

Toksični metali - bioindikatori zagađenja u morskom okolišu - I. dio: kadmij i olovo

*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

Tijekom proteklih 200 godina postupno povećanje antropogenih aktivnosti poput potrošnje fosilnih goriva, metalne industrije, taljenja, primjene umjetnih gnojiva, spaljivanje komunalnog otpada omogućili su mobilizaciju toksičnih metala iz zemljine kore (geosfere) u globalni okoliš (hidrosferu, atmosferu i biosferu). Ukupna koncentracija žive u alpskom snijegu (Mont Blanc, Francuska) je porasla pet puta u razdoblju od 1885. do 1965. godine. Kvantitativna procjena svjetske antropogene zagađenosti zraka, vode i tla s toksičnim metalima pokazala je da ljudske aktivnosti znatno narušavaju biogeokemijske cikluse najmanje jedanaest elemenata na globalnoj razini (Gailer, 2007.). Osnovni razlog zabrinutosti obzirom na povećane koncentracije toksičnih metala u okolišu je da svakodnevnim unosom relativno malih doza dolazi do dramatičnih zdravstvenih učinaka kod čovjeka. Na primjer, dnevni unos od 200 do 250 µg anorganskog arsena može rezultirati pojavom karcinoma

(Marcus i Rispin, 1988.). Dakle, izlaganje ljudske populacije povećanim prehranbenim razinama anorganskih i organskih oblika toksičnih metala značajno povećava rizik od kroničnih bolesti.

Metali u morski okoliš dospijevaju iz prirodnih izvora (npr. trošenjem stijena), kao i ljudskih aktivnosti (npr. rudarstvo). Mogu se akumulirati u morskim organizmima raznim putevima, uključujući disanje, adsorpciju i gutanje. Hranidbene navike i brzina resorpcije važni su čimbenici u procjeni koncentracije metala u tim organizmima. U zagađenim morskim sustavima, koncentracije toksičnih metala u sedimentima nekoliko puta su više od onih u živim organizmima. Kako morski sisavci ne dišu pomoću škrga, njihov se unos metala izravno iz vode može zanemariti. Tri glavna puta unosa metala su preko posteljice prije rođenja, mlijekom tijekom razdoblja sisanja te unosom hrane. Dakle, nakon perioda laktacije kod morskih sisavaca unos metala je u njihov

Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, 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-biotehnoški fakultet, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

organizam uglavnom putem hrane, a takav unos može dovesti do nakupljanja elemenata u tkivima (Zhou i sur., 2001.).

Uporaba biomarkera u vodenim organizmima vrlo je važna radi rješavanja širokog spektra industrijskih, poljoprivrednih, komercijalnih i domaćih štetnih tvari koja dospijevaju u okoliš i integriraju se u tkivima vodenih organizama.

Biomarkeri mogu poslužiti kao prognostički alat za povećane razine onečišćenja. Definiraju se kao funkcionalna mjera izloženosti kemijskim i fizikalnim zagađivačima (Tosti i Gallo, 2012.). Metode procjene rizika pružaju kvantitativnu procjenu vjerojatnosti štetnog učinka koji je nastao kao posljedica onečišćenja okoliša uslijed različitih mješavina kemijskih zagađivača koje mogu djelovati i sinergijski. Ekotoksikološke studije koriste biomarkere u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja okoliša na ključne komponente u ekosustavu.

Stanište i prehrana morske sisavce čini idealnim indikatorima zdravlja vodenog ekosustava (Van der Schalie i sur., 1999.). Povećane koncentracije teških metala mogu prouzročiti promjene imunološkog sustava i mijenjati podložnost bolesti životinje (Lapierre i sur., 1999.). Dugoročne posljedice klimatskih i okolišnih promjena zasigurno utječu na nastanak bolesti morskih biljaka i životinja. Koncept morskih organizama kao indikatora („sentinel“ vrsta) pruža pristup procjene stanja vodenih ekosustava. Takvi indikatori su barometri za postojeće ili potencijalno negativne učinke na razini zdravlja životinja. S druge strane, pomoću morskih indikatora omogućuje se bolja karakterizacija i upravljanje čimbenicima koji u konačnici utječu na zdravlje životinja i ljudi, a povezani su s morskim okolišem. Morski sisavci su važna indikatorska vrsta zbog dugog životnog vijeka, dugoročni su obalni stanovnici, na vrhu su hranidbenog lanca, i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremišta za antro-

pogene toksine. Morski sisavci mogu biti izloženi okolišnom stresu, kao npr. kemijskim tvarima, štetnim biotoksinima algi i patogenima. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme. Ovaj pristup osigurava novi put za bolje razumijevanje povezanost između ekosustava i zdravlja ljudi (Bossart, 2006.).

Pojam biomagnifikacije se definira kao prijenos ksenobiotika iz hrane u organizam, što rezultira višom koncentracijom u organizmu od one koja je inicijalno utvrđena u izvoru (Connell, 1989.). Isto tako, postoje i dva mehanizma unosa kontaminanata, biokoncentracija i bioakumulacija. Biokoncentracija je unos kemikalija od strane organizma izravno iz abiotskog okoliša što rezultira višoj koncentraciji unutar organizma, odnosno, akumuliranje tvari u organizmu. Bioakumulacija je definirana kao unos kemikalije od strane organizma iz abiotskog i/ili biotskog (hrana) okoliša, odnosno, povećanje koncentracije tvari u organizmima kroz hranidbeni lanac (Rand i sur., 1995.).

Analiza tkiva različitih vrsta kitova i dupina koristi se kao sredstvo prilikom procjene onečišćenja morskog okoliša elementima u tragovima (Caurant i sur., 1994.). Dokazano je da je hranidbeni lanac glavni put bioakumulacije selena, arsena, kadmija i žive u vodenim organizmima (Kubota i sur., 2001.). Morski sisavci unose kontaminante uglavnom gutanjem. Lignje su glavni izvor kadmija kod kitova, jer prirodno sadrže visoke koncentracije ovog metala (Bustamante i sur., 1998.). Stoga je utvrđeno da fiziološki čimbenici u kitova kao vrsta prehrane pridonosi nakupljanju metala no vrlo važan faktor bioakumulacije metala je životni vijek kitova (Monaci i sur., 1998.).

Teški metali mogu prouzročiti promjene imunološkog sustava i povećati incidenciju zaraznih bolesti kod morskih sisavaca (Bennett i sur., 2001.). Kadmij može

dovesti do imunotoksičnih promjena leukocita dupina inducivanjem apoptoze limfocita, utječući na limfocitnu funkciju i fagocitozu kao živa, ali na višim koncentracijama. Olovo može doprinijeti malim promjenama u imunološkom sustavu dobrih dupina djelovanjem na limfocitnu aktivnost (Cámara Pellissó i sur., 2008.).

Razumijevanje uloge morskih sisavaca u morskim ekosustavima je važno, jer pruža kontekst unutar kojeg se ocjenjuje mogući utjecaj grabežljivaca na plijen i strukturu zajednica, a promjene okoliša na dinamiku morskih sisavaca. Ovo razumijevanje s druge strane može pomoći u poticanju racionalne rasprave o zaštiti i upravljanju morskim sisavcima (Bossart, 2006.).

Kadmij

Kadmij (Cd) je teški metal koji predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje te je bez poznatih korisnih svojstava za život. Klasificiran je 1993. kao kancerogen prve skupine koji negativno utječe na ljude i životinje. Ubraja se u zagađivače okoliša i nalazi se na osmom mjestu među dvadeset najopasnijih tvari (ATSDR, 2012.). Ima dugačak biološki poluvijek (20 god.), a ciljni organi su bubrezi i jetra. Mehanizmi koji dovode do kancerogeneze kadmija su prije svega oni koji uzrokuju oksidativni stres, inhibiciju mehanizama popravka DNK te povećanje ili smanjenje tendencije prema apoptozi (Sarkar i sur., 2013.).

Emisije kadmija nastaju iz dva glavna izvora: prirodnog i antropogenog. Prirodni izvori obuhvaćaju procese poput abrazije stijena, erozije tla, prijenos zagađenih čestica tla vjetrom, šumskim požarima i vulkanskim erupcijama. Iz tla se apsorbira u biljke, a prehranbenim lancem dalje prenosi i akumulira u životinjama i ljudima. Samo se 4-6% kadmija iz tla prenese u vodu gdje se u sedimentima akumulira brže nego u bioti (Burger, 2008.).

Profesionalna izloženost kadmiju manifestira se udisanjem kadmijevih para, u industriji kadmij-nikal baterija i pigmentnim bojama (ATSDR, 2012.). Osim toga, zbog naglog razvoja modernih tehnologija, gdje se kadmij upotrebljava u CdSe/CdTe kombinacijama, primjerice, u proizvodnji fotonaponskih solarnih ćelija i nanomaterijala za biološke aplikacije, možemo, uz dosadašnje razine onečišćenja okoliša kadmijem, u budućnosti očekivati i povišenje tih razina (Lazarus, 2010.). Glavni izvor kadmija u općoj populaciji je hrana, posebno žitarice (riža i pšenica), povrće, lignje, školjke i iznutrice, kao i duhanski dim.

Morski sisavci mogu ublažiti toksične učinke kadmija vezanjem za metalotionein-MT tako da je većina kadmija u tijelu vezana za taj mali, cisteinom bogati protein (Nordberg, 2004.). MT vezan za kadmij je prvi put otkriven 1957. u bubregu konja (Margoshes i Vallee, 1957.). Kasnije je pronađen u jetri i bubregu različitih morskih sisavaca poput sivog tuljana (*Halichoerus grypus*) i sjevernih tuljana krznaša (*Arctocephalus gazella*) (Olafson i Thompson, 1974.), kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*) (Ridlington i sur., 1981.), plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) (Kwohn i sur, 1986), običnih tuljana (*Phoca vitulina*) (Tohyama i sur., 1986.) i glavatih ulješura (*Physeter catodon*) (Holsbeek i sur., 1998.).

Jednokratnom izloženosti organizma kadmij se akumulira prije svega u jetri. Niskomolekularni protein, MT u jetri formira kompleks s kadmijem (Cd-MT). Otpuštanjem iz jetre u krv Cd-MT kompleks se distribuira u različita tkiva i organe u ljudskom tijelu (Sarkar i sur., 2013.). Raspodjela kadmija u tijelu ovisi o kemijskom obliku tog elementa. Povećana akumulacija Cd²⁺ iona u jetri, bubrezima i kostima nastaje nakon izlaganja kadmiju u obliku anorganskih soli (npr. CdCl₂), a ne kadmiju u kompleksu s MT (Cd-MT). CdCl₂ se akumulira uglavnom u jetri, a

Cd-MT u bubrezima. Pretpostavlja se da se oko 50% kadmija u tijelu pohranjuje u jetri i bubrezima (Siddiqui, 2010.). Kadmij se može akumulirati i u plućima udisanjem kontaminiranog zraka. Iako je plućni epitel učinkovita barijera za toksične molekule i teške metale, kadmij može proći kroz alveolarne stanice i ući u krv (Bressler, 2004.). Apsorpcija kadmija iz probavnog trakta je pod snažnim utjecajem sadržaja proteina, cinkovih i bakrenih spojeva, kalcija i željeza u prehrani. Njihova niska koncentracija u prehrani povećava apsorpciju kadmija iz probavnog trakta i njegovu akumulaciju u tijelu. Povećanje količine cinka u prehrani smanjuje intenzitet apsorpcije kadmija iz probavnog trakta. Kadmij se može apsorbirati i iz probavnog trakta zajedno s tiolnim skupinama cistein-SH i glutationa (GSH) u obliku Cd-cistein, Cd-GSH. Apsorbirani kadmij se prenosi u jetru (Sarkar i sur., 2013.).

Toksikokinetika i toksikodinamika kadmija

Apsorpcija iz probavnog trakta je glavni put izloženosti kadmija kod ljudi. U laboratorijskim ispitivanjima provedenim na životinjama, količina kadmija apsorbiranog iz gastrointestinalnog trakta je niska, ali se povećava s povećanjem doze. Sadržaj MT u crijevima se povećava 25 puta uz prisutnost cinka, a više od 90% kadmija u citosolu crijevnih stanica je vezana na MT. Međutim, indukcija MT-a u crijevima uz prisutnost cinka ne utječe na povećanje crijevne apsorpcije kadmija (Goon i Klaassen, 1989.).

Iako MT u početnoj raspodjeli kadmija ima ograničenu ulogu u pojedinim tkivima, njegovo zadržavanje u tkivu ovisi o MT-u (Liu i sur., 2001.). Kadmij se uglavnom nakuplja u bubrezima i jetri gdje su prisutne i visoke razine MT-a. Indukcija jetrenog MT-a gotovo poništava izlučivanje kadmija putem žuči. Koncentracija kadmija u bubrezima je pro-

porcionalna bubrežnim razinama MT-a. Dostupnost kadmija u mozgu ovisi o dobi životinje. Mozak novorođene životinje je propustan za kadmij, međutim, njegova se propusnost smanjuje s godinama uslijed sazrijevanja krvno-moždane barijere. Ipak, MT ima važnu ulogu u zadržavanju kadmija u tkivima te je odgovoran za dugi biološki poluraspad kadmija u tijelu (Klaassen i sur., 2009.).

Kadmije biološki nerazgradivi i redoks inertan u odnosu na druge prijelazne metale kao što su željezo i bakar. Malo je poznato o biotransformacijama kadmija osim njegovog vezanja sa sulfhidrilnim skupinama u molekulama MT i glutationa. Cd-MT kompleks uglavnom nastaje u jetri, otpušta se u krvi i transportira u bubrege (Nordberg, 2004.). Molekule kao što je albumin, cistein, glutation i proteini koji sadrže sulfhidrilne skupine isto tako mogu formirati kompleks s kadmijem kao i MT. Unos kadmija je posredovan transportnim proteinima kao što su DMT1 (transportni protein 1), proteini kalcijevih kanala i ZIP 8 transporter koji mu omogućuju prijenos do ciljanog tkiva. Promjena ekspresije transportnih proteina može utjecati na stanični unos i akumulaciju kadmija, odnosno na toksičnost kadmija (Klaassen i sur., 2009.).

Čovjek je uglavnom izložen kadmiju udisanjem i gutanjem. Apsorpcija kadmija kožom je relativno mala, iako se male količine mogu apsorbirati perkutano tijekom dužeg perioda izlaganja. Dok je CdCl₂ dobro topivi u vodi i osnovni je oblik oralne izloženosti, a nasuprot tome, CdO je glavni oblik kadmija povezan s inhalacijom. Apsorpcija kadmija kroz pluća je relativno učinkovitija od apsorpcije u probavnom traktu (Zalups i Ahmad, 2003.). Nakon unosa kroz pluća ili probavni trakt kadmij se transportira u plazmu vezan na albumin. U takvom obliku dopijeva u jetru. Dio se kadmija iz jetre izlučuje u žuč i vezan je za glutation. Mali dio kadmija vezanog na MT se otpušta u plazmu, filtrira kroz bubrežne

glomerule i reapsorbira u proksimalnim bubrežnim kanalicima adsorptivnom endocitozom. Kadmij zatim ulazi u lizozime tubularnih stanica gdje se otpušta s metalotioneina. Slobodni ioni kadmija mogu prouzročiti oštećenje tkiva ako metalotionein nije prisutan. Kod dugoročne izloženosti kadmiju, nevezani kadmij stimulira proizvodnju metalotioneina u stanicama bubrežnih kanalica i omogućuje vezanje u kompleks Cd-MT štiteći na taj način stanicu (Nordberg, 2009.).

Kadmij uglavnom ulazi u stanice pomoću tri transmembranska transportera: DMT1-divalentni metal transporter, Ca^{2+} kanali nadzirani naponom i Zip 8. Unutar stanice, kadmij se (Sarkar i sur., 2013.):

- veže na metaloproteine vezanjem na mjesto željeza, mangana, cinka, bakra, itd. pri čemu dolazi do pogrešnog smatjanja proteina ili eventualno proizvodnje reaktivnih kisikovih radikala (ROS), odnosno reaktivnih spojeva dušika (RNS) što dovodi do oksidativnih oštećenja uslijed čega slijedi smrti stanice;
- veže na MT istiskujući Zn^{2+} koji se povezuje s MTF1 transkripcijskim faktorom, koji se translocira u jezgru kako bi pokrenuo transkripciju ciljnih gena;
- veže se za specifične receptore na membrani endoplazmatskog retikuluma, što dovodi do oslobađanja kalcija, koji će ili aktivirati kaspazu i dovesti do apoptoze, ili će aktivirati određene kinaze i fosfataze čime dolazi do transkripcije gena staničnog ciklusa i stanične proliferacije ili vezanje Ca^{2+} pri čemu dolazi do razgradnje proteina;
- pokretanje apoptoze mitohondrijskim putem.

Toksičnost kadmija na ljude

Kadmij se smatra jednim od najtoksičnih metala. Prvi opisani slučaj

povezan sa štetnim djelovanjem toga metala objavljen u izvješću 30-ih godina 20. stoljeća bio je oštećenje pluća kod radnika izloženih povećanim koncentracijama kadmija (Nordberg, 2004.). Visoka koncentracija kadmija kod čovjeka može dovesti do teških skeletnih deformacija ("itai-itai" bolest), bubrežnih lezija (uglavnom na proksimalnim tubulima), plućnih oštećenja, disfunkcije kardiovaskularnih i hematopoetskih sustava te mogu imati kancerogene, mutagene i teratogene učinke (Das i sur., 2003.).

Kadmij prouzroči toksičnost u mnogim tkivima. Akutna trovanja kadmijem prouzroče plućni edem, krvarenje, oštećenja testisa i smrtnost. Dugoročno izlaganje kadmiju dovodi do nefrotoksičnosti, osteotoksičnosti i imunotoksičnosti (ATSDR, 2012.). Kadmij je klasificiran i prema IARC kao kancerogen za čovjeka zbog uzrokovanja tumora pluća i prostate. Glavni mehanizmi uključeni u kancerogenezu kadmija mogu se podijeliti u četiri skupine: aberantnu ekspresiju gena, inhibiciju popravka oštećenja DNK, inhibiciju apoptoze i indukciju oksidativnog stresa (Sakar i sur., 2013.). Jetra je glavni organ akutne toksičnosti kadmija, ali i kronične toksičnosti nakon dugoročne izloženosti CdCl_2 (Klaassen i sur., 2009.). Dugotrajna izloženost ljudi kadmiju rezultira njegovom akumulacijom u tijelu i dovodi do bolesti koje prije svega utječu na pluća i bubrege (IARC, 1993.). Lezije bubrega nakon izloženosti kadmiju i živi zabilježene su kod ljudi i životinja. Podatci kod ljudi i laboratorijskih sisavaca pokazuju da koncentracija kadmija u korteksu bubrega od 200 do 220 $\mu\text{g/g}$ mokre težine može izazvati tubulopatiju (oštećenje proksimalnih kanalica) uključujući proteinuriju (WHO, 1992). Elinder i Järup (1996.) su ustvrdili da je koncentracija od 50 $\mu\text{g/g}$ mokre težine u korteksu bubrega dostatna da izazove bubrežnu disfunkciju (proteniurija) u starijih osoba i u populacijama koje su kronično izložene

kadmiju iz okoliša. Kadmij dospjeva u bubrege u obliku kadmij-metalotioneina (Cd-MT). Cd-MT se filtrira u glomerulima, a nakon toga resorbira u proksimalne tubule. Količina kadmija u stanicama tubula povećava se tijekom životnog vijeka. Povećanje kadmija u bubrežima rezultira većim izlučivanjem kalcija, što dovodi do većeg rizika od bubrežnih kamenaca (Godt, 2006.). Tubularna oštećenja uz gubitak resorptivnog kapaciteta za hranjive tvari, vitamine i minerale te nefropatija i proteinurija povezuju se s dugotrajnim izlaganjem niskim dozama kadmija (Jarup, 2003.). Dišni sustav je ozbiljno ugrožen udisanjem kadmijem kontaminiranog zraka. Posljedice su otežano disanje, edem pluća, fibrozne promjene i razvoj karcinoma (Klaassen i sur., 2009.).

Veliki dio toksičnog učinka kadmija u organizmu potječe od njegovog negativnog utjecaja na stanične enzimske sustave gdje se veže za mjesta dvovalentnih iona cinka, bakra i kalcija u metaloenzimima ili za tiolne skupine proteina, enzima i nukleinskih kiselina (Sarkar i sur., 2013.). Kadmij često inhibira antioksidativne enzime, posebno katalazu i superoksid dismutazu, ali i hemoksigenu 1 i izoformu glutation-S-transferaze. Dugotrajna izloženost visokim dozama kadmija u organizmu može biti povezana s pojavom Itai-Itai, bolesti kod koje pacijent pokazuje široki spektar simptoma kao što su: niski stupanj mineralizacije kostiju, visoka stopa prijeloma, povećani porast osteoporoze, i intenzivna bol u kostima (Godt i sur., 2006.).

Najvjerojatniji izvor toksičnosti kadmija kod ljudi je kontaminirana hrana. Osobe koje redovito konzumiraju školjke i ribe te organe kao što su jetra i bubrezi mogu biti pojačano izloženi kadmiju (ATSDR, 2012.). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, dopuštena granica unosa kadmija za ljude je 1 µg/kg/dan, odnosno 7 µg/kg/tjedan.

Kadmij u morskim sisavcima

Prijenos kadmija iz kopnenih u vodeni sustav nije vrlo učinkovit: 94-96% ostaje u tlu. Kadmij koji dospje u vodu uglavnom se nakuplja u vegetaciji brže nego u bioti. U vodi 20% kadmija ostaje u suspendiranim česticama (Peakall i Burger, 2003.).

Štetno djelovanje u ribama i divljim životinjama javlja se kada koncentracija kadmija prijeđe 3 mg/kg u slatkovodnoj vodi, 4,5 mg/kg u morskoj vodi, 1000 µg/kg u prehrani, ili 100 mg/m³ u zraku (Burger, 2008.). Koncentracije kadmija u bubrežima ili jetri kralješnjaka koje prelaze 10 µg/g (mokre tež.) prouzročuju subletalni učinak, a 200 µg/g (mokre tež.) u bubrežima je opasno po život (Peakall i Burger, 2003.). Neke od najviših razina kadmija pronađene su kod morskih sisavaca s Farskih otoka (Caurant i sur., 1994.).

Glavonošci mogu biti znatan izvor kadmija, a predatori koji ih konzumiraju pokazuju visoku razinu ovog metala u ciljnim organima. Glavonošce jedu mnoge oceanske životinje, kao što su morski sisavci, ptice i ribe. Za više od 80% odontocete vrsta (*Monodontidae*, *Phocaenidae*, *Delphinidae*, *Stenidae*) glavonošci su redovita prehrana (Bustamante i sur., 1998.).

Koncentracija kadmija u korteksu bubrega veća je od njegove prosječne koncentracije u bubrežima i može se interpretirati množenjem prosječne koncentracije s faktorom 1,25 (Friberg i sur., 1986.). Kadmij se koncentrira u stanicama proksimalnih tubula bubrega, a u istraživanjima je dokazano da kod čovjeka izaziva tubularnu disfunkciju kod koncentracije od 50 µg/g mokre težine u korteksu (Elinder i Jarup, 1996.). Histopatološka analiza bubrežnog tkiva pokrenuta je budući da su oštećenja bubrega jedan od najprisutnijih učinaka kadmija (Gallien i sur., 2001.). U pojedinim životinjskih vrsta koncentracije kadmija mogu dosezati visoke razine, čak do 2000 µg/g suhe mase izmjerene kod

tuljana (Dietz i sur., 1998.). To je znatno viša vrijednost od kritične koncentracije od približno 800 µg/g suhe mase (200 µg/g mokre težine) koja se povezuje s bubrežnim oštećenjima kod sisavaca, uključujući čovjeka (WHO, 1992.). Očito je da kod morskih sisavaca unatoč visokim koncentracijama kadmija postoji vrlo učinkovit mehanizam detoksikacije. To potiče pitanja o zdravstvenom stanju takvih kontaminiranih morskih sisavaca. Usporedbom niske i visoke koncentracije kadmija u bubrežima tuljana s Grenlanda makroskopskim i mikroskopskim pretragama utvrđeno je da nema razlike u morfologiji između eksperimentalnih skupina. Ova su istraživanja pokazala da morski sisavci mogu podnijeti znatne koncentracije kadmija bez pokazivanja oštećenja bubrega (Dietz i sur., 1998.). Granule koje u svom sastavu sadrže kadmij uočene su u bubrežima dupina iz roda *Lagenorhynchus acutus* na Farskim otocima (Gallien i sur., 2001.). Guste mineralne konkrecije promjera do 300 nm nalazile su se u bazalnim sferobranama proksimalnih tubula. Takvi sferokristali su sastavljeni od mineralnih naslaga kalcija, fosfora i kadmija.

Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubrežima i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišićima (Dehn i sur., 2006.). Koncentracija od 71,3 mg/kg kadmija mokre težine pronađena je u bubrežima plavobijelih dupina u Brazilu i pripisuje se prehrani baziranoj uglavnom na lignjama (Dorneles i sur., 2007.). Zabilježeno je da se povećanjem duljine tijela tuljana povećava koncentracija kadmija u bubrežima i jetri (Harper i sur., 2007.).

Utjecaj selen na toksikokinetiku i toksikodinamiku kadmija

Selen (Se) je esencijalni element koji igra važnu ulogu u brojnim biološkim procesima kod ljudi i životinja. Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. On kao esencijalni element

većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007.). Nedostatak ovog elementa izaziva nekoliko patoloških stanja, kao što su karcinom, koronarne bolesti srca i nekroza jetre (Agay i sur., 2005.). Selen se u obliku selenita, selenata, selenocisteina i selenometionina najčešće apsorbira u dvanaesniku. Nakon apsorpcije, povišene razine selenita su detektirane u proteinima krvne plazme odakle se može distribuirati u tkiva gdje se ugrađuje u novosintetizirane selenoproteine (Ognjanović i sur., 2008.).

Selen je inkorporiran u proteine u formi selenocisteina. Proteini koji sadrže selenocistein nazivaju se selenoproteini kao npr. glutation peroksidaza (GSH-Px), tioredoksin reduktaza (TR), selenoprotein P (SeP). Poznato je da selen ima i zaštitnu ulogu kod toksičnog djelovanja kadmija i drugih teških metala što znači da ima sposobnost mijenjanja raspodjele kadmija u tkivima i poticanje vezanja u Cd-Se kompleks (Ognjanović i sur., 2008.).

Unesen u organizam pokusnih životinja u obliku selenita, selen se vrlo brzo selektivno transportira u eritrocite putem anion-transportnog proteina (AEI) gdje se reducira i otpušta u plazmu u obliku selenida. Selenit se u molarnom omjeru 1:1 spaja s ionima kadmija i žive. Nastali kompleks selektivno se veže za kationski centar specifičnog plazmatskog proteina, poznatog kao selenoprotein P pri čemu nastaje tercijarni kompleks (Sasakura i Suzuki, 1998.).

Kao najvjerojatniji mehanizam detoksikacije organizma selenom predložen je onaj u kojemu selen utječe na pojačano vezanje kadmija u kompleks s proteinima velike molekularne mase čime se mijenja njegov metabolički put u organizmu. Pri izlaganju organizma, kadmij dospijeva u krv gdje se transportira plazmom, većinom vezan za albumin i druge protein te odlazi u jetru gdje se veže za MT. Sporo se otpušta iz jetre te zbog male molekularne mase

(oko 7 kDa) učinkovito filtrira kroz membranu glomerula i resorbira se u stanice proksimalnih bubrežnih kanalića (Nordberg, 2009.). Nakon što Cd-MT uđe pinocitozom u stanice, katabolizira se u lizosomima te se u stanici oslobađaju ioni kadmija koji stimuliraju *de novo* sintezu endogenog bubrežnog MT-a koji sadrži kadmij, cink i bakar (Lazarus, 2010.).

Kadmij pospješuje oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina u membranama i mijenja oksidativni status što može izazvati oksidativno oštećenje raznih tkiva (Wang i sur., 2004.). Za razliku od redoks-aktivnih metala kao željezo, bakar, krom i vanadij koji u reakcijama sličnim Fentonovoj stvaraju reaktivne kisikove spojeve (RKS), kadmij, olovo, živa i arsen su redoks-neaktivni metali čiji mehanizam stvaranja oksidativnog stresa nije do kraja razjašnjen. Kadmij ne može izravno stvarati slobodne radikale pa je predložena teorija prema kojoj kadmij može zamijeniti ione željeza i bakra u raznim plazmatskim i membranskim proteinima (npr. feritin), čime u stanici raste količina slobodnih iona željeza i bakra koji preko Fentonovih reakcija sudjeluju u stvaranju oksidativnog stresa (Valko i sur., 2006.). Pretpostavlja se i da zbog visokog afiniteta za vezanje na biološke strukture koje sadrže -SH skupine, kadmij iskorištava većinu staničnih rezervi antioksidansa, npr. glutationa (GSH) ili MT čime narušava obrambeni sustav stanica (Ercal i sur., 2001.).

Antioksidansi kao što je selen, prisutni u tkivima sisavaca, štite od oksidativnog stresa. Selen kao esencijalni element većinom djeluje kao dio selenoproteina i na taj način neizravno utječe na oksidativni stres izazvan kadmijem (Newairy i sur., 2007.).

Olovo

Olovo (Pb) je ubikvitaran element. Budući da je za većinu živih bića toksičan pri većoj izloženosti i ne postoji biološka

potreba za njime, glavni problem je određivanje doza koje se mogu prihvatiti kao toksične. Toksičnost se razlikuje ovisno o starosnoj dobi. Najosjetljivija populacija su djeca, posebno mala djeca, dojenčad u neonatalnom periodu i fetus. U organizam dospijeva uglavnom profesionalnom izloženosti, na prvom mjestu inhalacijom, dok je opća populacija izložena pored inhalacije i ingestijom (Duraković, 2000.). Olovo se nalazi u tragovima u gotovo svakoj hrani. Smatra se da odrasla osoba svakodnevno u organizam unese oko 300 µg olova, od čega se prosječno apsorbira oko 10%. Vodom u naseljima civiliziranih sredina stanovnik unese oko 10 µg/dan olova, od čega odrasle osobe apsorbiraju prosječno oko 10%, a djeca 30-50%. Ukupna količina olova koja se tijekom života unese u organizam ljudi iznosi do 200 mg, dok u profesionalno izložene osobe ta količina može biti 2-2,5 puta više i iznosi i do 500 mg (Duraković, 2000.).

Među teškim metalima olovo pokazuje osobito povišeni antropogeni faktor. Korištenje proizvoda koji sadrže olovo znatno se povećao od industrijske revolucije. Štoviše, hlapljivost olova, povezana s mnogim izvorima emisije, rezultirala je time da olovo nije samo lokalni onečišćivač zraka već zagađivač globalnih razmjera. Više od 90% olova iz okoliša rezultat je prošlih antropogenih aktivnosti (Caurant i sur., 2006.).

Toksikokinetika i toksikodinamika olova

Olovo mijenja funkciju i strukturu bubrega, kostiju, središnjeg živčanog sustava, i hematopoetskog sustava te proizvodi štetne biokemijske, histopatološke, neuropsihološke, fetotoksične, teratogene, i reproduktivne učinke (Eisler, 2009.). Anorgansko olovo apsorbirano kod sisavaca u tijelu inicijalno ulazi u krvotok i veže se na crvene krvne stanice. Distribucija olova između krvi i

izvanstanične tekućine i drugih mjesta za pohranu je vrlo brza tako da samo polovica netom apsorbiranog olova ostaje u krvi nakon nekoliko minuta. Olovo se skladišti u zubima i kostima. Poluvrijeme raspada ($T_b \frac{1}{2}$) anorganskog olova procjenjuje se na 20 dana u krvi, 28 dana u cijelom tijelu, i 600 do 3000 dana u kostima (Harrison i Laxen, 1981.). Razina olova u kostima utječe na razinu olova u plazmi, a postoji zabrinutost da prethodno akumulirano olovo pohranjeno u kostima može predstavljati unutarnji izvor izloženosti, osobito u razdobljima povećanog mineralnog gubitka kosti povezano s trudnoćom ili dojenjem (Hernandez-Avila i sur., 1998.).

Kad olovo inhalacijom ili ingestijom dospije u cirkulaciju, oko 95% se veže za eritrocite, a oko 5% se nalazi u plazmi. Na površini eritrocita odlaže se u obliku agregata olovnog fosfata. Vezanjem na tiolske i fosfatne ligande na membranama stanica olovo povećava fragilnost eritrocita i eritroblasta (Duraković, 2000.). U plazmi se olovo sastoji od dvije frakcije. Jedna je vezana za proteine plazme, a druga je dijalizibilna i predstavlja metabolički aktivni dio ukupne količine olova u tijelu (Duraković, 2000.). Nakuplja se i u kostima, a sastoji se od dva dijela: u medularnom dijelu nalazi se izmjenjiva frakcija olova, a u korteksu kosti nalazi se neizmjenjiva frakcija. Olovo se posebno nakuplja u kostima koje brzo rastu, a to su tibija i femur. Iz kostiju može dospjeti u krv i postati značajan izvor unutarnje izloženosti olovu. Prisutnost u kostima kod trudnica i roditelja može predstavljati zabrinjavajući čimbenik tijekom trudnoće i dojenja, a u kasnijoj životnoj dobi može se mobilizirati u osoba s osteoporozom (Silbergeld i sur., 1988.).

Akumulacija olova u mekom tkivu najveća je u jetri i bubrezima. Olovo modificira funkciju i strukturu bubrega, kostiju, središnjeg živčanog sustava i krvotoka te proizvodi štetne biokemijske, histološke, neuropsihološke, fetotoksične, teratogene i reproduktivne učinke (Eisler,

2009.). Olovo prouzroči i poremećaj rada hormona rasta iz hipofize tijekom puberteta (Ronis, sur., 1998.).

Anorgansko se olovo u okolišu može biološki metilirati u alkilne olovne spojeve (Walsh i Tilton, 1984.). Žuč je važna za izlučivanje: olovo unešeno ingestijom prolazi kroz crijeva, krv, kosti i meka tkiva te putem žuči u tanko crijevo i fekalno se izlučuje (De Michele, 1984.).

Toksičnost olova u ljudi

Toksični učinci olova povezani su s njegovim interakcijama s enzimima, čija je aktivnost ovisna o pristnosti slobodnih sulfhidrilnih (SH) skupina s kojima olovo stvara merkaptide. Posljedica je da te skupine organizam više ne može koristiti za stvaranje hemoglobina i citokroma. Niske koncentracije olova inhibiraju i Na, K, ATP-azu, što rezultira povećanom fragilnosti eritrocita i skraćivanjem njihova vijeka trajanja. Uz to, oštećenje proksimalnih tubula bubrega dovodi do deficita eritropoetina (Duraković i sur., 2000.).

Olovo ometa sintezu hema inhibicijom tri enzima koji sadrže SH skupine. To su: sintetaza delta aminolevulinske kiseline (S-DALK), dehidrataza delta aminolevulinske kiseline (D-DALK) i hem-sintetaza (ferokelataza) (Duraković i sur., 2000.). Inhibicijom D-DALK dolazi do zastoja pretvaranja tog enzima u porfobilinogen, što ometa dalju sintezu hema, a D-DALK se nakuplja na mjestu gdje bi trebala biti potrošena. No može se dogoditi i paradoksalna reakcija da se mehanizmom povratne sprege povećava aktivnost sintetaze i veća sinteza DALK. Rezultat toga je povećano izlučivanje DALK urinom što se koristi u ocjeni biokemijskog učinka olova. Povećana koncentracija D-DALK opaža se u slučajevima kada koncentracija olova u krvi iznosi ili premašuje 25 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$. Treća je abnormalnost u sintezi hema, a sastoji se u inhibiciji hem-sintetaze (ferokelataze), koja je prisutna na unutarnjoj strani membrane mitохон-

drija. Inhibicija hem-sintetaze dovodi do nakupljanja koproporfirina u eritroblastima, a protoporfirina u eritroblastima i eritrocitima. Tu nastaje koproporfinurija koja je karakteristična za djelovanje olova, a vjerojatno je posljedica intramodularnog propadanja eritroblasta. Inhibicija hem-sintetaze tijekom djelovanja olova ima za posljedicu neupotrebjeno željezo, a to se može dokazati analizom eritroblasta koji sadrže grudice ili zrnca željeza (Duraković, 2000.).

Klinička slika trovanja olovom sastoji se od nespecifičnih općih simptoma kao opća slabost i malaksalost, do razdražljivosti i nesanice. U akutnom otrovanju može se pojaviti bubrežna kolika, gastrointestinalni simptomi, neuromišićni i encefalopatički simptomi. Od laboratorijskih znakova otrovanja olovom može se dokazati umjerena mikrocitna i hipokromna anemija kao znak deficita željeza s porastom broja retikulocita i bazofilnim punktacijama eritrocita. Anemija nastaje zbog skraćenog vijeka eritrocita i ometanja sinteze hema. No, svi ti znaci nisu specifični za otrovanje olovom. Najraniji i najosjetljiviji znak je inhibicija aktivnosti dehidrataze delta aminoevulinske kiseline (D-DALK) kada se radi o koncentraciji olova višoj od 10 µg/100 mL, čije je povećanje koncentracije u urinu posebno od koristi u epidemiološkim studijama. Dok je DALK aktivna na početku sinteze hema, hem-sintetaza je aktivna na njenom kraju, na mjestu kada se u protoporfirin ugrađuje atom željeza. Zbog toga je paradoksalna činjenica da D-DALK ostaje aktivna čak i u cirkulirajućim eritrocitima, a aktivnost hem-sintetaze nestaje čim eritrocit uđe u cirkulaciju, tj. onda kada retikulocit izgubi mitohondrije i postane zreli eritrocit (Duraković i sur., 2000).

Olovo u morskim sisavcima

Većina istraživanja usmjerena na prisutnost olova u morskim sisavcima su provedena na mekim tkivima u kojima

su koncentracije često vrlo niske (manje od 1 µg/g mokre težine). Od mekih tkiva, jetra i bubrezi pokazivali su najviše koncentracije olova, nakon čega slijedi koža, mozak i mišići. Zbog jakog afiniteta olova za kalcificiranim tkivima, kosti i zubi su pogodniji organi od mekog tkiva za istraživanje bioakumulacije olova. Istraživanja o nakupljanju olova u kostima i zubima kitova su rijetka, međutim, sva pokazuju da je koncentracija olova u tvrdim tkivima veća od one u mekim. Vrijeme poluraspada olova varira od 5 do 20 godina u zubima, a samo nekoliko tjedana ili mjeseci u mekim tkivima (Caurant i sur., 2006.).

Reproduktivne aktivnosti kao što su trudnoća, porođaj i dojenje mogu prozročiti promjene koncentracija metala u tkivima. Istraživanja su pokazala da se prijenos metala sa ženke na mladunče provodi kroz posteljicu ili dojenjem (Honda i sur., 1987.). Kao posljedica toga je smanjenje koncentracije olova u ženki tijekom trudnoće.

Koncentracije olova u tkivima različitih vrsta morskih sisavaca bile su najviše u kostima, s maksimalnom vrijednosti od 62,0 mg/kg suhe težine. U principu, nakupine olova bile su veće u starijih životinja (Lavery i sur., 2008.). Biomagnifikacija olova kroz hranidbeni lanac može biti važan mehanizam akumulacije kod karnivornih morskih sisavaca. Kod kalifornijskih morskih lavova (*Zalophus californianus*), olovo se nakuplja u znatno većim koncentracijama u tvrdim tkivima, kao što su kosti i zubi, u odnosu na meka tkiva, kao što su mast i mišići (Roberts i sur., 1976.). Ovi rezultati su usporedivi s opterećenjem olova u ljudi, što sugerira da je razina izloženosti olova slična za kopnene i morske zajednice (Braham, 1973.).

Usporedba koncentracija olova tuljanove dlake pronađene u sedimentima u antarktičkom području i onih pronađenih 1980-ih, pokazuju izraziti porast od 3,9 do 67,0 mg Pb/kg

suhe težine, vjerojatno zbog ljudskih aktivnosti. Nakon 1980-te sadržaj olova u tuljanovoj dlaci pao je na 45,0 mg/kg suhe težine, vjerojatno zbog smanjenog korištenja olovnog benzina u južnoj hemisferi (Yin i sur., 2006.).

Sažetak

Ljudske aktivnosti znatno narušavaju bio-geokemijske cikluse elemenata na globalnoj razini. Teški metali u morski okoliš dospjevaju iz prirodnih izvora, npr. trošenjem stijena te antropogenim utjecajem. Hranidbeni lanac je glavni put bioakumulacije selena, arsena, kadmija i žive u morskim organizmima. Hranidbene navike i brzina resorpcije važni su čimbenici u procjeni koncentracija metala u tim organizmima. Ekotoksikološke studije koriste biomarkere u svrhu utvrđivanja rizika od onečišćenja ekosustava. Pri tome su morski sisavci važna indikatorska vrsta zbog dugog životnog vijeka, obalni su stanovnici određenog područja, na vrhu su hranidbenog lanca i imaju jedinstvene masne naslage koje mogu poslužiti kao spremišta za antropogene toksine. Analiza tkiva različitih vrsta kitova i dupina koristi se kao sredstvo prilikom procjene onečišćenja morskog okoliša elementima u tragovima. Kadmij nema poznatih korisnih svojstava za život, poznati je kancerogen s negativnim utjecajem na ljude i životinje i karakterizira ga dugačak biološki poluvijek. Veliki dio toksičnog učinka kadmija u organizmu potječe od njegovog negativnog utjecaja na stanične enzimske sustave gdje se veže za mjesta dvovalentnih iona cinka, bakra i kalcija u metaloenzimima ili za tiolne skupine proteina, enzima i nukleinskih kiselina. Koncentracije kadmija su gotovo uvijek najviše u bubrezima i jetri, a najniže u masnom tkivu i mišićima. Morski sisavci mogu ublažiti toksične učinke kadmija vezanjem za metalotionein-MT tako da je većina kadmija u tijelu vezana za taj mali, cisteinom bogati protein. Mehanizam detoksikacije organizma selenom je njegovo pojačano vezanje kadmija u kompleks s proteinima velike molekularne mase čime se mijenja njegov metabolički put u organizmu. Olovo je za većinu živih organizama toksičan pri većoj izloženosti te ne postoji biološka potreba za njime. Većina istraživanja

o prisutnosti olova u morskim sisavcima pokazala je da od mekih tkiva, jetra i bubrezi nakupljaju najviše koncentracije, nakon čega slijedi koža, mozak i mišići. Zbog jakog afiniteta olova za kalcificiranim tkivima, kosti i zubi su pogodniji organi od mekog tkiva za istraživanje bioakumulacije olova. Toksični učinci olova povezani su s njegovim interakcijama s enzimima, čija je aktivnost ovisna o slobodnim sulfhidrilnim skupinama s kojima olovo stvara merkaptide. Posljedica je da organizam te skupine ne može više koristiti za stvaranje hemoglobina i citokroma. Budući da mnoge vrste morskih sisavaca dijele obalno okruženje s ljudima i konzumiraju istu hranu, oni mogu poslužiti kao učinkoviti indikatori za javnozdravstvene probleme.

Ključne riječi: toksični metali, kadmij, olovo, morski sisavci, bioakumulacija

Literatura

1. AGAY, D., C. SANDRE, V. DUCROS, H. FAURE, C. CRUZ, A. ALONSO, A. M. ROUSSEL and Y. CHANCERELLE (2005): Optimization of selenium status by a single intraperitoneal injection of Se in Se-deficient rat: possible application to burned patient treatment. *Free Radic. Biol. Med.* 39, 762-768.
2. ATSDR (2012): *Toxicological Profile for Cadmium*. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.
3. BENNETT, P. M., P. D. JEPSON, R. J. LAW, B. R. JONES, T. KUIKEN, J. R. BAKER, E. ROGAN and J. K. KIRKWOOD (2001): Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. *Environ. Pollut.* 112, 33-40.
4. BOSSART, G. D. (2011): Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Vet. Pathol.* 48, 676-690.
5. BRAHAM, H. W. (1973): Lead in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Environ. Pollut.* 5, 253-258.
6. BRESSLER, J. P., L. OLIVI, J. H. CHEONG, Y. KIM and D. BANNONA (2004): Divalent metal transporter 1 in lead and cadmium transport. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1012, 142-152.
7. BURGER, J. (2008): Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Sci. Total Environ.* 389, 37-45.
8. BUSTAMANTE, P., F. CAURANT, S. W. FOWLER and P. MIRAMAND (1998): Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Sci. Total Environ.* 220, 71-80.
9. CÁMARA PELLISSÓ, S., M. J. MUÑOZ, M. CARBALLO and J. M. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO (2008): Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity

- of bottlenose dolphin leukocytes *in vitro*. Vet. Immunol. Immunopathol. 121, 189-198.
10. CAURANT, F., J. C. AMIARD, C. AMIARD-TRIQUET and P. G. SAURIAU (1994): Ecological and biological factors controlling the concentrations of trace elements (As, Cd, Cu, Hg, Se, Zn) in delphinids *Globicephala melas* from the north Atlantic Ocean. Mar. Ecol. Prog. 103, 207-219.
 11. CAURANT, F., A. AUBAIJ, V. LAHAYE, O. VAN CANNÉY, E. ROGAN, A. LOPEZ, M. ADDINK, C. CHURLAUD, M. ROBERT and P. BUSTAMANTE (2006): Lead contamination of small cetaceans in European waters - The use of stable isotopes for identifying the sources of lead exposure. Mar. Environ. Res. 62, 131-148.
 12. CONNELL, D. W. (1989): Biomagnification by aquatic organisms - a proposal. Chemosphere 19, 1573-1584.
 13. DAS, K., V. DEBACKER, S. PILLET and J. M. BOUQUEGNEAU (2003): Heavy metals in marine mammals. In: Toxicology of Marine Mammals (Vos, J. V., Bossart, G. D., Fournier, M., O'Shea, T., eds.), Taylor and Francis Publishers, Washington D. C., pp. 135-167.
 14. DEHN, L. A., E. H. FOLLMANN, C. ROSA, L. K. DUFFY, D. L. THOMAS and G. R. BRATTON (2006): Stable isotope and trace element status of subsistence-hunted bowhead and beluga whales in Alaska and gray whales in Chukotka. Mar. Pollut. Bull. 52, 301-319.
 15. DE MICHELE, S. J. (1984): Nutrition of lead. Comp. Biochem. Physiol. 78A, 401-408.
 16. DIETZ, R., J. NØRGAARD and J. C. HANSEN (1998): Have arctic mammals adapted to high cadmium levels? Mar. Pollut. Bull. 36, 490-492.
 17. DORNELES, P. R., J. LAILSON-BRITO, R. A. DOS SANTOS, P. A. DA COSTA, O. MALM and A. F. AZEVEDO (2007): Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. Environ. Pollut. 148, 352-359.
 18. DURAKOVIĆ, Z. i B. LABAR (2000): Hematološke promjene kao posljedice otrovanja. U: Klinička toksikologija, Grafos, Zagreb, str. 83-87.
 19. EISLER, R. (2009): Compendium of Trace Metals and Marine Biota Volume 2: Vertebrates. Elsevier, Amsterdam.
 20. ELINDER, C. and L. JÄRUP (1996): Cadmium exposure and health risks: recent findings. Ambio 25, 370-373.
 21. ERCAL, N., H. GURE-ORHAN and N. AYKIN-BURNS (2001): Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. Curr. Top. Med. Chem. 1, 529-539.
 22. FRIBERG, L., C. G. ELINDER, T. KJELLSTRÖM and G. F. NORDBERG (1986): Cadmium and Health. A toxicological and epidemiological appraisal Volume II: Effects and response. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, p. 303.
 23. GAILER, J. (2007): Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. Coordin. Chem. Rev. 251, 234-254.
 24. GALLIEN, I., F. CAURANT, M. BORDES, P. BUSTAMANTE, B. FERNANDEZ, N. QUELLARD and P. BABIN (2001): Cadmium-containing granules in kidney tissue of the Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) off the Faroe Islands. Comp. Biochem. Phys. C 130, 389-395.
 25. GODT, J., F. SCHEIDIG, C. GROSSE-SIESTRUP, V. ESCHE, P. BRANDENBURG, A. REICH and D. A. GRONEBERG (2006): The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. J. Occup. Med. Toxicol. 1, 22.
 26. GOON, D. and C. D. KLAASSEN (1989): Dosage-dependent absorption of cadmium in the rat intestine measured *in situ*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 100, 41-50.
 27. HARRISON, R. M. and D. P. H. LAXEN (1981): Lead Pollution: Causes and Control. Chapman and Hall, New York, p. 168.
 28. HARPER, E., J. A. LEGER ST., J. A. WESTBERG, L. MAZZARO, T. SCHMITT and T. H. REIDARSON (2007): Tissue heavy metal concentrations of stranded California sea lions (*Zalophus californianus*) in southern California. Environ. Pollut. 147, 677-682.
 29. HERNANDEZ-AVILA, M., D. SMITH, F. MENESES, L. H. SANIN and H. HU (1998): The influence of bone and blood lead on plasma lead levels in environmentally exposed adults. Environ. Health Perspect. 106, 473-477.
 30. HONDA, K., R. TATSUKAWA and T. FUJIYAMA (1982): Distribution characteristics of heavy metals in the organs and tissues of striped dolphin *Stenella coeruleoalba*. Agric. Biol. Chem. 46, 3011-3021.
 31. HOLSBEEK, L., U. SIEBERT and C. R. JOIRIS (1998): Heavy metals in dolphins stranded on the French Atlantic coast. Sci. Total Environ. 217, 241-249.
 32. IARC (1993): Cadmium and cadmium compounds. In: Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposure in the Glass Manufacturing Industry. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 58.: WHO/IARC - World Health Organization / International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 119-237.
 33. KLAASSEN, C. D., J. LIU and B. A. DIWAN (2009): Metallothionein protection of cadmium toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 238, 215-220.
 34. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2001): Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. Environ. Pollut. 115, 303-312.
 35. KWOHN, Y. T., S. YAMAZAKI, A. OKUBO, E. YOSHIMURA, R. TATSUKAWA and S. TODA (1986): Isolation and characterization of metallothionein from kidney of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*. Agric. Biol. Chem. 50, 2881-2885.
 36. LAPIERRE, P., S. DE GUISE, D. C. MUIR, R. NORSTROM, P. BELAND and M. FOURNIER (1999): Immune functions in the Fisher rat fed beluga whale (*Delphinapterus leucas*) blubber from the contaminated St. Lawrence estuary. Environ. Res. 80, 104-112.
 37. LAVERY, T. J., C. M. KEMPER, K. SANDERSON, C. G. SCHULTZ, P. COYLE, J. G. MITCHELL and L. SEURONT (2009): Heavy metal toxicity

- of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Mar. Environ. Res.* 67, 1-7.
38. LAZARUS, M. (2010): Cadmium and selenium interaction in mammals. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 61, 357-369.
39. LIU, J., C. CORTON, D. J. DIX, Y. LIU, M. P. WAALKES and C. D. KLAASSEN (2001): Genetic background but not metallothionein phenotype dictates sensitivity to cadmium-induced testicular injury in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 176, 1-9.
40. MARCUS, W. L. and A. S. RISPIN (1988): Threshold carcinogenicity using arsenic as an example. In: *Advances in Modern Environmental Toxicology*, Vol. 15. Risk Assessment and Risk Management of Industrial and Environmental Chemicals, (Cothorn, C. R., Mehlman, M. A., Marcus, W. L., eds.), Princeton Publishing Co., Princeton, pp. 133-158.
41. MARGOSHES, M. and B. L. VALLEE (1957): A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 1813-1814.
42. MONACI, F., A. BORREL, C. LEONZIO, L. MARSILI and N. CALZADA (1998): Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *Environ. Pollut.* 99, 61-68.
43. NEWAIRY, A. A., A. S. EL-SHARAKY, M. M. BADREL-DEEN, S. M. EWEDA and S. A. SHEWEITA (2007): The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology* 242, 23-30.
44. NORDBERG, G. F. (2004): Cadmium and health in the 21st century-historical remarks and trends for the future. *Biometals* 17, 485-489.
45. NORDBERG, G. F. (2009): Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238, 192-200.
46. OGNJANOVIĆ, B. I., S. D. MARKOVIĆ, S. Z. PAVLOVIĆ, R. V. ŽIKIĆ, A. S. ŠTAJN and Z. S. SAIČIĆ (2008): Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. *Physiol. Res.* 57, 403-411.
47. OLAFSON, R. W. and J. A. J. THOMPSON (1974): Isolation of heavy metal binding proteins from marine vertebrates. *Mar. Biol.* 28, 83-86.
48. PEAKALL, D. and J. BURGER (2003): Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 56, 110-121.
49. RAND, G. M., P. G. WELLS and L. S. MCCARTHY (1995): Introduction to aquatic ecology. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment* (Rand, G. M., ed.), Taylor & Francis, London, pp. 3-53.
50. RIDLINGTON, J. W., D. C. CHAPMAN, D. E. GOEGER and P. D. WHANGER (1981): Metallothionein and Cu-chelatin: characterization of metal-binding proteins from tissues of four marine animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 70, 93-104.
51. RONIS, M. J. J., T. M. BADGER, S. J. SHEMA and P. K. ROBERSON (1998): Endocrine mechanisms underlying the growth effects of developmental lead exposure in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health A* 54, 101-120.
52. SARKAR, A., G. RAVINDRAN and V. A. KRISHNAMURTHY (2013): A brief review on the effect of cadmium toxicity: From cellular to organ level. *Int. J. Bio-Technol. Res.* 3, 17-36.
53. SASAKURA, C. and K. T. SUZUKI (1998): Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/sulfide and selenoprotein P. *J. Inorg. Biochem.* 71, 159-162.
54. SIDDIQUI, M. F. (2010): Cadmium induced renal toxicity in male rats, *Rattus rattus*. *East. J. Med.* 15, 93-99.
55. SIEBERT, U., C. JOIRIS, L. HOLSBECK, H. BENKE, K. FAILING, K. FRESE and E. PETZINGER (1999): Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of North and Baltic Seas. *Mar. Pollut. Bull.* 38, 285-295.
56. TOSTI, E. and A. GALLO (2012): Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *J. Marine Sci. Res. Development* 2, 101.
57. VALKO, M., C. J. RHODES, J. MONCOL, M. IZAKOVIC and M. MAZUR (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1-40.
58. VAN DER SCHALIE, W. H., H. S. GARDNER, J. A. BANTLE, C. T. DE ROSA, R. A. FINCH, J. S. REIF, R. H. REUTER, L. C. BACKER, J. BURGER, L. C. FOLMAR and W. S. STOKES (1999): Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environ. Health Persp.* 107, 309-315.
59. WALSH, T. J. and H. A. TILSON (1984): Neurobehavioral toxicology of the organoleads. *Neurotoxicology* 5, 67-86.
60. WHO (1992): Cadmium. *Environmental Health Criteria*, 134. World Health Organization, Geneva.
61. ZALUPS, R. K. and S. AHMAD (2003): Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 186, 163-188.
62. ZHOU, J. L., S. M. SALVADOR, Y. P. LIU and M. SEQUEIRA (2001): Heavy metals in the tissues of common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded on the Portuguese coast. *Sci. Total Environ.* 273, 61-76.

Toxic metals - bioindicators of pollution in the marine environment - Part I.: cadmium and lead

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, Zagreb, Croatia; Martina ĐURAS, Assistant Professor, DVM, PhD, Tomislav GOMERČIĆ, Assistant Professor, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia

Human activities significantly disturb biogeochemical cycles of elements at the global level. Heavy metals enter the marine environment from natural sources, e.g. rock weathering, and from anthropogenic influences. The food chain is the main route for bioaccumulation of selenium, arsenic, cadmium and mercury in aquatic organisms. Feeding habits and resorption rate are important factors in assessing the concentration of metals in these organisms. Ecotoxicological studies use biomarkers to determine the contamination risks in ecosystems. Marine mammals are important bioindicator species due to their long life span. As long-term marine residents, they are top of the food chain, and have unique fatty deposits that can serve as storage for anthropogenic toxins. Analysis of tissues of different species of whales and dolphins is used as a tool in assessing trace element pollution in the marine environment. Cadmium has no known beneficial properties for life, and is a well-known carcinogen with negative impacts for humans and animals. It is characterized by a long biological half-life and most of its toxic effects are derived from its negative impact on cellular enzymatic systems, where it binds to the divalent ions of zinc, copper and calcium in metalloenzymes or thiol groups of proteins, enzymes and nucleic acids. Cadmium concentrations are almost always highest in kidney

and liver, and lowest in fat tissue and muscles. Marine mammals can mitigate the toxic effects of cadmium by binding metallothionein-MT so that the majority of cadmium is related to the small, cysteine-rich protein. The mechanism of detoxification of the body with selenium is enhanced with cadmium binding into complexes with high molecular mass proteins, thereby is changing its metabolic pathways in the body. Lead is toxic at high exposure levels for most living organisms, and there is no biological need for it. Most studies on the presence of lead in marine mammals have shown that soft tissue, liver and kidney accumulate the highest concentrations, followed by skin, brain and muscles. Due to the strong affinity of lead for calcified tissues, bones and teeth are more suitable organs for studies of lead bioaccumulation. The toxic effects of lead are associated with its interactions with enzymes whose activity is dependent on the presence of free sulfhydryl groups, which form lead mercaptide. The result is that the groups organism can no longer be used for the production of hemoglobin and cytochrome. Since many species of marine mammals share the coastal environment with humans and consume the same food, they can serve as effective indicators of public health problems.

Key words: *Toxic metals, Cadmium, Lead, Marine mammals, Bioaccumulation*