije hranom. Razine arsena u morskim vodama otvorenih mora su 1-2 µg/L. Arsen je tu prisutan uglavnom kao anorganski arsenat, pogotovo u dubljim vodama. U višim površnim fotonskim slojevima, gdje prodire dovoljna sunčeva svjetlost za fotosintezu, provodi se redukcija i metilacija mikroorganizama. Osim As (V) oblika, površinske vode sadrže i As (III), MA i DMA u malim količinama (Borak i sur., 2007.).

Alge i fitoplanktoni iz morske vode unose arsenate putem transmembranskog transportnog sustava koji se inače koristi za unos esencijalnih fosfatnih aniona. Nakon unosa alge brzo detoksiciraju arsenat redukcijom i metilacijom u arsenit što rezultira formiranjem DMA i arsenošećera u procesu koji uključuje S-adenozilmetionin koji je donator metilne skupine i ribozil skupine. Koncentracije arsena u algama su oko 2-50 mg/kg suhe mase (WHO, 2001.).

U tkivima morskih životinja arsen nije ravnomjerno distribuiran. Uglavnom se akumulira u egzoskeletu beskralješnjaka te u jetri ribe. Koncentracije ukupnog arsena, kao i specifične vrste arsena su promjenjive. Na primjer anorganski arsen nalazimo gotovo isključivo u unutarnjim organima (crijeva, jetra, želudac, srce, škrge) dok je sadržaj arsena u mišićima gotovo u potpunosti arsenobetain. To ukazuje kako se oblici arsena i ukupna koncentracija u morskim organizmima razlikuju obzirom na konzumirano tkivo (Kirby i Maher, 2002.).

Živa

Živa (Hg) je kemijski element koji pripada teškim metalima i prisutan je u elementarnom (Hg^0), anorganskom i organskom obliku. Tijekom biogeokemijskog kruženja dolazi do pretvaranja žive iz elementarnog oblika u anorganske i organske spojeve. Prirodni izvori ispuštanja žive u okoliš su: erupcije vulkana, erozije tla, oslobađanje iz stijena i bakterijske razgradnje organskih živinih spojeva. U antropogene izvore spadaju: dobivanje žive iz živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima, termoelektrane, spaljivanje otpada, rudnici, rafinerije zlata i srebra. Postoje dva ciklusa transporta i distribucije žive u okolišu. Jedan je globalni i uključuje atmosferske cirkulacije elementarne živine pare iz izvora na kopnu do oceana. Drugi ciklus je lokalni i ovisi o metiliranju anorganske žive prvenstveno iz antropogenih izvora (Gray, 2002.).

Elementarna živa je tekućina na sobnoj temperaturi. Lako se otpušta u atmosferu u obliku živine pare zbog visokog tlaka pare. Anorganski spojevi žive postoje u dva oksidacijska stanja (Hg^+ i Hg^{2+}) koji su uglavnom u krutom stanju, kao i živine soli i živini spojevi s klorom, sumporom ili kisikom. Metil-živa i etil-živa su uobičajeni organski oblici žive kombinirani s ugljikom. Metil-živa se formira metilacijom anorganske žive djelovanjem mikroorganizama u okolišu i kao takva ulazi u vodeni hranidbeni lanac. Najviše koncentracije žive pronađene su kod predatorskih riba i morskih sisavaca. Zbog toga je ljudska populacija koja konzumira ribu izložena metil-živi. Glavni oblici žive kojima je izložena ljudska populacija su metil-živa iz plodova mora, anorganska živa iz hrane, i živine pare iz zubnih amalgama (Satoh, 2000.).

Atmosfera je prije svega transportni put emisije žive, dok kopneni i

oceanski procesi igraju važnu ulogu u preraspodjeli žive u kopnenom, slatkovodnom i morskom ekosustavu. Prijelaz žive u vodeni i kopneni ekosustav ovisi prvenstveno o kemijskim i fizičkim oblicima. Elementarna živa Hg^0 se može transportirati na velike udaljenosti, a atmosfersko vrijeme zadržavanja joj je nekoliko mjeseci do godinu dana. Hg^{2+} ima puno kraće atmosfersko zadržavanje od Hg^0 , odnosno, pohranjuje se lokalno ili regionalno. Metil-živa ($\text{CH}_3\text{-Hg}$) je glavni oblik žive u okolišu i glavni oblik nakupljanja u životinjama i ljudima. Postoji razlika između primarnih i sekundarnih izvora emisije žive. Primarni izvori, prirodni i antropogeni, prenose živu iz litosfere u atmosferu koja se taloži na kopnu i u oceanima. Ovako deponirana živa se može reducirati u Hg^0 , a zatim ponovno vratiti u atmosferu. Takvi procesi predstavljaju sekundarne izvore (Driscoll i sur., 2013.).

Toksikokinetika i toksikodinamika žive

Oko 7% do 15% anorganskih živinih spojeva apsorbira se u probavnom traktu nakon konzumacije. Anorganska živa se može apsorbirati kroz epidermu preko žlijezda znojnice, lojnica i folikula dlake. Živine soli su obično nehlapive krute tvari tako da su trovanja udisanjem rijetka. Najviše koncentracije anorganske žive pronađene su u bubrezima, što je i njezin ciljni organ. Proksimalne cjevčice su primarna meta nakupljanja živinih soli. Biološko vrijeme poluraspada se procjenjuje na oko 60 dana (Park i Zheng, 2012.).

Oralnim unošenjem elementarna živa se slabo apsorbira u probavnom traktu, manje od 0,01%. Slučajnim gutanjem elementarne žive, kao kod loma termometra, toksičnost je rijetka i uglavnom se ne očekuje. Međutim, oštećenje na probavnom traktu može

promijeniti mukoznu barijeru i omogućiti povećanu biodostupnost. Dermalna apsorpcija elementarne žive također je ograničena. Inhalacija u obliku živine pare je glavni put izloženosti elementarne žive. Udahnute živine pare se lako apsorbiraju u pluća i vrlo brzo dospijevaju u krv i distribuiraju u organe u tijelu (ATSDR, 1999.). Apsorbirana elementarna žive se oksidira u oblik Hg^{2+} u crvenim krvnim stanicama i tkivima. Međutim, živine pare se za razliku od anorganskih soli akumuliraju u središnjem živčanom sustavu. Primarni organi u kojima se živa nakuplja nakon udisanja para elementarne žive su mozak i bubrezi. Elementarna živa se snažno veže za selen ili SH-skupine nakon oksidacije u mozgu što može doprinijeti dugoročnoj kumulaciji u mozgu (Friberg i Mottet, 1989.).

Metil-živa se gotovo potpuno apsorbira (95-100%) u ljudskom probavnom traktu, od čega se 90% eliminiran fecesom. Metil-živa je prisutna u tijelu kao u vodi topivi kompleks, koji se veže uglavnom s atomom sumpora iz tiolnog liganada i prelazi krvno-moždanu barijeru vezana s L-cisteinom u molekulu nalik metioninu. Metil-živa se lako apsorbira kroz crijeva i nakuplja u mnogim tkivima, ali ne prelazi krvno-moždanu barijeru tako učinkovito kao elementarna živa. Međutim, na ulasku u mozak dolazi do demetiliranja u elementarnu živu (Bernhoft, 2012.).

Toksičnost žive u ljudi

Općenito, Hg^+ spojevi su manje toksični od Hg^{2+} spojeva zbog manje topivosti u vodi. Iako je apsorpcija Hg^{2+} spojeva puno slabija u usporedbi s organskim živinim spojevima, ona štetno djeluju nakon unosa u živi organizam (Satoh, 2000.). Živine soli su više korozivne od elementarne žive što povećava probavnu propusnost i apsorpciju. Akutno visoke doze živinih

soli prije svega prouzroče bol u prsima i teške gastrointestinalne simptome zbog korozivnih oštećenja probavnog trakta. Kod kroničnog anorganskog trovanja dolazi do oštećenje bubrega, uglavnom proksimalnih kanala. Klinički simptomi i znaci su poliurija i proteinurija koji se u težim slučajevima mogu razviti u bubrežni sindrom s hematurijom i anurijom (Clarkson i Magos, 2006.). Svjetska zdravstvena organizacija FAO/WHO je predložila "Prihvatljivi dnevni unos" za živu (ADI, Acceptable daily intake) koji iznosi 43 μg ukupne žive/dan za osobe od 60 kg (FAO/WHO, 1989.).

U Tabeli 2 navedeni su oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja. Akutna izloženost visokim razinama živinih para može dovesti do teškog oštećenja pluća, čak i smrti zbog hipoksije. Akutno trovanje živinim parama udisanjem obično se javlja nesretnim slučajem kod industrijskih radnika koji su s njima u kontaktu. Posljedice trovanja su tremor, parestezija, gubitak pamćenja, pretjerana podražljivost i odgođeni refleks koji je obično reverzibilne prirode. Kod kronične izloženosti živinim parama ciljni organi toksičnih učinaka su središnji živčani sustav i bubrezi.

Iako odrasli mogu imati neurološke posljedice kada su izloženi visokim koncentracijama metil-žive, povećana zabrinutost je usmjerena na djelovanje metil-žive na razvoj živčanog sustava nerođene djece i djece u razvoju. Posteljica je sposobna zaustaviti mnogo toksičnih elemenata, ali metil živa je iznimka po tome što može proći kroz posteljicu te se akumulira u višim koncentracijama u fetalnom dijelu, a ne na majčinoj strani. Negativna situacija za razvoj fetusa je što živa prelazi i krvno-moždanu barijeru te se dugoročno zadržava nakon prolaska. Razaranje moždanih stanica u samim počecima sprječava daljnji razvoj stanica što ograničava razvoj mozga i živaca (Liu i sur., 2008.).

Minamata bolest opisuje trovanje metil živom ljudi koji su živjeli uz Minamata zaljev u Kyushu, Japan 50-ih i 60-ih godina. Izvor metil žive bila je voda iz kemijske tvrtke gdje se živa koristila kao katalizator u proizvodnji acetaldehida. Metil živa se koncentrirala u hranidbenom lancu što je kod miješana rezultiralo vrlo visokim koncentracijama u njihovoj prehrani bogatoj ribi i školjkama. Broj žrtava u Minamata zaljevu bio je preko 2 200 (Watanabe i Satoh, 1996.).

Budući da su organski živini spojevi prvo korišteni kao sredstva za obradu sjemena dolazilo je i do trovanja nastalih konzumiranjem takvih pšeničnih zrnja i to u više navrata. U Iraku su zabilježene tri epidemije trovanja: jedna od 1955.-1956., druga od 1959.-1960. te treća i najveća epidemija dogodila se u razdoblju 1971.-1972. Te su epidemije prouzročene zbog distribucije sjemenki žitarica tretiranih s metil živom. Stanovnici u ruralnim sredinama koristili su tretirano sjeme namijenjeno sjetvi za izradu domaćeg

Tabela 2. Oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja.

	Metil-živa	Elementarna živa	Anorganska živa
Izvor	Riba, perad, pesticidi	Zubni amalgami, fosilna goriva, lateks boje, termometri	Demetiliranje metil-žive pomoću crijevne mikroflore; biološka oksidacija elementarne žive
Apsorpcija	95-100% u probavnom sustavu	75-85% apsorpiranjem para	7-15% gutanjem; 2-3% apsorpcijom putem kože kod životinja
Distribucija	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrezima	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrezima	Ne prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; pronađena u mozgu novorođenčeta, nakuplja se u bubrezima
Metabolizam	Kompleks cisteina potreban za unutarstaničnu apsorpciju; polako se demetilira u anorgansku živu u mozgu pomoću makrofaga	Oksidira unutar stanice u anorgansku živu pomoću katalaze i vodikovog peroksida	Metiliranje pomoću crijevne mikroflore; veže se i prouzroči biosintezu metalotioneina
Izlučivanje	90% žuči i fecesom; 10% urinom	Urin, feces, znoj i slina	Urin, žuč, feces, znoj i slina
Uzrok toksičnosti	Demetiliranje u anorgansku (divalentnu) živu; vezanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima	Oksidacija u anorgansku (divalentnu) živu	Vezanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima

kruha. Ukupan broj žrtava iznosio je oko 6 530, od toga 459 sa smrtnim posljedicama (Satoh, 2000.).

Metil-živa se apsorbira u posteljici i pohranjuje u mozgu fetusa u koncentracijama koje prelaze razine u majčinoj krvi. Nakon izlaska iz stanice u kompleksu s reduciranim glutationom metil-živa se razgrađuje u žučovodu na L-cistein kompleks. Samo 10% metil-žive se eliminira putem bubrega. Ostatak se reciklira u jetri ili demetilira pomoću crijevne mikroflore i eventualno eliminira fecesom (Cernichiari i sur., 1995.). Većina metil-žive kod životinja se degradira i eliminira iz organizma kao anorganska živa brzinom od jedan % po danu. Jetrena resorpcija je značajna u metabolizmu metil-žive jer se više od 70% resorbira iz crijeva i vrati u jetru. Utvrđeno je da je anorganska živa glavni oblik žive u moždanom tkivu ljudi izloženih letalnim dozama metil-žive. Pretvorba metil-žive u anorganski oblik odvija se u fagocitima jetre ili u astrocitima mozga (Clarkson, 2002.).

Ciljni organi toksičnih učinaka metil-žive uključuju središnji živčani sustav. Simptomi kronične toksičnosti su: parestezija, periferna neuropatija, cerebralna ataksija, grčevi, gubitak pamćenja, demencija, suženje vidnog polja, dizartrija, oslabljenje sluha, njuha i okusa, tremor i depresija (Patrick, 2002.).

Živa u morskim sisavcima

Porijeklo i kruženje metil-žive u morskom okolišu nije u potpunosti razjašnjeno. Pojedine studije pretpostavljaju da metil-živa potječe iz dubinskih sedimenata, dok je u nedavnim istraživanjima provedenim na otvorenim vodama Mediterana zaključeno da je većina metil-žive u vodi generirana *in situ* pomoću planktonskih organizama (Cossa i sur., 2009.). Nakon ulaska u vodeni hranidbeni lanac metil živa ima tendenciju vezanja za sulfhidrilne

skupine proteina i biomagnifikacije u višim trofičnim organizmima (Mason i sur., 2006.).

Za vrste koje obitavaju u dubokim vodama smatra se da akumuliraju više koncentracije teških metala od onih u plitkim vodama, vjerojatno kao posljedica njihove veće dugovječnosti i trofičke razine. Tako su relativno visoke količine žive pronađene u brojnim dubokomorskim ribama (Koenig i sur., 2013.). Ispitivanja provedena u sjevernim područjima Pacifičkog oceana također su pokazala da su razine žive više u pelargičnim predatorima koji se hrane na dubljim morskim dubinama (Choy i sur., 2009.).

U ribi se živa gotovo u potpunosti javlja u organskom obliku (obično >80%) i rijetko prelazi 1 µg/g mokre težine (Cappon i Smith, 1982.). Međutim, u tkivu jetre morskih sisavaca i ptica koji se hrane ribom, metil-živa se obično nalazi u vrlo malom postotku (<10% od ukupnih koncentracija žive). Takvo smanjenje relativnog udjela organske žive koja prelazi s plijena na predatora smatra se dokazom procesa biotransformacije u kojem se metil-živa razgrađuje u manje toksičan anorganski oblik skladištenja (Nigro i Lorenzo, 1996.).

Morski sisavci su u načelu izloženi metil živi koja je glavni fizikalno-kemijski oblik hrane u ribama i lignjama. Ipak, najveći dio žive akumuliran u jetri morskih sisavaca je anorganski što upućuje na jetru kao mjesto demetiliranja žive (Caurant i sur., 1996.). Jetra je glavni organ živine akumulacije, slijede ga bubreg i pluća, a zatim i koža i kosti.

Tijekom posljednjih desetljeća veliki se broj studija odnosi na problematiku tragova teških metala u morskim organizmima, naročito vezanih za razine žive u kitovima. Rezultati većine istraživanja upućuje na visoku varijabilnost u koncentracijama žive. Zbog dugotrajne postojanosti i visoke mobilnosti u morskom ekosustavu živa

pokazuje visoku razinu biomagnifikacije u višim razinama hranidbenog lanca (Frodello i sur., 2000.).

U morskom ekosustavu, hranidbeni lanac je uglavnom zagađen metil-živom zbog djelovanja anaeroba. Živa se akumulira u jetri dupina uglavnom u anorganskom obliku, premda su srdele i lignje koje oni konzumiraju najviše kontaminirane metil-živom (Ng i sur., 2001.).

Vrlo mali broj istraživanja bavio se ispitivanjima koncentracija žive u plućima kitova. Augier i sur. (1993.) su pretpostavili da živa može prodrijeti iz atmosfere u pluća, što može djelomično objasniti razmjerno visoke vrijednosti pronađene u tom organu. Utvrđene koncentracije u plućima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) kretala su se od 3 do 396 µg/g suhe težine. Leonzio i sur. (1992.) su ustanovili da budući da dupini akumuliraju živu 10-100 puta višu od ribe iz iste trofične razine (tuna, sabljarka) i prosječnog životnog vijeka, razlika između sisavaca i riba može ovisiti o razlikama u njihovom dišnom sustavu.

Razmjerno visoke razine žive su primijećene kod plavobijelih dupina s različitih područja Mediterana (Andre i sur., 1991., Leonzio i sur., 1992., Roditi-Elasar i sur., 2003.), dok su vrijednosti žive u uzorcima podrijetlom s francuske atlantske obale znatno niže (Andre i sur., 1991.). Te razlike se uglavnom objašnjavaju prisutnošću geoloških izvora žive i fotokemijskim transformacijama u mediteranskoj regiji (Ebinghaus i sur., 2009.). Međutim, Lahaye i sur. (2006.) su uočili da u određenoj dobi mediteranski i atlantski prugasti dupini pokazuju usporedive koncentracije žive. Naime, nedavna otkrića ukazuju na to da pored trofičkog položaja i dobi, odnosno, tjelesne mase, dubina staništa ima značajnu ulogu u akumulaciji žive u organizmu, a razina žive može se povećati s povećanjem morske dubine (Koening i sur., 2013.).

Dakle, atlantski plavobijeli dupini koji se hrane uglavnom mesopelargijskim plijenom mogu sadržavati koncentracije žive slične onima iz Mediterana gdje se plavobijeli dupini ponajprije hrane glavonošcima i demersalnom ribom iz gornjih slojeva mora (Lahaye i sur., 2006.).

Reproduktivne aktivnosti kao što su: trudnoća, porod i dojenje mogu prouzročiti promjene koncentracija metala. Canella i Kitchener (1992.) pronašli su znatno niže razine žive kod trudnica i dojilja ulješura (*Physeter macrocephalus*) u usporedbi s nerasplođnim ženjkama. Isto su tako sugerirali da ova pojava može biti posljedica hormonalnih promjena ili stresa koji prouzroči preraspodjelu žive u tkivima.

Utjecaj selen na toksikokinetiku i toksikodinamiku žive

Živa se prirodno nalazi u okolišu u različitim kemijskim oblicima, a metil-živa (Me-Hg) predstavlja posebnu zabrinutost u vodenom okolišu. Ona je najotrovniji oblik žive koja se nakuplja i biomagnificira u hranidbenom lancu i doseže najviše koncentracije kod grabežljivaca na vrhu hranidbenog lanca. Kod morskih sisavaca glavni put izloženosti odvija se putem prehrane. Kada se unese u organizam metil-živa se lako apsorbira u probavnom traktu gdje tvori kompleks s aminokiselinom cisteinom i tako može lakše ući u stanice. Naposljetku, ovaj novi kompleks se transportira u jetru gdje se pretvara u manje toksičan anorganski oblik živa-selenid (HgSe) koja služi kao učinkovita adaptacija na visoke dnevne unose metil-žive (Borrell i sur., 2014.).

Kao esencijali element, selen je sastavni dio enzima glutation peroksidaze i štiti membranske lipide, proteine i nukleinske kiseline od oštećenja oksidanata i slobodnih radikala (Liu i sur., 2008.). Selen

ima različite bioanorganske interakcije pa može reagirati s metalima i formirati netopive selenide čime se smanjuje toksičnost metala. Zaštitna uloga u ublažavanju neurotoksičnih učinaka žive odavno je dokazana (Liu i sur., 2008.). Prvo izvješće o zaštitnom učinku selenita u odnosu na toksičnost žive se spominje 1967. Koeman i sur. (1973.) su određivali sadržaj žive i selenita u morskim organizmima. Rezultati su pokazali da su u jetri i mozgu tuljana, dupina i pliskavica iz svih krajeva svijeta, koncentracije žive povezane s koncentracijama selenita. Ustanovljeno je da se koncentracije žive i selenita pojavljuju u omjeru 1:1. Između molarnih koncentracija selenita i žive u jetri *La Plata* riječnih dupina (*Pontoporia blainvillei*) postoji značajan pozitivan linearni odnos (Seixas i sur., 2007.). Slični podaci vrijede i za druge morske sisavce. Korelaciju između ova dva elementa su kod ljudi potvrdili Kosta i sur. (1975.). Isto tako je ustanovljen molarni omjer 1:1 u organima štitnjače, hipofize, i bubrega kod ljudi nakon dugotrajnog izlaganja visokim razinama anorganske žive (Beijer i Jernelov, 1978.).

Kod morskih sisavaca živa se unosi prehranom uglavnom u metiliranom obliku (MeHg), a zatim se pretvara u manje toksičan oblik, anorgansku živu. Stoga je velik dio žive pohranjen u jetri u anorganskom obliku. Selen detoksificira anorgansku živu formiranjem kompleksa koji sadrži oba elementa u ekvimolarnom omjeru. Rawson i sur. (1995.) su pronašli živu-selenid u jetri i dišnom sustavu dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) i bjeloleđih dupina (*Globicephala macrorhynchus*). U dobrom dupinu izmjerene su relativno visoke koncentracije žive u plućima (264 µg/g suhe težine). Nadalje, živa selenid (HgSe) je pronađena u jetri nekih vrsta morskih sisavaca pa se pretpostavlja da je to konačni, inertni proizvod detoksikacijskog procesa u tim morskim životinjama. Selen djeluje

i na toksičnost drugih metala osim žive. Kadmijski, bakar, olovo, platina, kositar i talij također tvore kompleks sa selenom što je eksperimentalno dokazano kod životinja. Iako su mnoge studije provedene kako bi se okarakterizirala akumulacija žive u višim trofičkim morskim životinjama, detoksikacijski mehanizam žive i selenita, kao i razlike u međudjelovanju u različitim vrstama organizama još nije u potpunosti razjašnjeno (Ikemoto i sur., 2004.).

Živini spojevi se uglavnom metaboliziraju u jetri gdje se mogu demetilirati ili su podvrgnuti konjugacijskim reakcijama s glutationom i selenom. Formiranje netopljivih spojeva žive i selenita smatra se procesom kojim selen može spriječiti živinu toksičnost. S druge strane, selen je važan element koji je dio niza enzima (selenoenzima) u obliku selenocisteina. Budući da je selenol grupa (SeH) u selenocisteinu vrlo reaktivna, selenoenzimi su odrednice za očuvanje stanične homeostaze. Umanjenje selenoenzimskih funkcija je povezano s razvojem više patoloških stanja kao što su srčane i neurodegenerativne bolesti (Branco i sur., 2012.).

Godine 1973. Koeman je prvi pokazao korelaciju između koncentracija žive i selenita među morskim sisavcima u Sjevernom moru u molarnom omjeru 1:1. Vrlo visoke koncentracije žive, najčešće povezane s visokim razinama selenita, pronađene su u jetri i slezeni odraslih jedinki prugastih dupina nasukanih u Ligurijskom moru (Capelli i sur., 2000.). Sličan fenomen je uočen kod morskih sisavaca u Mediteranskom moru, japanskoj obali Pacifičkog oceana i na kanadskom Arktiku (Ng i sur., 2001.). Prisutnost selenita i anorganske žive u molarnom omjeru 1:1 u tkivu jetre potvrđuje zaštitnu ulogu selenita u odnosu na toksičnost žive (Capelli i sur., 2000.).

Visoke koncentracije žive u jetri povezuju se s njenom ulogom u biotransformaciji štetnih tvari (Honda

i sur., 1983., Thompson, 1990.). Demetilacija, odnosno pretvaranje organske žive u manje toksični anorganski oblik zbiva se u jetri. Živa se u kitovima jetre pohranjuje u netopivom obliku živa selenida. Spojevi seleno pomažu u zaštiti organizma kod oksidativnih oštećenja uslijed djelovanja žive (Cuvin-Aralar i Furness, 1991.). U jetri dobrih dupina i glavatih dupina (*Grampus griseus*) vizualizirana je živa selenid pomoću elektronskog mikroskopa. Živa selenid tvori sferične konkrecije koje agregiraju i tvore granule ili kamence varijabilnih veličina (Nigro i Leonzio, 1996.). Rawson i sur. (1995.) su otkrili da je živa selenid prisutna u jetri i dišnom sustavu dobrog dupina i bjeloleđeg dupina (*Globicephala macrorhynchus*).

Sažetak

Teški metali arsen, olovo, kadmij, živa i arsen su toksični neesencijalni metali prisutni u organizmu samo kao posljedica zagađenja i bez poznatih korisnih svojstava za život. Organizam ih može tolerirati u niskim koncentracijama dok kod viših koncentracija postaju toksični. Arsen djeluje na mitohondrijske enzime i koči mehanizam staničnog disanja. Postoji u anorganskom i organskom obliku i u različitim oksidacijskim stanjima te je u okolišu prvenstveno prisutan u trovalentnom i pentavalentnom oksidacijskom stanju. Simptomi akutnog otrovanja anorganskim arsenom su teški gastrointestinalni poremećaji, zatajenje jetre i bubrega i kardiovaskularni poremećaji. Kronična izloženost prouzroči pigmentaciju kože, hiperkeratozu, karcinom pluća, mjehura, jetre i bubrega, kao i kože. Arsen se javlja u morskoj vodi uglavnom u anorganskim oblicima arsenata i arsenita. Morski organizmi sadrže arsen u mnogo većim koncentracijama nego kopneni organizmi te su u nemogućnosti izbjegavanja izloženosti potencijalno toksičnim anorganskim vrstama arsena razvili mehanizme biotransformacije i detoksikacije. Arsen nije ravnomjerno distribuiran u tkivima morskih životinja i uglavnom se akumulira u egzoskeletu beskralješnjaka te u jetri ribe. Koncentracije ukupnog arsena, kao

i specifične vrste arsena su promjenjive. Tako je anorganski arsen prisutan gotovo isključivo u unutarnjim organima (crijeva, jetra, želudac, srce, škrge) dok je sadržaja arsen u mišićima gotovo u potpunosti arsenobetain. Živa u okoliš, prije svega, dopijeva erupcijama vulkana, erozijom tla, iz stijena i bakterijskom razgradnjom organskih živinih spojeva. Antropogeni izvori su živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima. Akutno visoke doze živinih soli prvenstveno uzrokuju bol u prsima i teške gastrointestinalne simptome zbog korozivnih oštećenja probavnog trakta. Kod kroničnog anorganskog trovanja dolazi do oštećenje bubrega, uglavnom proksimalnih kanala, poliurije i proteinurije. Metil-živa je glavni oblik žive u okolišu i glavni oblik nakupljanja u životinjama i ljudima i formira se metilacijom anorganske žive djelovanjem mikroorganizama u okolišu i kao takva ulazi u vodeni hranidbeni lanac. Najviše koncentracije žive pronađene su kod predatorskih riba i morskih sisavaca. Živa se najviše akumulira u jetri morskih sisavca u anorganskom obliku što upućuje na jetru kao mjesto demetiliranja žive. Tako se živini spojevi uglavnom metaboliziraju u jetri gdje se mogu demetilirati ili su podvrgnuti konjugacijskim reakcijama s glutationom i selenom. Formiranje netopljivih spojeva žive i seleno se smatra procesom kojim selen može spriječava živinu toksičnost.

Ključne riječi: teški metali, arsen, živa, bioakumulacija, morski sisavci

Literatura

1. ANDRE, J., A. BOUDOU, F. RIBEYRE and M. BERNHARD (1991): Comparative study of mercury accumulation in dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the French Atlantic and Mediterranean coasts. *Sci. Total Environ.* 104, 191–209.
2. ATSDR (1999): Toxicological Profile for Mercury. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.
3. AUGIER, H., W. K. PRAK and C. RONNEAU (1993): Mercury contamination of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* Meyen from the French Mediterranean coasts. *Mar. Pollut. Bull.* 26, 306–311.
4. BEIJER, K. and A. JERNELOV (1978): Ecological aspects of mercury-selenium interactions in the marine environment. *Environ. Health Perspect.* 25, 43–45.
5. BENRAMDANE, L., M. ACCOMINOTTI, L. FANTON, D. MALICIER and J. J. VALLON (1999):

- Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning - a case report. *Clin. Chem.* 45, 301-306.
6. BERNHOFT, R. A. (2012): Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J. Environ. Public Health.* 2012, 460-508.
 7. BORAK, J. and H. D. HOSGOOD (2007): Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47, 204-212.
 8. BORRELL, A., A. AGUILAR, V. TORNERO and M. DRAGO (2014): Concentrations of mercury in tissues of striped dolphins suggest decline of pollution in Mediterranean open waters. *Chemosphere.* 107, 319-323.
 9. BRANCO, V., J. CANARIO, J. LU, A. HOLMGREN and C. CARVALHO (2012): Mercury and selenium interaction in vivo: effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 52, 781-793.
 10. CANELLA, E. J. and D. J. KITCHENER (1992): Differences in mercury levels in female sperm whale, *Physeter macrocephalus* (Cetacea: Odontoceti). *Aust. Mammal Soc. S.* 15, 121-123.
 11. CAPELLI, R., G. DRAVA, R. DE PELLEGRINI, V. MINGANTI and R. POGGI (2000): Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). *Adv. Environ. Res.* 4, 31-43.
 12. CAPPON, C. J. and J. C. SMITH (1982): Chemical form and distribution of mercury and selenium in edible seafood. *J. Anal. Toxicol.* 6, 10-21.
 13. CARVALHO, M. L., R. A. PEREIRA and J. BRITO (2002): Heavy metals in soft tissues of *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis* from west Atlantic Ocean by X-ray spectrometry. *Sci. Total Environ.* 292, 247-254.
 14. CAURANT, F., M. NAVARRO and J. C. AMIARD (1996): Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. *Sci. Total Environ.* 186, 95-104.
 15. CERNICHIARI, E., R. BREWER and G. J. MYERS (1995): Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicol.* 16, 705-710.
 16. CHOY, C. A., B. N. POPP, J. J. KANEKO and J. C. DRAZEN (2009): The influence of depth on mercury levels in pelagic fishes and their prey. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 13865-13869.
 17. CLARKSON, T. W. and L. MAGOS (2006): The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 36, 609-662.
 18. CLARKSON, T. W. (2002): The three modern faces of mercury. *Environ. Health Perspect.* 110, 11-23.
 19. COSSA, D., B. AVERTY and N. PIRRONE (2009): The origin of methylmercury in open Mediterranean waters. *Limnol. Oceanogr.* 54, 837-844.
 20. COX, P. A. (1995): The Elements on Earth: Inorganic Chemistry in the Environment. Oxford University Press, Oxford, str. 287.
 21. CUVIN-ARALAR, M. L. A. and R. W. FURNESS (1991): Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 21, 348-364.
 22. DIXON, H. B. F. (1997): The biochemical action of arsonic acids especially as phosphate analogues. *Adv. Inorg. Chem.* 44, 191-227.
 23. DRISCOLL, C. T., R. P. MASON, H. M. CHAN, D. J. JACOB and N. PIRRONE (2013): Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environ. Sci. Technol.* 47, 4967-4983.
 24. DURAKOVIĆ, Z. and B. LABAR (2000): Hematološke promjene kao posljedice otrovanja. U: *Klinička toksikologija*, Grafos, Zagreb, str. 83-87.
 25. EBINGHAUS, R., C. BANIC, S. BEAUCHAMP, D. JAFFE, H. KOCK, N. PIRRONE, L. POISSANT, F. SPROVIERI and P. WEISS-PENZIAS (2009): Spatial coverage and temporal trends of land-based atmospheric mercury measurements in the Northern and Southern Hemispheres. In: *Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere* (Pirrone, N., Mason, R., eds.), Springer, New York, pp. 223-291.
 26. FAO/WHO (1989): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO food additive series No. 44.
 27. FEROCI, G., R. BADIELLO and A. FINI (2005): Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18, 227-234.
 28. FRANCESCO, K. A. and J. S. EDMONDS (1998): Arsenic species in marine samples. *Croat. Chem. Acta.* 71, 343-359.
 29. FRIBERG, L. and N. K. MOTTET (1989): Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. *Biol. Trace Elem. Res.* 21, 201-206.
 30. FRODELLO, J. P., M. ROMEO and D. VIALE (2000): Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environ. Pollut.* 108, 447-452.
 31. GAILER, J. (2007): Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. *Coordin. Chem. Rev.* 251, 234-254.
 32. GIBBS, P. E., W. J. LANGSTON, G. R. BURT and P. L. PASCOE (1983): Tharyx marioni (Polychaeta): a remarkable accumulator of arsenic. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 63, 313-325.
 33. GRAY, J. S. (2002): Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 46-52.
 34. HONDA, K., R. TATSUKAWA, K. ITANO, N. MIYAZAKI and T. FUJIYAMA (1983): Heavy metal concentrations in muscle, liver, and kidney tissue of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* and their variations with body length, weight, age and sex. *Agric. Biol. Chem.* 47, 1219-1228.
 35. HUGHES, M. F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol. Lett.* 133, 1-16.
 36. IKEMOTO, T., T. KUNITO, H. TANAKA, N. BABA, N. MIYAZAKI and S. TANABE (2004): Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47, 402-413.
 37. JONGEN, W. M. F., J. M. CARDINAALS and P. M. J. BOS (1985): Genotoxicity testing of arsenobetaine,

- the predominant form of arsenic in marine fishery products. Food Chem. Toxicol. 23, 669–673.
38. KAPAJ, S., H. PETERSON, K. LIBER and P. BHATTACHARYA (2006): Human health effects from chronic arsenic poisoning - a review. J. Environ. Sci. Health A 41, 2399-2428.
 39. KIRBY, J. and W. MAHER (2002): Tissue accumulation and distribution of arsenic compounds in three marine fish species: relationship to trophic position. Appl. Organomet. Chem. 16, 108-115.
 40. KOEMAN, J. H., W. H. M. PEETERS, C. H. M. KOUDSTAAL-HOI, P. S. TJOE and J. J. M. GOEIJ (1973): Mercury-selenium correlation in marine mammals. Nature 245, 385-386.
 41. KOENING, S., M. SOLÉ, C. FERNÁNDEZ-GÓMEZ and S. DÍEZ (2013): New insights into mercury bioaccumulation in deep-sea organisms from the NW Mediterranean and their human health implications. Sci. Total Environ. 442, 329–335.
 42. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2001): Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. Environ. Pollut. 115, 303–312.
 43. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2002): Chemical speciation of arsenic in the livers of higher trophic marine animals. Mar. Pollut. Bull. 45, 218-223.
 44. KUNITO, T., R. KUBOTA, J. FUJIHARA, T. AGUSA and S. TANABE (2008): Arsenic in marine mammals, seabirds, and sea turtles. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 195, 31-69.
 45. LAHAYE, V., P. BUSTAMANTE, W. DABIN, O. VAN CANNEYT, F. DHERMAIN, C. CESARINI, G. J. PIERCE and F. CAURANT (2006): New insights from age determination on toxic element accumulation in striped and bottlenose dolphins from Atlantic and Mediterranean waters. Mar. Pollut. Bull. 52, 1219-1230.
 46. LEONZIO, C., S. FOCARDI and C. FOSSI (1992): Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian (NW Mediterranean). Sci. Total Environ. 119, 77–84.
 47. LIU, J., R. A. GOYER and M. P. WAALKES (2008): Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 7. ed. (Casarett L. J., Doull, J., Klaassen, C. D., eds.), McGraw- Hill, New York, pp. 931-979.
 48. MASON, R., D. HEYES and A. SVEINSDOTTIR (2006): Methylmercury concentrations in fish from tidal waters of the Chesapeake Bay. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 51, 425–437.
 49. MOORE, M. M., K. HARRINGTON-BROCK and C. L. DOERR (1997): Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. Mutat. Res./ Rev. Mutat. 386, 279-290.
 50. NG, P. S., H. LI, K. MATSUMOTO, S. YAMAZAKI, T. KOGURE, T. TAGAI and H. NAGASAWA (2001): Striped dolphin detoxicates mercury as insoluble Hg (S, Se) in the liver. P. Jpn. Acad. B-Phys. 77, 178-183.
 51. NIGRO, M., and C. LEONZIO (1996): Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. Mar. Ecol. – Prog. Ser. 1351, 137-143.
 52. NRIAGU, J. O. (2002): Arsenic poisoning through the ages. In: Environmental Chemistry of Arsenic (Frankenberger, W. T. Jr., ed.) Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1–26.
 53. PARK, J. D. and W. ZHENG (2012): Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. J. Prev. Med. Public Health 45, 344-352.
 54. PATRICK, L. (2002): Mercury toxicity and antioxidants: Part 1; role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. Altern. Med. Rev. 7, 456-471.
 55. RAWSON, A. J., J. P. BRADLEY, A. TEETSOV, S. B. RICE, E. M. HALLER and G. W. PATTON (1995): A role for airborne particulate in high mercury levels of some cetaceans. Ecotox. Environ. Safe. 30, 309-314.
 56. RODITI-ELASAR, M., D. KEREM, H. HORNUNG, N. KRESS, E. SHOHAM-FRIDER, O. GOFFMAN and E. SPANIER (2003): Heavy metal levels in bottlenose and striped dolphins off the Mediterranean coast of Israel. Mar. Pollut. Bull. 46, 503-512.
 57. ROY, P. and A. SAHA (2002): Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. Curr. Sci. 82, 38-45.
 58. SATOH, H. (2000): Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. Ind. Health 38, 153-164.
 59. SEIXAS, T. G., H. A. KEHRIG, G. FILLMANN, A. P. M. DIBENEDITTO, C. M. M. SOUZA and E. R. SECCHI (2007): Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. Sci. Total Environ. 385, 208–220.
 60. SHENKER, B. J., T. L. GUO and I. M. SHAPIRO (2000): Mercury-induced apoptosis in human lymphoid cells: evidence that the apoptotic pathway is mercurial species dependent. Environ. Res. 84, 89–99.
 61. SHIBATA, Y., M. MORITA and K. FUWA (1992): Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. Adv. Biophys. 28, 31–80.
 62. STYBLO, M., L. M. DEL RAZO, L. VEGA, D. R. GERMOLEC, E. L. LECLUYSE, G. A. HAMILTON, W. REED, C. WANG, W. R. CULLEN and D. J. THOMAS. (2000): Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. Arch. Toxicol. 74, 289-299.
 63. TAO, S. S. H., and P. M. BOLGER (1998): Dietary intakes of arsenic in the United States. In: SEGH 3rd Inter. Conf. Arsenic Expos. Health Effect (Chappel, W. R., Abernathy, C. O., Calderon, R. L., eds.), p. 85.
 64. THOMPSON, D. R. (1990): Heavy metals in the Marine Environment (Furnes, R. W., Rainbow, P. S., eds.), CRC Press, London, pp. 143–182.
 65. WHO (2001): Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224. World Health Organization, Geneva.
 66. ZHU, J., Z. CHEN, V. LALLEMAND-BREITENBACH and H. THÉ (2002): How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. Nat. Rev. Cancer 2, 705-713.

Toxic Metals - Bioindicators of Pollution in the Marine Environment - Part II.: Arsenic and Mercury

Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ines VARGA, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia; Branimir ŠIMIĆ, PhD, Full Professor, Faculty for Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Croatia; Martina DURAS, Assistant Professor, DVM, PhD, Tomislav GOMERČIĆ, Assistant Professor, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Heavy metals arsenic, lead, cadmium, mercury and arsenic are toxic nonessential metals that are present in the body only as a result of pollution and have no known beneficial properties for life. The body can tolerate these metals at low concentrations whereas at higher concentrations they become toxic. Arsenic affects mitochondrial enzymes and inhibits the mechanism of cellular respiration. The metal exists in inorganic and organic form and in different oxidation states and is primarily present in the environment in the trivalent and pentavalent oxidation states. Symptoms of acute inorganic arsenic toxicity are severe gastrointestinal disorders, liver failure and renal and cardiovascular disorders. Chronic exposure causes skin pigmentation, hyperkeratosis, cancer of lung, bladder, liver, kidneys and skin. Arsenic occurs mainly in seawater in its inorganic forms as arsenate and arsenite. Marine organisms contain arsenic in much higher concentrations than terrestrial organisms. As there is no other way to avoid exposure to potentially toxic inorganic arsenic species, these organisms have developed biotransformation and detoxification mechanisms. Arsenic is evenly distributed in the tissues of marine animals and mainly accumulates in the exoskeleton of invertebrates and the liver in fish. The concentrations of total arsenic, as well as specific types of arsenic, are changing. Inorganic arsenic is present almost exclusively in the internal organs (intestines, liver, stomach, heart, gills) while the arsenic content in muscle tis-

sue is almost entirely arsenobetaine. Mercury is found in the environment primarily due to volcanoes, erosion of soil and rock, and bacterial decomposition of organic mercury compounds. Anthropogenic sources are mercury ores, fossil fuel combustion, and industries that use mercury in technological processes. Acute high doses of mercury salts primarily cause chest pain and severe gastrointestinal symptoms due to corrosive damage to the gastrointestinal tract. Chronic mercury poisoning leads to kidney damage, mainly of the proximal channel, polyuria and proteinuria. Methyl mercury is the main form of mercury in the environment and the main form that accumulates in animals and humans, and it is formed by the methylation of inorganic mercury by microorganisms in the environment and as such enters the aquatic food chain. The highest concentrations of mercury have been recorded in predatory fish and marine mammals. Mercury accumulates in the inorganic form primarily in the liver of marine mammals, which suggests that the liver is the site of mercury demethylation. Therefore, mercury compounds are mainly metabolized in the liver where they can be demethylated or are subjected to conjugation reactions with glutathione and selenium. The formation of insoluble compounds of mercury and selenium is considered a process in which selenium can prevent mercury toxicity.

Key words: *Heavy metals, Arsenic, Mercury, Bioaccumulation, Marine mammals*