

1. Wprowadzenie

W procesie ewolucji organizmy żywe wykształciły mechanizmy, które umożliwiają im zachowanie dynamicznej równowagi ze środowiskiem, dzięki funkcjonowaniu systemów kontroli i regulacji pobierania, magazynowania i usuwania określonych związków chemicznych. Na obszarach, gdzie przez działalność przemysłową człowieka naruszona została gospodarka środowiskiem przyrodniczym, organizmy muszą funkcjonować w warunkach działania licznych czynników szkodliwych, wśród których istotne znaczenie mają metale ciężkie (1,2).

Z dotychczasowych badań ekologów wynika, że w strefach o nasilonym działaniu skumulowanych toksyn środowiskowych, powszechnie maleje różnorodność gatunkowa. Równocześnie mogą pojawiać się silne gradacje nielicznych gatunków (2,3,4,5,6). Należy zatem zadać pytanie jakie mechanizmy umożliwiają istnienie tak znacznych różnic tolerowania obecności w środowisku wielu różnych ksenobiotyków – w tym również metali ciężkich – przez różne grupy zwierząt, gatunki, a nawet biotypy tego samego gatunku (3,7,8,9,10). Zagadnienia te rozważano szczegółowo w odniesieniu do kręgowców, a szczególnie ssaków (11,12), skromniejsze są dane odnośnie do bezkręgowców.

Celem tej pracy jest zatem przedstawienie kierunków strategii adaptacyjnych bezkręgowców ze środowisk zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Przedmiotem uwagi są głównie metale zaliczane do grupy b: Cd, Cu, Hg, Ag – wiążące się głównie z ligandami azotowymi i siarkowymi, i grupy pośredniej: Zn, Ni, Fe, Pb, Cr – tworzące także połączenia z tlenem, zgodnie z przyjmowaną klasyfikacją Nieboera i Richardsona (13).

2. Cytotoksyczność metali ciężkich w tkankach bezkręgowców

Toksyczność metali ciężkich dla bezkręgowców nie odbiega zasadniczo od efektów i mechanizmów opisywanych dla ssaków (11,12). Efekty toksyczne metali ciężkich wykazano właściwie dla prawie wszystkich grup systematycznych bezkręgowców lądowych i morskich. Niezależnie od efektów hormezy, polegającej na stymulacji, a nawet optymalizacji wielu procesów biochemicznych i fizjologicznych pod wpływem niskich dawek metali ciężkich (6,14,15), przekroczenie poziomu tolerowanego przez organizm odzwierciedlać się może zaburzeniami procesów wzrostu (3,16,17), rozrodu (3,18,19), przemian metabolicznych (3,16), procesów linienia (16,20), uszkodzeń powierzchni wymiany gazowej (21) i innych.

Zaburzenia w procesach fizjologicznych komórki pod wpływem metali ciężkich mogą być wynikiem działania dwóch różnych mechanizmów (15): a) bezpośredniej interakcji kationów z grupami SH metabolitów lub enzymów (przy wzrastającej cytotoksyczności: Zn, Cd, Cu, Hg); b) nasilonych procesów peroksydacji lipidów. Te ostatnie oddziałują na poziomie błon biologicznych (22), a powstające rodniki lipidowe i wysoce toksyczne produkty ich częściowej degradacji zaburzają układ redoksyowy. W wielu grupach bezkręgowców wiąże się to bezpośrednio z zaburzeniami homeostazy wewnątrzkomórkowego wapnia, przez hamowanie aktywności Ca, Mg-ATPazy (3,15). Metale ciężkie wiążąc się z grupami SH blokują głównie enzymy bogate w te grupy (np. polimerazy DNA, RNA, ATPazy) (3,15,23,24,25). Destabilizują również błony lizosomalne

(26). Wiązanie się metali z grupami funkcyjnymi enzymów błonowych lub cytoplazmatycznych lub wymiana jonów w metaloenzymach zaburza prawidłowość przebiegu różnych przemian pośrednich (3,7,27,28,29). Metale ciężkie uszkadzając błony mitochondriów zmieniają gradient protonowy, co prowadzi do rozprzęgania fosforylacji oksydacyjnej i utleniania (9,27,30). Upośledzenie funkcji tych organelli wynika również z bezpośredniego oddziaływania metali na enzymy mitochondrialne (3,7,24,25). W warunkach ekspozycji na metale ciężkie obniża się również pula nukleotydów adenylowych w komórkach i maleje ładunek energetyczny adenylatów (9,31,32,33).

Metale ciężkie hamują syntezę białek (zarówno strukturalnych jak enzymatycznych) w retikulum endoplazmatycznym. Wzrasta poziom wolnych rybosomów w cytosolu, co świadczyć może o nasileniu syntezy metalotionein (34). Zaburzana jest funkcja wielu metaloenzymów cytoplazmatycznych, np. fosfatazy (15). Obniża się aktywność mikrosomalnych monooksygenaz, spełniających doniosłą rolę w detoksykacji ksenobiotyków, oraz poziom cytochromu P-450 (9,35).

Metale ciężkie mogą również kumulować się w jądrze komórki. Działają jako czynniki mutagenne, zmieniając strukturę i metabolizm DNA (15,36). Stwierdzono ostatnio, że stężenia subletalne miedzi lub rtęci nie są jednak wystarczające dla zaburzenia aktywności polimerazy DNA małży (15,37). Pomimo stwierdzonych efektów hamujących, metale mogą stymulować syntezę mRNA odpowiedzialnego za syntezę metalotionein (15).

3. Przemieszczanie metali ze środowiska do wnętrza organizmu

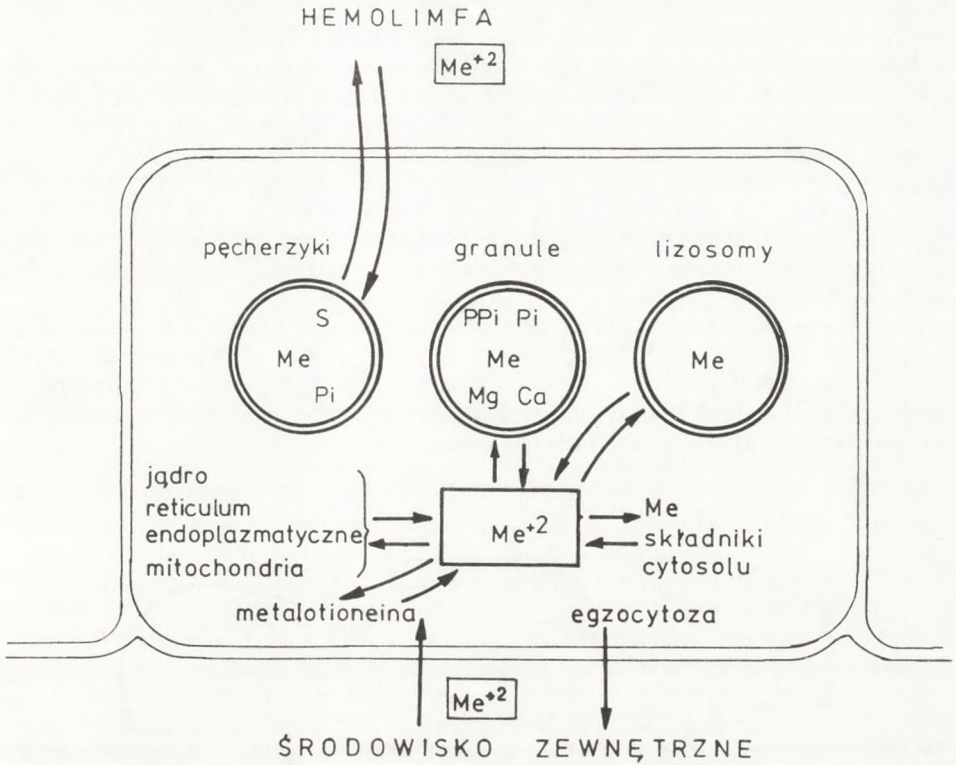
W toku ewolucji wiele jonów metali przejęło istotną rolę aktywatorów enzymatycznych (Fe, Zn, Cu). W warunkach deficytu metali w komórkach wykształciły się mechanizmy umożliwiające ich uzupełnianie, proporcjonalnie do zapotrzebowania organizmu. Właściwa dystrybucja metali wymaga sprawnego systemu białek transportowych i magazynujących. Metale ciężkie, jak Cd, Hg, Pb, dla których nie ustalono funkcjonalnej roli w organizmie, przejawiają swoją toksyczność współzawodnicząc o centrum aktywne wielu metaloenzymów lub przez wiązanie z grupami -SH, np. w Na, K-ATPazie, co prowadzi do blokowania fosforylacji (27,38,39). Ewolucja w świecie zwierząt poszła zatem w kierunku usuwania nadmiaru metali z obiegu i magazynowania ich w formie nieczynnej aż do momentu usunięcia z organizmu. Nie ma w zasadzie prostego mechanizmu sprzężenia zwrotnego regulującego ilościowe pobranie każdego z jonów metali. Przekroczenie fizjologicznego zapotrzebowania prowadzi do unieczynnienia i zmagazynowania metali w określonej części komórki (rys. 1).

Przemieszczanie metali do wnętrza komórki zależy od tego czy występują w postaci rozpuszczalnej. Mimo licznych prac prowadzonych od szeregu lat mechanizmy transportu metali z grupy b i z grupy pośredniej (13), są dalej słabo rozpoznane. Fizjologowie klasyfikują systemy transportowe przez kanały lub nośniki w zależności od selektywności molekularnej, kinetyki wysycenia, wiązań stechiometrycznych i liczby transportowanych cząsteczek (39). Metale ciężkie mogą przechodzić przez błony wykorzystując kanały jonowe (np. wapniowe dla Mn^{2+}) lub na drodze endocytozy (6,15,39). Simkiss (40) wykazał również możliwość bezpośredniego przemieszczania kompleksów metali przez struktury lipidowe błony. U bezkręgowców transport ten ma zazwyczaj charakter bierny (6,15,39,40).

Odmienność środowisk bytowania implikuje różnice w transporcie metali między bezkręgowcami morskimi i lądowymi. Do wnętrza ciała organizmów morskich metale ciężkie rozpuszczone w wodzie przedostają się proporcjonalnie do ich stężenia w środowisku zewnętrznym (41). Główną drogą wnikania są skrzela, oraz przewód pokarmowy (rys. 2).

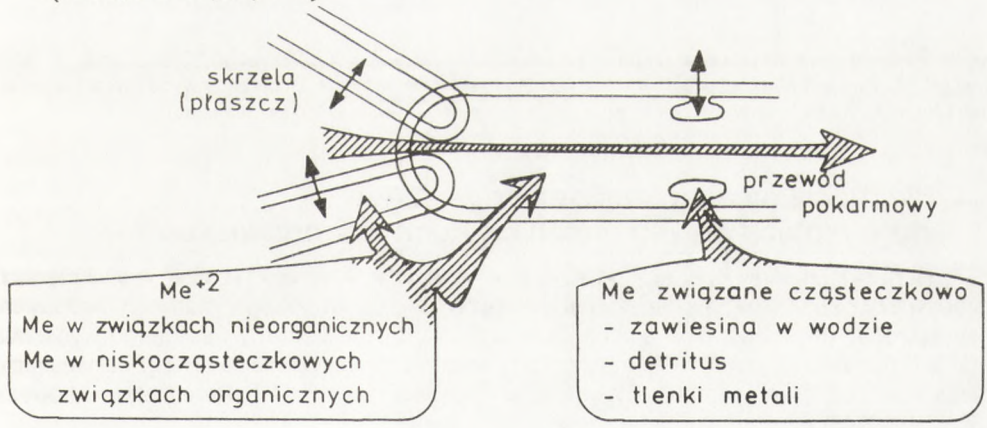
Rys. 1. Schemat wzajemnych interakcji metali ciężkich wewnątrz komórki.

Rys. 2. Schemat dróg przemieszczania metali ciężkich u bezkręgowców wodnych.



Metale rozpuszczone w wodzie morskiej
 { dyfuzja
 transport ułatwiony przez nośniki
 transport czynny? }

Metale związane z ligandami
 { endocytoza }

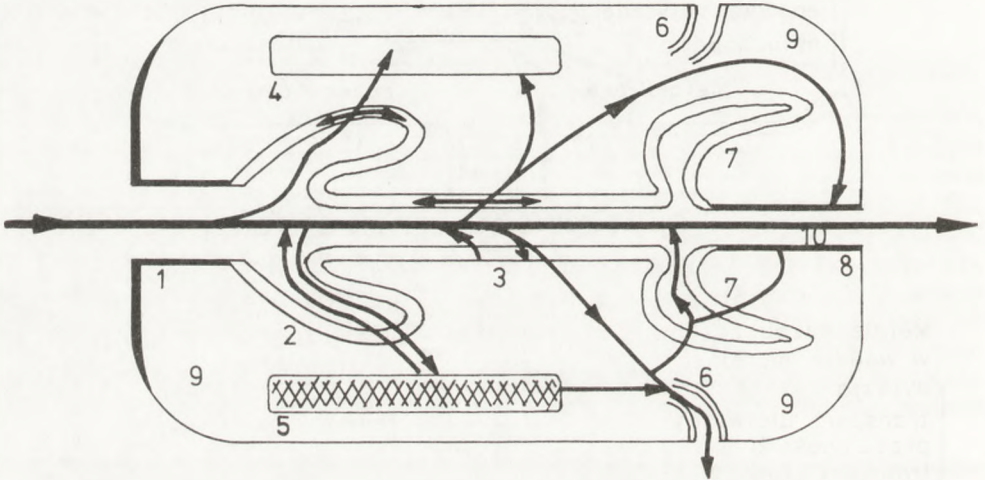


Me^{+2}
 Me w związkach nieorganicznych
 Me w niskocząsteczkowych związkach organicznych

Me związane cząsteczkowo
 - zawiesina w wodzie
 - detritus
 - tlenki metali

Przykładowo, tempo wnikania kadmu do wnętrza komórek izolowanego skrzela małża jest proporcjonalne do stężenia w roztworze. Kadm absorbowany przez śluz osadza się na błonie komórkowej i przechodzi do wnętrza komórki na drodze dyfuzji (41). W takich samych warunkach kadm przechodził przez sztuczną błonę lipidową stokrotnie wolniej. Świadczy to pośrednio o istnieniu u bezkręgowców mechanizmu transportu czynnego metali (41). Transport metali związanych z ligandami zależy od funkcjonalnych przystosowań przewodu pokarmowego, a szczególnie gruczołów wydzielniczych (15,42). Materiał ten jest magazynowany kosztem ATP w procesie endocytozy (42). Pęcherzyki endocytarne łączą się z pierwotnymi lizosomami, tworząc heterofagolizosomy, w których następuje degradacja materiału biologicznego (15,43). Częściowo rozłożony materiał może zawierać metale ciężkie, usuwane z organizmu na drodze egzocytozy (15,41,44).

Metale przenikają do wnętrza ciała bezkręgowców lądowych głównie przez nabłonek przewodu pokarmowego i cewki Malpighiego, a zatem tam gdzie bariera jest najsłabsza, gdyż tworzy strukturę jednowarstwową – rys. 3 (6,45,46). Istotny udział mają również drogi oddechowe. W mniejszym stopniu powłoki ciała, które często pokryte chityną i woskiem, ograniczają do minimum transport przez powierzchnię ciała (6,36,46).



Rys. 3. Schemat przemieszczania metali ciężkich w ciele bezkręgowca lądowego. Oznaczenia: 1) jelito przednie, 2) ząbki jelita, 3) jelito środkowe, 4) i 5) narządy wewnętrzne, 6) narządy wydalnicze (nefridia), 7) narządy wydalnicze (cewki Malpighiego), 8) jelito tylne, 9) jama ciała, 10) światło jelita.

4. Mechanizmy adaptacji bezkręgowców do wysokich stężeń metali ciężkich w środowisku

Podstawowe strategie adaptacji umożliwiające tolerowanie wysokich stężeń metali ciężkich w środowisku, wykształciły się niezależnie u różnych grup bezkręgowców morskich i lądowych. Obejmują one: 1) behawioralne mechanizmy unikania, 2) mechanizmy nasilonego wydalania metali z organizmu, 3) detoksykacja przez: 3.1) wiązanie z metalotioneinami, 3.2) sekwestrację w lizosomach, 3.3) kompartmentację metali w granulach zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych (6,39,43,46,47,48).

4.1. Behawioralne mechanizmy unikania

Ograniczanie transportu metali do wnętrza ciała bezkręgowców morskich poznano tylko u wieloszczetów (19). Mechanizm ten jest dobrze udokumentowany dla tych bezkręgowców lądowych, które wykazują zdolność odróżniania niektórych składników pokarmu na drodze chemorepcji (6,9,49,50,51,52). Niektóre bezkręgowce potrafią odróżnić pokarm zawierający optymalne stężenia Cu i Zn (50). Stonogi *Porcelio scaber* wykazywały, np. zdolność wyboru pokarmu z optymalnym stężeniem miedzi (47). Mogą również ograniczać konsumpcję pokarmu zawierającego domieszki soli ołowiu (92). Podobne zdolności wykazywały w warunkach laboratoryjnych skoczogonki *Orchesella cincta* (49). Jednak w warunkach naturalnych tolerują one wysokie stężenia metali w środowisku, głównie dzięki efektywnemu mechanizmowi usuwania ich nadmiaru z organizmu (49). Również niektóre fitofagi gryzące (np. szarańczaki z rodzaju *Chorthippus*), potrafią rozróżnić pokarm zawierający metale ciężkie (9,54). Różnice behawioralne pobierania pokarmu zawierającego nadmiar metali ciężkich zależą od stopnia zanieczyszczenia metalami ich naturalnych siedlisk, samego metalu i stopnia rozwoju ontogenetycznego (rys. 4).

Nie stwierdzono u bezkręgowców specyficznych receptorów wrażliwych na stężenia jonów metali w pokarmie (55). Przypuszczalnie wzrost ich stężenia, szczególnie w pokarmie roślinnym, wpływa pośrednio, zmniejszając wartość smakową. Zmienia się bowiem poziom składników rozróżnianych przez specyficzne chemoreceptory (6,9,54,55).

4.2. Mechanizmy wzmagające usuwanie nadmiaru metali z organizmu

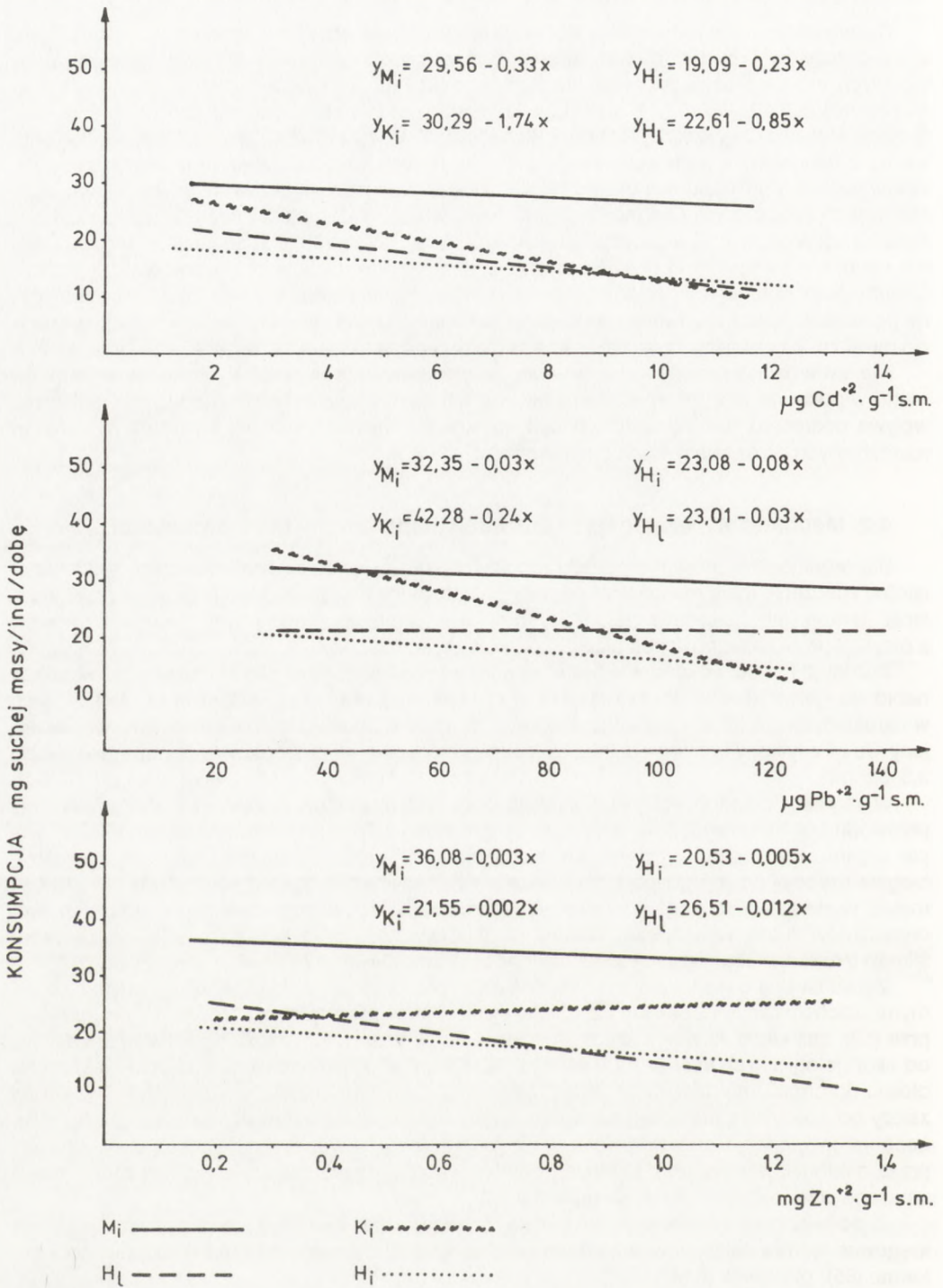
Dla organizmów, które nie potrafią regulować ilościowo metali pobieranych ze środowiska istotne znaczenie mają mechanizmy ograniczające efekty toksyczne metali, głównie przez nasilenie tempa ich usuwania (6,7,9,15,39). Takie strategie adaptacyjne wynikają głównie z przystosowań funkcjonalnych układu pokarmowego.

Wzrost pH treści pokarmowej jelita ogranicza przemieszczanie metali ciężkich do komórek nabłonka jelita (6,48). U niektórych gatunków możliwe jest wchłanianie metali tylko w określonych odcinkach jelita. Przykładowo, muchówki *Lucilia cuprina* selektywnie wchłaniają jony Cu i Fe tylko w krótkim odcinku części przyśrodkowej jelita środkowego, gdzie pH wynosi 3,3–3,6 (56).

W regulacji dostępności metali u wielu grup bezkręgowców uczestniczą mikroorganizmy przewodu pokarmowego, pozostające w różnym stopniu symbiozy z gospodarzem (57). W grupie organizmów prokariotycznych ewolucja tolerancji wyższych stężeń metali ciężkich przebiegała szybciej niż ich gospodarzy. Bakterie symbiotyczne mogą ograniczać przyswajalność metali, wydzielając do soków trawiennych gospodarza substancje chelatujące. Udział mikroorganizmów może wywoływać również skutki odwrotne, gdyż np. absorpcję miedzi przez ślimaki (*Helix aspersa*) przyspieszają bakterie z rodzaju *Desulfovibrio* (58).

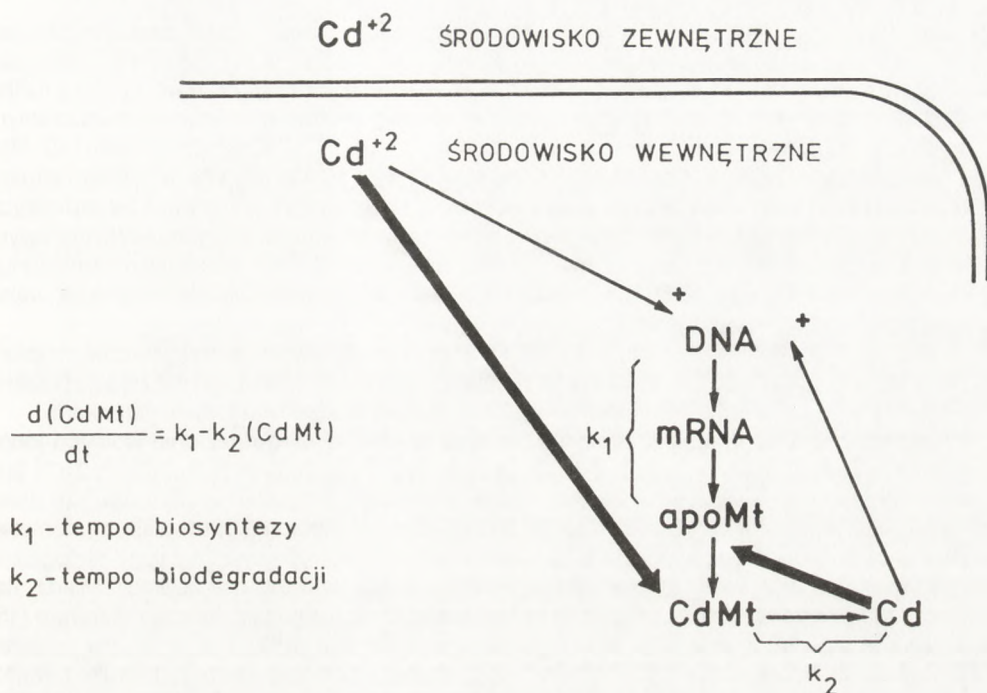
Metale ciężkie o nie ustalonej roli biologicznej przedostają się do organizmu często tymi samymi biochemicznymi szlakami co biopierwiastki. Ołów może przemieszczać się drogami wapnia (59), zaś kadm szlakami miedzi i cynku (6,53). Pobranie Pb przez *Oligochaeta* zależy, np. od ekofizjologicznych interakcji z wapniem (60). Wapń w glebie hamuje tempo przemieszczania ołowiu do organizmu dżdżownic (61). Zróżnicowanie poziomu ołowiu w tkankach tych zwierząt zależy od specyfiki gatunkowej transportu wapnia (6,61,62). Niektóre dżdżownice, jak np. *Allobophora caliginosa*, *Octolasion lacteum* nie mają gruczołów wapiennych i gorzej usuwają wapń przez nabłonek jelitowy (63). U innych poziom wapnia i przedostający się z nim ołów, maleje usuwany przez aktywne gruczoły wapienne (62).

Z doświadczeń laboratoryjnych wynika, że przyswajanie metali z treści pokarmowej przez kręgowce lądowe zależy również od temperatury (3,6,7); długości dnia (6,64); dostępności pokarmu (65); głodzenia (6,66).



4.3. Detoksykacja metali w ciele bezkręgowców

Zgodnie z modelem Peteringa i Fowlera (rys. 5), metale po wnikięciu do komórki mogą włączać się w reakcje biochemiczne, w których normalnie nie biorą udziału (67). Muszą więc zostać unieczynnione przez związanie z niskocząsteczkowymi białkami (67) lub wbudowanie do tworzących się struktur błonowych (6,44). Te wyjątkowo efektywne w niektórych grupach bezkręgowców mechanizmy obejmują systemy indukcji niskocząsteczkowych białek wiążących metale ciężkie oraz tworzenie specyficznych granul zawierających metale (48,67,68).



Rys.5. Udział metalotioneiny >Mt> w metabolizmie kadmu w komórce w warunkach toksyczności ostrej (zmodyfikowane wg Peteringa i Fowlera (67)).

4.3.1. Metalotioneiny (Mt)

W kompleksach z biologicznymi ligandami metale ciężkie mogą wiązać się z różnymi grupami funkcyjnymi białek, peptydów i aminokwasów: sulfhydrylowymi, hydroksylowymi, karboksylowymi, imidazolowymi, a także grupami $-NH$ i $C=O$ łańcuchów bocznych (15,69). Ich powinowactwo do różnych ligandów może zmieniać się w skali logarytmicznej. Większość metali ciężkich, ze względu na wysokie powinowactwo tworzy kompleksy z grupami $-SH$, w które szczególnie bogate są metalotioneiny. Takie niskocząsteczkowe białko wiążące kadm wyizolowali z nerki konia Margoshes i Vallee już w 1957 r. (70).

Rys.4. Wielkość dobowego pobrania pokarmu a stężenie metali ciężkich w pokarmie postaci dorosłych (i) oraz larw (l) *Chorthippus parallelus* pochodzących z terenów silnie (Katowice-K), umiarkowanie (Hucisko-H) i słabo (Mielnik-M) zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Mt to grupa białek niskocząsteczkowych, których synteza u bezkręgowców, podobnie jak poznana wcześniej u ssaków, indukowana jest pod wpływem jonów metali takich jak: Cd, Zn, Hg, Cu, Au, Ag (15,71). Można uznać, że jest to grupa białek typowa dla organizmów eukariotycznych. Niskocząsteczkowe tioneiny znane są również u Procaryota (6,39,43,44). Nie wszystkie grupy bezkręgowców mają zdolności do syntetyzowania Mt (72). Mogą natomiast syntetyzować inne białka, również wiążące metale (73). Mt wiążąca kadm wieloszczeta *Nereis versicolor* wykazuje dużą homologię (przeszło 61%) z dwoma białkami oddechowymi *Sipunculidae* – myohemerytryną i hemerytryną. Świadczy to o wymuszonym warunkami środowiska zróżnicowaniu funkcji tych starych ewolucyjnie białek (74).

Zasadniczą odpowiedzią obronną na działanie, np. kadmu, badanego w szerokim zakresie stężeń 1–3000 μM jest tworzenie się białek wiążących. Na drodze nie rozpoznanego mechanizmu, kadm po przedostaniu się do wnętrza komórki, może indukować *de novo* syntezę mRNA dla białka-tioneiny i apometalotioneiny (15,75). Mt bezkręgowców są białkami rozpuszczalnymi o bardzo dużej zmienności, ciężarze cząsteczkowym 1,3–20 kDa, średnio około 10 kDa, występującymi tylko wewnątrz komórek. Są one podobne do Mt ssaków pod względem struktury i funkcji (39,76). Zawierają do 30% cysteiny, mało jest histydyny i aminokwasów aromatycznych (67,76). Ze względu na bardzo wysokie powinowactwo kadmu do grup sulfhydrylowych apometalotioneiny konkuruje ona o metal z innymi ligandami. Taki mechanizm funkcjonuje w warunkach toksyczności ostrej w narządach, gdzie kumulują się metale ciężkie (nerka, wątroba, wątrobo-trzustka, komórki jelita, skrzel) (43,67,76).

Indukcję Mt pod wpływem kadmu, miedzi i rtęci wykazano u wielu bezkręgowców morskich (77,78) i lądowych (6,79,80,81). Indukcja Mt możliwa jest tylko do granic wyznaczających zakres tolerancji danego gatunku, który różni się nawet między blisko spokrewnionymi gatunkami.

Najważniejszą funkcją Mt jest zdolność do utrzymywania niskiego poziomu wolnych jonów metali w komórce (76). Przyjmuje się, że Mt uczestniczą w regulacji poziomu Cu^{+2} , Zn^{+2} jako homeostatyczne rezerwuary metali niezbędnych w procesach biologicznych, a także jako donory do aktywacji enzymów cynkozależnych (15,34,74). Simkiss i Mason (79) uważają, że kompleksy z kadmem i rtęcią mogą być wolniej metabolizowane niż kompleksy z metalami biologicznie niezbędnymi, wskazując na jedną z możliwych dróg uczestnictwa w detoksykacji. Miedź, rtęć lub kadm mogą wypierać mniej toksyczny cynk z istniejących już tionein. Według Viarengo (15), Mt mogą działać jako wymienniki zdolne do wychwytu wolnych jonów Cu, Hg, Cd w cytosolu, natomiast cynk, który może być wyparty z Mt, prawdopodobnie zapoczątkowuje i współuczestniczy w syntezie protein *de novo*, jeśli jego stężenie przekroczy poziom fizjologiczny (82).

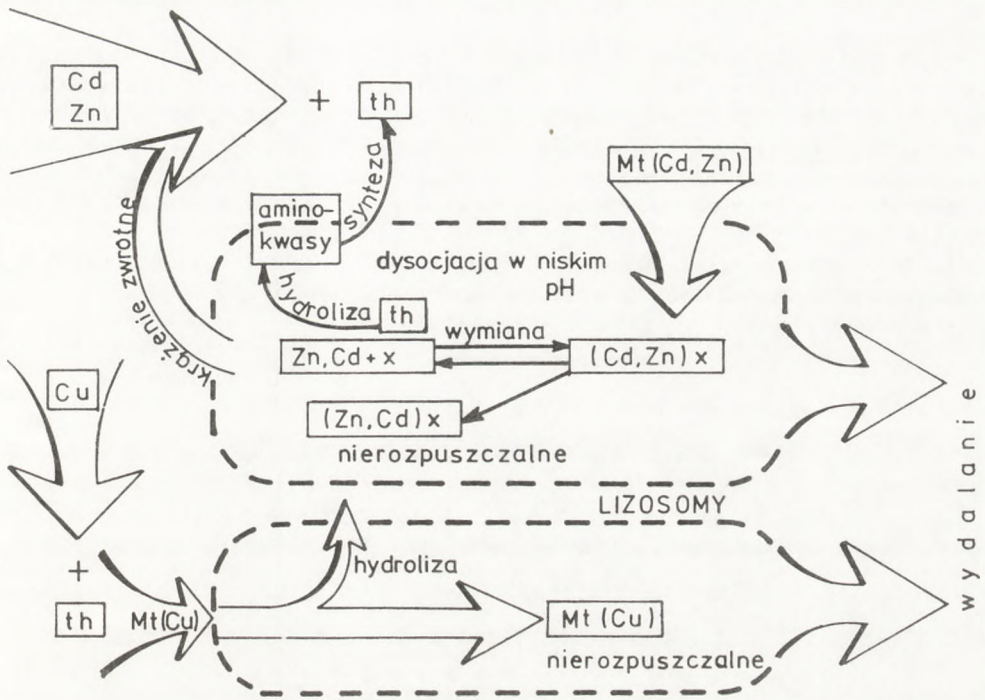
Jednym z mechanizmów adaptacji do środowiska zanieczyszczonego metalami ciężkimi jest zwiększenie puli Mt w tkankach. Wskazują na to porównania populacji tego samego gatunku ze środowisk o zróżnicowanym stopniu zanieczyszczenia. Preekspozycja małży *Mytilus edulis* do niskich stężeń Cd, Cu i Zn zwiększała pulę „fizjologicznej” Mt, podwyższając tolerancję tych zwierząt do większego poziomu Hg w środowisku (83). Badania Harrisona i wsp. (84) potwierdziły, że zdolność tolerowania wzrostu stężenia metali w środowisku przez małże, zależy od stopnia ich wcześniejszej preadaptacji. Przekazywane w gametach metale związane z białkami stymulują mechanizmy detoksykacyjne już w okresie rozwoju embrionalnego (15,84).

Dla bezkręgowców lądowych genetyczne uwarunkowania zwiększonej tolerancji na metale ciężkie (miedź, kadm) najlepiej udokumentowano w badaniach nad *Drosophila* (80,81,85). Wykazano, że u owadów bardziej zaadaptowanych na działanie metali nastąpiło podwojenie genu odpowiedzialnego za syntezę Mt. Metale wiązane przez to białko są magazynowane w specyficznych granulach tworzących się w komórkach nabłonka jelita środkowego (80,81).

Istnieją również dowody na ściśle powiązania funkcjonalne Mt z układem „zmiataczy” wolnych rodników hydroksylowych (OH^*) i nadtlennokowych (O_2^*). Rodniki hydroksylowe uszkadzają Cd–Zn–tioneiny, przez tworzenie międzycząsteczkowych mostków siarczkowych z równoczesnym uwalnianiem metali w procesie odwracalnym w obecności zredukowanego glutationu (15,86).

4.3.2. Rola lizosomów w detoksykacji metali

Metale ciężkie mogą odkładać się w lizosomach. Ma to ogromne znaczenie w pozbywaniu się nadmiaru toksycznych metali przez niektóre organizmy morskie, jak np. małże (rys. 6).



Rys.6. Kontrola subkomórkowej dystrybucji metali ciężkich przez lizosomy na przykładzie małży. Cd i Zn mogą szybko uwalniać się z lizosomów i powracać do cytosolu, gdzie wiąże je Mt, natomiast Cu pozostaje dłużej i jest usuwane głównie na drodze egzocytozy.

Nierozłożone produkty końcowej peroksydacji lipidów tworzą polimery zawierające utlenione lipidy i lipofuscynę – białko, które również może wiązać metale (43,87). Część metali wiąże się z grupami kwasowymi utlenionych lipidów w zewnętrznej części granuli, część natomiast jest wychwycona i unieruchomiona przez lipofuscynę. W korzystnych warunkach nadmiar metali jest usuwany w postaci ciał rezydualnych. Są one łatwo usuwane z nerek małży, lecz słabiej z gruczołów trawiennych, gdyż zawartość lipofuscyny w ich lizosomach jest niewielka (15,43). Małże eksponowane na działanie wysokich stężeń miedzi wykazywały jednak zdolność do wychwytu tego metalu przez inne bogate w grupy $-SH$ białka lizosomów z komórek gruczołów trawiennych, które również były usuwane w etapie końcowym (15,88). Białka te wykazują bardzo podobną charakterystykę na Mt, pełniąc istotną funkcję w usuwaniu zbędnych jonów miedzi z organizmu (88).

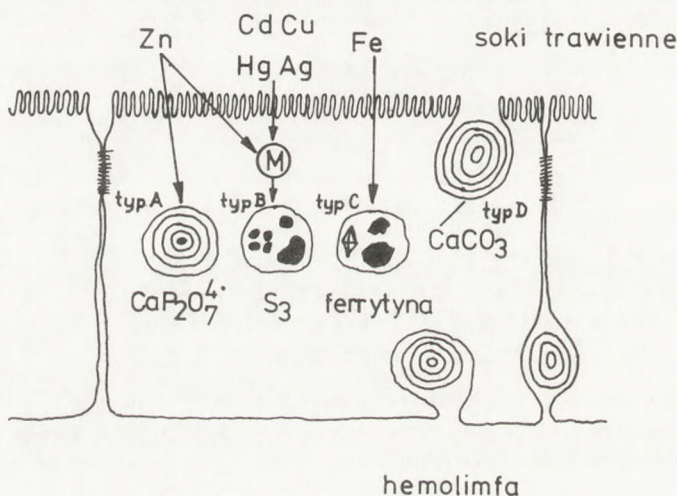
4.3.3. Kompartamentacja metali ciężkich w granulach i pęcherzykach

Istnienie specyficznych struktur błonowych i organelli kumulujących metale wewnątrz komórki wykazano w licznych grupach bezkręgowców. W takich strukturach metale pozostają w postaci nie zmienionej i są metabolicznie nieczynne (39,68). Znane są pod różnymi nazwami i są

różnie klasyfikowane (6,39,48,68). George i Frazier (39) dla bezkręgowców morskich stosują nazwę „pęcherzyki magazynujące”, wyróżniając trzy główne grupy. Do pierwszej, zaliczyli pęcherzyki zawierające głównie składniki nieorganiczne z różnymi ilościowo proporcjami fosforanów i pirofosforanów Ca/Mg i innymi metalami śladowymi (Ag, Al, Ba, Co, Fe, Mn, Pb, Sn, Zn). Tworzą się głównie w komórkach wątrobotrzustki i komórkach nerkowych mięczaków i stawonogów.

Pęcherzyki dwóch pozostałych grup tworzą głównie składniki organiczne i występują najczęściej w wątrobie, sercu, nerkach i mózgu. Pochodzą one z układu pęcherzyków lizosomalnych i składają się z produktów peroksydacji lipidów oraz częściowo zdegradowanych błon komórkowych. Zawierają Cu, Cd, Pb i Zn (39,43,89). Brown (68) stosuje ogólną nazwę „granule” wyróżniając również trzy zasadnicze typy: 1) zawierające miedź wraz z siarką i śladami wapnia; 2) zawierające wapń z dwoma podgrupami: 2.1) o dużej jednorodności chemicznej; 2.2) zawierające domieszki Mg, Mn, P; 3) zawierające głównie żelazo w postaci ferrytyny.

Dla bezkręgowców lądowych Hopkin (6,48) wyróżnia 4 typy granul. Trzy z nich (typ A, B, C) tworzą się wewnątrzkomórkowo, natomiast typ D pozakomórkowo (rys. 7).



Rys. 7. Typy granul wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych zawierających metale ciężkie stwierdzonych w jelicie środkowym bezkręgowców lądowych wg (48).

Granule typu A tworzą koncentryczne, twarde i nierozpuszczalne amorficzne warstwy orto- i pirofosforanów wapnia i magnezu z niewielkim udziałem składników organicznych o średnicy do $5 \mu\text{m}$ (90). Poza cynkiem nie zawierają właściwie metali ciężkich. Stwierdzono je w wątrobotrzustce ślimaków i pajaków (6,91), w nabłonku jelita skoczogonków, karaluchów, jedwabników, nicieni (92,93,94,95), chloragosomach dżdżownic (96). Funkcje tych granuli wiążą się z gromadzeniem i usuwaniem niektórych metali (np. cynku), stanowią rezerwę wapnia i fosforu, a także buforują poziom wapnia w komórkach skorupiaków (97). Zdolność do tworzenia granuły typu A może mieć charakter preadaptacyjny, ułatwiając przeżywanie niektórym gatunkom (np. ślimakom) w środowiskach z dużą koncentracją cynku (6). Tworzenie się tych granuły może obejmować aktywację pompy wapniowej. Ca-ATPaza może uczestniczyć w powiększaniu ich rozmiarów i zmianie pH na bardziej zasadowe, co ułatwia strącanie soli orto- i pirofosforanów pochodzących z różnych szlaków anabolicznych. Zmiany pH ułatwiają także unieruchamianie wnikaających do pęcherzyków jonów metali ciężkich (98).

Granule typu B tworzą struktury o przewodze związków organicznych, bardziej heterogeniczne o większej średnicy, nierozpuszczalne w wodzie i alkoholu. Zawierają zawsze siarkę, której może towarzyszyć kadm, miedź, rtęć, ołów, żelazo, a także wapń. Tworzą się w komórkach dżdżownic, owadów, pająków, równonogów. Ich rozmiary mogą zwiększać się z wiekiem zwierzęcia. Granule z komórek jelita 7–9 dniowych much miały średnicę $0,6 \mu\text{m}$, podczas gdy 40-dniowe już $1\text{--}2 \mu\text{m}$ (99). U zwierząt z terenów zanieczyszczonych tworzą się większe granule przez fuzję drobniejszych jednostek (68). Główna funkcja granul typu B związana jest unieczynnieniem i usuwaniem metali ciężkich z organizmu (6,43,99). U *Homoptera* i *Isopoda* spełniają również istotną rolę w magazynowaniu miedzi (100). Różnią się wtedy morfologicznie; np. w wątrobotrzustce równonoga – *Asellus meridianus*, tolerującego wysokie stężenia miedzi, tworzą się gęste struktury sferyczne, a także struktury zawierające inkluzje granularne. Ilość ich wzrasta, gdy w środowisku jest niedobór jonów miedzi (101). Sohal i Lamb (102) twierdzą, że struktury błonowe granul typu B pochodzą z lizosomów, zawierających pozostałości degradacji Mt i mogą być usuwane z organizmu. Tworzenie i występowanie tych granul modyfikują procesy linienia i rozrodu (6,68,103). W czasie linienia równonogów następuje prawie całkowity rozpad wątrobotrzustki i wtedy miedź z granul wiąże się z glikoproteidami. Skoczogonki *Tomoceirus minor*, a także pająki *Maia squinado* odkładają metale w granulach komórek jelita środkowego. Komórki te degenerują w trakcie linienia, a organizm uwalnia się tym samym od kongrecji mineralnych, tworząc następnie nową warstwę nabłonka jelitowego (103,104).

Granule typu C mają strukturę krystaliczną. Podstawową ich funkcją jest magazynowanie w komórce żelaza w postaci mobilnej (ferrytyna) i jako produktu zbędnego w warunkach jego nadmiaru w komórkach (6,46,48,68). Zwierzęta występujące w środowisku silnie zanieczyszczonym metalami akumulują w nich także Zn i Pb (46).

Granule typu D mogą sięgać rozmiarów powyżej 1 mm i zbudowane są głównie z CaCO_3 w formie krystalicznej lub amorficznej. Występują między innymi w tkance łącznej ślimaków i gruczołach wapiennych dżdżownic (105).

5. Konkluzje

Przedstawione informacje wskazują na złożoność problematyki adaptacji bezkręgowców do nadmiaru metali w ich środowisku. Organizmy morskie, wykazują zdolność pobierania metali z grupy b i grupy pośredniej (13) proporcjonalnego do ich stężenia w środowisku. Stężenia metali w organizmie wielokrotnie przewyższające ich poziom w środowisku możliwe są dzięki różnym mechanizmom ich unieczynniania przez: kompartmentację w komórkach, wiązania ze specyficznymi białkami, unieruchamianie w specyficznych strukturach pęcherzykowych, wydalanie dzięki sekwestracji w lizosomach wątrobotrzustki lub nerek. Tam przemieszczane są głównie przez hemocyty, które same mają zdolność do ich znacznej kumulacji. Unieczynnianie w cytoplazmie możliwe jest dzięki wiązaniu ze specyficznymi metalotioneinami, których syntezę indukuje głównie cynk, miedź lub kadm.

Dla organizmów lądowych możliwe było wykształcenie różnorodnych strategii unikania oraz fizjologicznych preadaptacji przewodu pokarmowego. Zdolność do tolerowania wysokich stężeń metali w komórkach zależy od genetycznych uwarunkowań do syntezy Mt, zdolności do tworzenia granul wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych, unieczynniających metale oraz sprawnych mechanizmów ich usuwania.

W dalszym ciągu mało wiemy o drogach transportu metali wewnątrz organizmu i transferze metali między różnymi strukturami wewnątrz komórki. Również inne zagadnienia wymagają dalszych badań. Nie wiadomo np. czy systemy nośnikowe uczestniczące w transporcie błonowym metali są specyficzne czy nie. W zależności od tego, można oczekiwać albo synergistycznych albo antagonistycznych efektów w łącznym oddziaływaniu metali. Znany jest natomiast fakt ich modyfikacji przez pH i wiele innych czynników. W badaniach zwierząt lądowych konieczne jest

wyjaśnienie, dlaczego gatunki pokrewne o zbliżonych wymogach pokarmowych wykazują tak znaczne zróżnicowanie w koncentracji metali w ich tkankach i dlaczego tak różne jest tempo wymiany metali u gatunków pokrewnych. Nie został także dokładniej zbadany udział mikroorganizmów symbiotycznych w procesach detoksykacji metali przez gospodarza.

Literatura

1. Martin M. H., Coughtrey P. J., (1982), *Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution: Land and Air*. Applied Science, London.
2. Nuorteva P., (1990), *Metal Distribution Patterns and Forest Decline*, University Helsinki Publ., 11, 1–77.
3. Migula P., (1985), *Prace Nauk. Uniw. Śląsk.*, 765, 1–115.
4. Alstad D. N., Edmunds G. F., Weinstein L. H., (1982), *Ann. Rev. Entomol.*, 27, 369–384.
5. Heliövaara K., Vaisanen R., (1986), *Z. angew. Ent.*, 5, 469–478.
6. Hopkin S. P., (1989), *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*, Elsevier Applied Science, London, New York.
7. Migula P., (1989), *Nutritional Ecology of Insects and Environment*, Ed. Goel S. C., 157–166.
8. Migula P., (1986), *Proc. Third European Congress of Entomology*, Ed. Velthuis H. H. W., Amsterdam, Nederl. Entomol. Vereniging.
9. Migula P., Doleżych B., Kielan Z., Łaszczycza P., Howaniec M., (1990), *Zagrożenia i stan środowiska przyrodniczego rejonu śląsko-krakowskiego*, red. Godzik S., SGGW-AR Warszawa, 62, 108–129.
10. Van Straalen N. M., Burghouts T. B., Doornhof M. J., Groot G. M., Janssen M. P., Joosse E. N. G., Van Meeredonk J. H., Theeuwen J., Verhoef H. A., Zoomer H. R., (1987), *J. Appl. Ecol.*, 24, 953–968.
11. Luckey T. D., Venugopal B., Hutcheson D., (1975), *Heavy Metal Toxicity*, Plenum Press, New York.
12. Friberg L., Nordberg G. F., Vouk V. B., (1986), *Handbook on the Toxicology of Metals*, Elsevier, Amsterdam–New York–Oxford.
13. Nieboer E., Richardson D., (1980), *Environ. Pollut.*, 1B, 3–26.
14. Stebbing A. R. D., (1982), *Sci. Total Environ.*, 22, 213–234.
15. Viarengo A., (1989), *CRC Critical Reviews in Aquatic Sciences*, 1, 295–317.
16. Migula P., (1979), *Acta Biol.*, Katowice, 6, 63–72.
17. Polek B., Weismann L., (1984), *Biologia (Bratislava)*, 39, 567–571.
18. Bryan G. W., (1984), *Marine Ecology*, Ed. Kinne O., 5, 1289–1431, John Wiley and Sons, Chichester.
19. Hughes R. D., Potter J. E., Weinstein L. H., (1981), *Environ. Entomol.*, 10, 736–744.
20. Weis J. S., (1978), *Mar. Biol.*, 49, 119–127.
21. Young J. S., Roesijadi G., (1983), *Mar. Poll. Bull.*, 14, 30–32.
22. Viarengo A., Pertica M., Canesi L., Biasi F., Cecchini G., Orunesu M., (1988), *Mar. Environ. Res.*, 24, 163–166.
23. Meister A., Anderson M. E., (1983), *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 711–745.
24. Migula P., (1990), *Acta Biol. Silesiana*, Katowice, 15, 95–106.
25. Migula P., (1989), *Bioindicators Deterioration of Region*, red. Bohac J., Ruzicka V., 2, 331–339, Ceske Budejovice.
26. Simkiss K., Taylor M. G., (1989), *CRC Rev. Aquatic Sci.*, 1, 173–188.
27. Byczkowski J. Z., Sorenson J. R., (1984), *Sci. Total Environ.*, 37, 133–162.
28. Berglund R., (1985), *Comp. Biochem. Physiol.*, 80C, 507–410.
29. Meyer W., Harisch G., Sagredos A. N., (1986), *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 11, 308–319.
30. Diamond E. M., Kench J. E., (1974), *Environ. Physiol. Biochem.*, 4, 280–283.
31. Atkinson D. E., (1977), *Cellular Energy Metabolism and its Regulation*, Academic Press, New York.
32. Migula P., Wawrzyczek A., (1990), *Acta Biol. Silesiana*, 15, 118–131.
33. Haya K., Waiwood B. A., (1983), *Aquatic Toxicology*, Ed. Nriagu J. O., 10, 307–333, John Wiley and Sons Inc., New York.
34. George S. C., (1972), *Physiological Mechanisms of Marine Pollution Toxicity*, Ed. Vernberg W. B., Calabrese A., Thurnberg F. P., Vernberg J. F., 3–52, Academic Press, New York.
35. Livingstone F. R., Farrar S., (1984), *Sci. Total Environ.*, 39, 209–218.
36. Pool M. L., (1981), *Toxicol. Envir. Chem. Rev.*, 4, 179–203.

37. Accomando R., Viarengo A., Orunesu M., (1987), *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 63, 20–26.
38. Skou J. C., Norby J. G., (1979), *Na, K-ATPase Structure and Kinetics*, Academic Press, London.
39. George S. G., Frazier J. M., (1982), *Thal. Jugosl.*, 18, 203–219.
40. Simkiss K., (1983), *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 63, 1–7.
41. Carpena E., George S. G., (1981), *Mol. Physiol.*, 1, 23–34.
42. George S. G., Pirie B. J. S., Coombs T. L., (1976), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 23, 71–79.
43. George S. G., (1987), *Heavy Metals in the Marine Environment*, Ed. Furness R. W., Rainbow P. S., 123–142, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
44. Brady F. O., (1982), *Trends Biochem. Sci.*, 4, 143–145.
45. Suzuki K. T., Aoki Y., Nishikawa M., Masui H., Matsubara F., (1984), *Comp. Biochem. Physiol.*, 79C, 249–253.
46. Hopkin S. P., Martin M. H., (1984), *Environ. Pollut.*, 6B, 309–318.
47. Dallinger R., (1977), *Oecologia*, 30, 273–276.
48. Hopkin S. P., (1986), *Proc. Third European Congr. Entomol.*, Ed. Velthuis H. H. W., 263–266, Amsterdam, Nederl. Entomol. Ver.
49. Joosse E. N. G., Verhoef H., (1987), *Adv. Ecol. Res.*, 16, 175–248.
50. Neubauser E. F., (1978), *Pedobiologia*, 18, 9–109.
51. Richardson B., Whittaker J. B., (1982), *Oikos*, 39, 237–240.
52. Migula P., Binkowska K., Kafel A., Kędziorski A., Nakonieczny M., (1991), *Pol. Ecol. Studies*, (w druku).
53. Van Capelleveen H. E., Van Straalen N. M., Van den Berg M., Van Wachem E., (1986), *Proc. Third European Congr. Entomol.*, Ed. Velthuis H. H. W., 251–254, Amsterdam, Nederl. Entomol. Ver.
54. Migula P., Kędziorski A., Nakonieczny M., Kafel A., (1989), *Uttar Pradesh J. Zool.*, 9, 140–149.
55. Morita H., Shirashi A., (1985), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Ed. Kerkut G. A., Gilbert L. I., 6, 133–170, Pergamon Press, Oxford, New York.
56. Waterhouse D. F., Stay B., (1955), *Aust. J. Biol. Sci.*, 8, 253–257.
57. Bignell D. E., (1984), *Invertebrate-Microbial Interactions*, Ed. Anderson J. M., Rayner A. D. M., Walton D., 205–227, Cambridge University Press.
58. Simkiss K., (1985), *Experientia*, 41, 1195–1197.
59. Beeby A., (1978), *Oecologia*, 32, 255–262.
60. Andersen C., (1979), *Pedobiologia*, 19, 309–319.
61. Ireland M. P., (1976), *Environ. Pollut.*, 13, 201–206.
62. Morgan A. J., Morris B., (1982), *Histochemistry*, 75, 269–287.
63. Pearce T. G., (1972), *J. Anim. Ecol.*, 41, 167–188.
64. Wieser W., (1985), *Pedobiologia*, 5, 304–331.
65. Singh P., (1977), *Artificial Diets for Insects, Mites and Spiders*, Plenum Data Co., New York.
66. Walton K. C., (1986), *Environ. Pollut.*, 42A, 361–371.
67. Petering D. H., Fowler B. A., (1986), *Environ. Health Persp.*, 65, 217–224.
68. Brown B. E., (1982), *Biol. Rev.*, 57, 621–667.
69. Brady F. O., Webb M., (1981), *J. Biol. Chem.*, 256, 3931–3935.
70. Viarengo A., Moore M. N., Mancinelli G., Mazucotelli A., Pipe R. K., Farrar S. V., (1987), *Mar. Biol.*, 94, 251–259.
71. Kagi J. H. R., Kojima Y., (1987), *Metallothionein II*, Birkhauser Verlag, Basel.
72. Suzuki K. T., Yamamura M., Mori T., (1980), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9, 415–424.
73. Dohi Y., Ohba K., Yoneyama Y., (1983), *Biochim. Biophys. Acta*, 745, 50–56.
74. Demuynck S., Sautiere P., Beeumen J., Dhainaut-Courtois N., (1991), *C. R. Acad. Sci., Paris*, 312, 317–322.
75. Swerdel M. R., Cousins R. J., (1982), *J. Nutr.*, 112, 801–809.
76. Hamer D. H., (1986), *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 913–925.
77. Viarengo A., Pertica M., Mancinelli G., Palmero S., Orunesu M., (1980), *Comp. Biochem. Physiol.*, 67C, 215–218.
78. Talbot V., Magee R. J., (1978), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 7, 73–81.
79. Simkiss K., Mason A. Z., (1983), *The Mollusca*, 2, 101–164.
80. Maroni G., Watson D., (1985), *Insect Biochem.*, 15, 55–63.
81. Maroni G., Lastowski-Pery D., Otto E., Watson D., (1986), *Environ. Health Persp.*, 65, 107–116.
82. Funk A. E., Day F. A., Brady F. O., (1987), *Comp. Biochem. Physiol.*, 86C, 1–10.

83. Roesjadi G., Fellingham G. W., (1987), *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 680–684.
84. Harrison F. L., Lam J. R., Novacek J., (1988), *Marine Environ. Res.*, 24, 167–170.
85. Maroni G., Wise J., Young J. E., Otto E., (1987), *Genetics*, 117, 739–744.
86. Thornalley P. J., Vasak M., (1985), *Biochim. Biophys. Acta*, 827, 36–45.
87. George S. G., (1983), *Comp. Biochem. Physiol.*, 76C, 59–67.
88. Viarengo A., Zanichci G., Moore M. N., Orunesu M., (1981), *Aquat. Toxicol.*, 1, 147–157.
89. George S. G., Pirie B. J. S., Coombs T. L., (1982), *Biochem. Biophys. Acta* 716, 61–71.
90. Taylor M., Simkiss K., Greaves G. N., (1986), *Biochem. Soc. Trans.*, 14, 549–552.
91. Mason A. Z., Simkiss K., (1982), *Exp. Cell. Res.*, 139, 383–391.
92. Van Straalen N. M., Van Meerendonk J. H., (1987), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38, 213–219.
93. Green L. F. B., (1979), *Tiss. Cell*, 11, 673–702.
94. Jenkins T., Erasmus D. A., Davies T. W., (1979), *Holarct. Ecol.*, 2, 21–29.
95. Waku Y., Sumimoto K. I., (1974), *Tiss. Cell*, 6, 127–136.
96. Morgan A. J., Morris B., (1982), *Histochemistry*, 75, 269–287.
97. Meryan J. C., Graf F., Nicaise G., (1986), *Tiss. Cell*, 18, 267–283.
98. Simkiss K., Jenkins G. A., McLellan J., Wheeler E., (1982), *Experientia*, 38, 333–335.
99. Sohal R. S., Lamb R. E., (1977), *J. Insect Physiol.*, 23, 1349–1354.
100. Wieser W., Klima J., (1969), *Mikroskopie*, 24, 1–9.
101. Brown B. E., (1976), *Water Res.*, 10, 555–559.
102. Sohal R. S., Lamb R. E., (1979), *J. Insect Physiol.*, 23, 1349–1354.
103. Wieser W., (1967), *Helgolander Wiss. Meer.*, 15, 282–293.
104. Taylor M. G., Simkiss K., (1984), *Environ. Chem.*, 3, 102–138.
105. Simkiss K., (1976), *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 30, 423–444.

Adaptational strategies of invertebrates to environmental contamination with heavy metals

Summary

Since at least some of both marine and terrestrial invertebrate species can survive well in areas severely polluted with heavy metals the author examined various adaptational strategies which evolved in this group of animals. All these data are discussed on the background of cytotoxicity of heavy metals and differences in routes of uptake and transporting systems of heavy metals into the cells.

The basic mechanisms of heavy metal tolerance evolved independently in various groups of invertebrates. They might be summarized as follows: 1) behavioural and physiological mechanisms of avoidance; 2) mechanisms of intensified excretion from an organism; 3) mechanisms of detoxication by: binding with specific low molecular weight proteins – metallothioneins; sequestering in lisosomes, compartmentation in various extracellular and intracellular granules and vesicles. All these mechanisms are discussed in details with the emphasis to show the differences between marine and terrestrial invertebrates. The genetic mechanism of tolerance to heavy metals may appear to consist of duplication of the gene which codes for metallothionein. In concluding remarks the author posed some questions which are still open to further studies.

Adres dla korespondencji:

Pawel Migula, Katedra Fizjologii Człowieka i Zwierząt, Uniwersytet Śląski, ul. Bankowa 9, 40–007 Katowice.