

ANNA SIEROSŁAWSKA

*Katedra Fizjologii i Ekotoksykologii
Instytut Biotechnologii
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II
Konstantynów 1H, 20-780 Lublin
E-mail: ansie@kul.lublin.pl*

ANATOKSYNA-a – CHEMIZM, WYSTĘPOWANIE, EFEKTY DZIAŁANIA

WSTĘP

Sinice (cyjanobakterie) są prokariotycznymi mikroorganizmami powszechnie występującymi na całym świecie, wyposażonymi w szereg mechanizmów umożliwiających adaptację do różnych środowisk, zdolnymi do tworzenia w określonych warunkach tzw. sinicowych zakwitów wód. Do masowego rozwoju sinic przyczyniają się przede wszystkim takie czynniki środowiskowe, jak obfitość substancji odżywczych, niski stosunek azotu do fosforu, intensywne nasłonecznienie, bezwietrzna pogoda czy temperatura wody powyżej 20°C (PAERL 1996, KANOSHINA i współaut. 2003, BŁASZCZYK i współaut. 2010). Zakwity sinic powodują szereg niekorzystnych konsekwencji, do których należą, z jednej strony, zmiany warunków abiotycznych w zbiornikach, tj. spadek stężenia tlenu, zmiana pH wody, zwiększenie mętności wody i słabszą przepuszczalność dla promieni słonecznych, co z kolei powoduje zmiany w strukturze lokalnych ekosystemów wodnych (BEDNARSKA 2006). Z drugiej strony, sinice mogą oddziaływać także bezpośrednio na organizmy bytujące w objętych zakwitami akwenach, m.in. poprzez wytwarzanie i uwalnianie toksyn sinicowych (cyjanotoksyn). Szacuje się, że nawet do 75% sinicowych zakwitów wód związanych jest z produkcją cyjanotoksyn (CODD 1995). Substancje te są związkami o różnorodnej budowie chemicz-

nej i wielokierunkowym sposobie działania. Ze względu na strukturę chemiczną, dzieli się je na cykliczne alkaloidy, peptydy i lipopolisacharydy (LPS). Do pierwszej grupy należy anatoksyna-a (Antx-a), wtórny metabolit o silnym działaniu neurotoksycznym.

Pierwsze doniesienia o obecności toksyny, którą potem okazała się być Antx-a, pojawiły się w USA i Kanadzie, w połowie XX w., kiedy to wielokrotnie obserwowano letalne zatrucia psów i krów pijących wodę zawierającą komórki *Dolichospermum* (*Anabaena*) *flos-aquae* (OSSWALD i współaut. 2007a, HARDY 2008). Udało się wówczas wyizolować toksyczny szczep sinic (NRC-44), będący źródłem Antx-a. Samą toksynę początkowo nazwano czynnikiem powodującym szybką śmierć (ang. very fast death factor, VFDF). Nazwę tę cyjanotoksyna zawdzięczała gwałtownemu działaniu po dootrzewnowym podaniu myszom toksycznych komórek sinic lub filtratów z ich hodowli. Intoksykacja powodowała paraliż, drgawki i śmierć w czasie do kilku minut, a LD₅₀ toksyny oszacowano na 250 µg kg⁻¹. Nazwa Antx-a wprowadzona została w 1977 r., po określeniu jej struktury chemicznej (DEVLIN i współaut. 1977).

Do chwili obecnej nieznane jest znaczenie biologiczne wytwarzania Antx-a dla samych cyjanobakterii, jakkolwiek nie można wykluczyć jej funkcji paratrophicznych. Nie

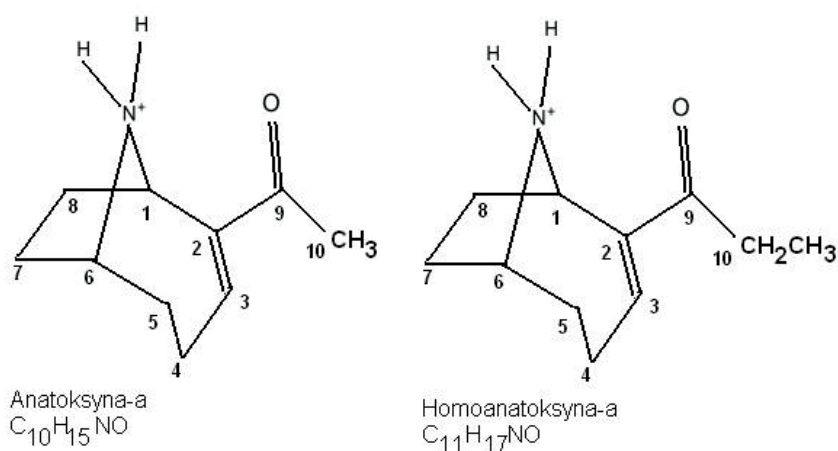
wiadomo także, czy uwalnianie toksyny zachodzi wyłącznie w trakcie lizy komórek czy, będąc małą cząsteczką, może ona również opuszczać sinice przyżyciowo (OSSWALD i współaut. 2007a). Nie zostały poznane także wszystkie czynniki powodujące, że nietoksyczny szczep zaczyna produkować toksynę lub odwrotnie, toksyczne sinice tracą swe zdolności w tym zakresie. Obserwowane są pewne korelacje pomiędzy wytwarzaniem Antx-a a fazą wzrostu populacji sinic, intensywnością naświetlenia czy temperaturą wody, niemniej zjawisko nabywania i utra-

ty toksyczności jest w dalszym ciągu przedmiotem badań (CHORUS i BARTRAM 1999, BARTON 2005). W odróżnieniu natomiast od cyjanotoksyn o działaniu hepatotoksycznym, nie wykazano zależności pomiędzy produkcją Antx-a a stężeniem całkowitego fosforu (SIVONEN 1996). Za potencjalną zdolność do wytwarzania toksyny u określonego szczepu sinic odpowiada obecność odpowiedniego zestawu genów umożliwiających biosyntezę Antx-a, przy czym pojawianie się w ich obrębie mutacji punktowych może tę zdolność znosić (RANTALA-YLINEN i współaut. 2011).

WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE Antx-a I JEJ LOSY W ŚRODOWISKU

Antx-a (2-acetylo-9-azabicyklo[4.2.1]non-2-en) jest bicyklicznym alkaloidem, aminą drugorzędową, o niskiej masie cząsteczkowej (MW=165 Da) i stałej dysocjacji $pK_a=9,6$ (DEVLIN i współaut. 1977, OSSWALD i współaut. 2007a). Jest ona homotropanem, analogiem tropanów, azotowych związków heterocyklicznych wchodzących w skład takich roślinnych alkaloidów o silnym działaniu biologicznym, jak np. kokaina. Antx-a jest dobrze rozpuszczalna w wodzie, jednak stosunkowo nietrwała, ponieważ ulega szybkiej dekompozycji w wyniku ekspozycji na światło przy alkalicznym pH. W silnym świetle słonecznym jej półokres trwania jest bardzo krótki, rzędu 1-2 godz. Fotoliza natomiast ustaje przy niskim pH. Nie stwierdzono zależności tempa degradacji Antx-a od zawartości w wodzie tlenu, żelaza czy miedzi (WHO 1998, BOTANA 2007, OSSWALD i współaut. 2007a). W natu-

rze występuje prawdopodobnie tylko w formie enancjomeru (+)-Antx-a. Oprócz fotolizy, degradacja Antx-a może być powodowana przez bakterie. W obecności *Pseudomonas* sp. tempo rozkładu toksyny oszacowano na 6-10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ w ciągu trzech dni (KIVIRANTA i współaut. 1991, CHORUS i BARTRAM 1999). W obecności flory bakteryjnej w warunkach laboratoryjnych, przy pH 7, jej półokres trwania określono na około 5 dni (SMITH i SUTTON 1993). W wyniku rozkładu Antx-a w środowisku powstają stabilne, nietoksyczne pochodne, dihydroanatoksyna-a i epoksyanatoksyna-a (STEVENS i KRIEGER 1991). Znany jest także jej metylowy analog, homoanatoksyna-a (homoAntx-a, MW=179), o zbliżonym do Antx-a działaniu, produkowany głównie przez *Planctothrix (Oscillatoria) formosa* (BŁASZCZYK i MAZUR-MARZEC 2006, BOTANA 2007). Strukturę chemiczną obu toksyn przedstawia Ryc. 1.



Ryc. 1. Struktura chemiczna Antx-a i homoAntx-a.

WYTWARZANIE Antx-a

Do potencjalnych producentów Antx-a należą wiele sinic, w tym liczne gatunki z rodzaju *Dolichospermum*, tj. *D. flos-aquae*, *D. circinalis*, *D. planctonica*, *D. mendotae*, jak również *Aphanizomenon* sp., *Cylindrospermum* sp., *Planktothrix* sp. (*Oscillatoria* sp.), w tym *P. agardhii*, *P. formosa*, *P. rubescens*, *Microcystis aeruginosa*, *Raphidiopsis mediterranea*, *Arthrospira fusiformes*, *Nostoc carneum* oraz *Phormidium favosum* (BOTANA 2007, OSSWALD i współaut. 2007a). Zdolność sinic do produkcji Antx-a nie jest uzależniona od określonej strefy klimatycznej, jako że doniesienia o jej identyfikacji pochodzą z krajów leżących na różnych szerokościach geograficznych i o odmiennych uwarunkowaniach klimatycznych, jak np. Kenia, Finlandia czy Japonia (OSSWALD i współaut. 2007a). W Polsce dotychczas obecność toksyny w trawie zakwitów sinic wykryto w Zalewie Zemborzyckim w Lublinie i w wodach Zatok Gdańskiej (MAZUR i PLIŃSKI 2003, PAWLIK-SKOWROŃSKA i współaut. 2004).

Produkcja Antx-a, jak i homoAntx-a, przebiega z wykorzystaniem wspólnych prekursorów. W genomie potencjalnych producentów neurotoksyn wykazano obecność fragmentu DNA o długości 29 kb, zawierającego klaster złożony ośmiu genów, *anaA-anaH*, uczestniczących w biosyntezie obu toksyn. Geny *anaC*, *anaE*, *anaF* oraz *anaG* obecne są jedynie w komórkach sinic wytwarzających neurotoksyny, natomiast nie występują w szczepach nietoksycznych (MÉJEAN

i współaut. 2009). W opisanym klasterze, gen *anaC* odpowiedzialny jest za wytwarzanie białka AnaC uczestniczącego w adenylation L-proliny, co uważane jest za pierwszy etap biosyntezy obu neurotoksyn (MÉJEAN i współaut. 2009, RANTALA-YLINEN i współaut. 2011). Z kolei geny *anaE-anaG* uczestniczą w wytworzeniu kompleksu syntazy poliketydowej (PKS). Obecność zarówno powyższych genów, jak i ich produktów, cechujących się wysoką homologią, wykazano w toksycznych sinicach *Oscillatoria* szczep PCC6506 oraz *Anabaena* sp. 37 (ARÁOZ i współaut. 2010, RANTALA-YLINEN i współaut. 2011).

Obserwowane było nabywanie przez nietoksyczne szczepy sinic zdolności do produkcji Antx-a po dodaniu do podłoża DNA pochodzącego od szczepów toksycznych. Uważa się, że odpowiedzialny za to zjawisko jest 10kb plazmid DNA (OSSWALD i współaut. 2007a).

Jak wspomniano wcześniej, *Planktothrix formosa* może produkować zarówno Antx-a, jak i homoAntx-a, jednakże szczepy produkujące jedną toksynę nie wytwarzają w tym samym czasie drugiej (SIVONEN 2000). Możliwe jest natomiast zjawisko jednoczesnej produkcji przez ten sam szczep sinic zarówno Antx-a, jak i innych cyjanotoksyn, hepatotoksyn, o odmiennym budowie chemicznej i efektach biologicznych (OSSWALD i współaut. 2007a).

DROGI NARAŻENIA

Najistotniejszą drogą narażenia ludzi i zwierząt na Antx-a, jak również na inne toksyny produkowane przez sinice, jest ich pobranie z wodą. Najwcześniejsze doniesienia literaturowe o obecności tej cyjanotoksyny wiązały się z obserwacją przypadków śmierci zwierząt dzikich i hodowlanych spożywających skażoną wodę (OSSWALD i współaut. 2007a). Niepokojący jest fakt, że w zbiornikach pełniących funkcje rekreacyjne często dochodzi do masowych zakwitów wód. Stwarza to ryzyko przypadkowego połknięcia wody zawierającej cyjanotoksyny, jak również komórek sinic, zwykle zawierających dużo wyższe niż woda stężenia toksyn. Możliwa jest także intoksykacja poprzez wdychanie aerozoli zawierających cyjanotoksyny,

aczkolwiek nie ma badań potwierdzających, że w przypadku Antx-a ta droga ekspozycji stanowi faktyczne zagrożenie. Istnieje kilka doniesień mówiących o możliwości kumulowania się Antx-a w ciele ryb i omułków, jakkolwiek w przypadku tych ostatnich osiągnięte stężenia były relatywnie niskie i szybko następował proces usuwania toksyny z ciała mięczaków (OSSWALD i współaut. 2007b, 2008). Zasadniczo przyjmuje się, że najbardziej niebezpieczne są zatrucia ostre wywołane przez Antx-a, natomiast nie przewiduje się możliwości występowania zatruc chronicznych (HARDY 2008). Rozpatrując możliwości wprowadzania do organizmu Antx-a drogą pokarmową, szczególną uwagę budzi często ostatnio stosowana praktyka suple-

mentacji diety produktami uzyskiwanymi ze sproszkowanych sinic, powszechnie dostępnymi w aptekach, drogeriach i sklepach internetowych. Tego typu wzbogacanie pokarmów stosowane jest także w hodowli zwierząt. Do najczęściej stosowanych w celach jadalnych sinic należą *Spirulina*, *Arthrospira*, a także *Nostoc* i *Aphanizomenon* (RELLÁN i współaut. 2009). Dwie pierwsze często traktowane są jako jeden rodzaj, przy czym termin „Spirulina” utożsamiany jest z handlowym odpowiednikiem nazwy *Arthrospira* (RZYMSKI 2009), natomiast według aktualnie obowiązujących podziałów taksonomicznych są to dwa rodzaje, zbliżone do siebie morfologicznie (SÁNCHEZ i współaut. 2003). Pociąga to za sobą daleko idące konsekwencje, ponieważ o ile w przypadku *Spiruliny* nie ma doniesień o możliwości wytwarzania przez te sinice Antx-a, to *Arthrospira* należy do potencjalnych producentów neurotoksyny (RELLÁN i współaut. 2009). W produkcji preparatów opartych na cyjanobakteriach duży udział mają takie kraje jak Chiny czy Indie, a pozyskiwanie sinic w niektórych przypad-

kach odbywa się bezpośrednio ze środowiska (CARMICHAEL i współaut. 2000). Zagrożenie pojawia się wówczas, kiedy oprócz gatunków deklarowanych przez producenta, w produkcie znajdzie się w sposób niezamierzony domieszka gatunków toksycznych lub użyty gatunek docelowy okaże się toksyczny. W badaniach prowadzonych przez RELLÁN i współaut. (2009), spośród 39 preparatów handlowych stosowanych jako suplementy diety ludzi i zwierząt, analizowanych pod kątem obecności Antx-a, w trzech wykryto tę cyjanotoksynę w stężeniach 2,5–33 $\mu\text{g g}^{-1}$. W preparatach tego typu wykrywano także produkty degradacji Antx-a, tj. epoksyantoksyna-a i dihydroantoksyna-a (RAWN i współaut. 2007). Z powyższych względów obawy mogą budzić mniejsze wymagania stawiane produktom określanym jako „suplementy diety”, umożliwiające wprowadzenie ich do obrotu, w porównaniu z np. lekami. Stąd niezwykle istotne jest kładzenie nacisku na potrzebę dokładnego badania surowców służących do produkcji takich preparatów pod kątem obecności cyjanotoksyn.

ZATRUCIA LUDZI

Do chwili obecnej brak jest jednoznacznie udokumentowanych przypadków zatrucia ludzi spowodowanych przez Antx-a. Ekspozycji na tę toksynę przypisywano śmierć nastolatka pływającego w objętych sinicowym zakwittem wodach w Wisconsin, USA, w 2002 r. Bezpośrednią przyczyną zgonu była niewydolność serca, w kale chłopca wykryto obecność komórek *A. flos-aquae*, a w pobranych tkankach pozostałości Antx-a. Jednakże

w wyniku powtórnych badań stwierdzono, że substancja obecna w tkankach, początkowo zidentyfikowana jako Antx-a, była w rzeczywistości fenyloalaniną (YANG 2008). Wcześniejsze doniesienia, łączące zatrucia ludzi z obecnością neurotoksyny (SCHWIMMER i SCHWIMMER 1968), nie są poparte wystarczającymi dowodami, które umożliwiałyby wskazanie Antx-a jako bezpośredniej przyczyny tychże zatruc.

DZIAŁANIE NEUROTOKSYCZNE Antx-a

Głównym efektem działania Antx-a jest zaburzenie przesyłania impulsów nerwowych. Toksyna ta jest agonistą receptorów nikotynowych (nAChR) znajdujących się w synapsach cholinergicznym ośrodkowego układu nerwowego i w zakończeniach płytek motorycznych. Receptory tego typu znajdują się także na takich komórkach jak keratynocyty, komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, komórki trzustki czy układu odpornościowego (CONTI-FINE i współaut. 2000). Receptory nAChR są kanałami jonowymi bramkowanymi

mi acetylocholiną, o budowie pentametrycznej. Układ podjednostek tworzących pentamer (α , β , γ , δ i ϵ) jest zmienny. Prawdopodobnie Antx-a wiąże się z pozakomórkową domeną podjednostek α (MOLLOY i współaut. 1995), przy czym może ona być przyłączana przez różne typy receptorów, zarówno nerwowe, jak i mięśniowe (ARÁOZ i współaut. 2010). Wiązanie to jest stałe. Pobudzenie nAChR ligandem skutkuje otwarciem kanału i napływem jonów sodowych do wnętrza komórki, co wyzwala w niej potencjał czynno-

ściowy. Ponieważ Antx-a nie jest degradowana przez acetylocholinesterazę, wywoływane przez nią ciągle pobudzenie doprowadza do paraliżu, blokady mięśni oddechowych i w efekcie do śmierci intoksykowanego organizmu. Wykazano także, że Antx-a pobudza wydzielanie katecholamin: dopaminy, adrenaliny i noradrenaliny (MOLLOY i współaut.

1995, SOLIAKOV i współaut. 1995, CAMPOS i współaut. 2007).

Syntetyczny enancjomer (-)-Antx-a ma 150 razy mniejszą zdolność do łączenia się z nAChR, w porównaniu z naturalnie występującą formą (+)-Antx-a, co świadczy o stereoselektywności receptorów nikotynowych (OSSWALD i współaut. 2007a).

DZIAŁANIE GENOTOKSYCZNE I TERATOGENNE Antx-a

Na podstawie badań na komórkach *Salmonella typhimurium* TA 1535 (pSK1002) wykazano, że Antx-a w postaci czystej, będącej dostępną w handlu mieszaniną enancjomerów (+/-), w stężeniu 2-0.5 µg ml⁻¹ indukuje ekspresję genu *umuC* w operonie SOS, co wskazuje na naruszenie stabilności DNA w eksponowanych komórkach. Nie obserwowano działania genotoksycznego ani samej Antx-a, ani mieszaniny zawierającej Antx-a i mikrocystynę-LR, kiedy doświadczenie prowadzono w obecności enzymów mikrosomalnych frakcji S9 (SIEROSŁAWSKA i RYMUSZKA 2010). Z kolei badania wykonane z użyciem testu Ames nie wykazały mutagenego potencjału Antx-a w stosunku do użytych szczepów bakteryjnych (badania własne, dane niepublikowane). Brak jest natomiast informacji na temat oddziaływania tej neurotoksyny na materiał genetyczny komórek eukariotycznych. Wykazano jednakże indukcję

potencjalnie genotoksycznego stresu oksydacyjnego w tymocytach szczura eksponowanych na Antx-a (LAKSHMANA RAO i współaut. 2002). W literaturze brak jest danych na temat działania kancerogennej toksyny. Bardzo ograniczone są również informacje dotyczące ewentualnego wpływu toksyny na układ rozrodczy. YAVASOGLU i współaut. (2008) obserwowali obniżoną liczebność plemników w najądrzach myszy, którym podawano dootrzewnowo Antx-a przez 7 dni. U myszy tych stwierdzono również szereg histopatologicznych zmian w jądrach. W badaniach, w których podawano ciężarnym myszom i chomikom Antx-a różnymi drogami i w różnych dawkach, nie wykazano działania teratogennej toksyny, jakkolwiek w jednej z grup doświadczalnych obserwowane było występowanie wodogłowia u płodów chomików (ASTRACHAN i współaut. 1980, FAWELL i współaut. 1999).

POZOSTAŁE EFEKTY TOKSYCZNE

Oprócz działania neurotoksycznego, które jest zasadniczym mechanizmem oddziaływania Antx-a na organizmy żywe, oraz nielicznych doniesień dotyczących możliwości występowania efektów genotoksycznych i teratogennych, obserwowane były również inne skutki ekspozycji na tę toksynę. Szczurze tymocyty i komórki nerki afrykańskiej małpy zielonej (Vero), w trakcie hodowli w pożywce zawierającej Antx-a, wykazywały takie objawy działania cytotoksycznego toksyny jak wpływ LDH, dysfunkcję mitochondriów, fragmentację DNA oraz aktywację kaspazy 3 i inne typowe cechy apoptozy (LAKSHMANA RAO i współaut. 2002). Z kolei TENEVA i współaut. (2005) opisywali zredukowaną żywotność limfocytów T i B myszy hodowanych w obecności Antx-a. Obserwowane było także zwiększenie odsetka komórek apoptotycznych po ekspozycji *in vitro* komórek żernych karpia

(*Cyprinus carpio* L.) na tę toksynę, jak również zaburzenia fagocytozy, stres oksydacyjny, znaczna redukcja poziomu glutationu (GSH) oraz zmieniona aktywność proliferacyjna limfocytów, zwłaszcza komórek B (RYMUSZKA i SIEROSŁAWSKA 2010, 2011; RYMUSZKA 2012). Wykazano, że Antx-a może oddziaływać nie tylko na zwierzęta, ale także na makroglony *Cladophora fracta* i rzęś wodną *Lemna minor*, powodując wzrost aktywności enzymów – peroksydazy oraz S-transferazy glutationu (GST), oraz znacznie redukując produkcję tlenu (MITROVIC i współaut. 2004). Zmianę wzrostu korzeni i aktywności enzymów po ekspozycji na toksynę obserwowano także u lucerny siewnej (*Medicago sativa*), co może mieć konsekwencje w przypadku nawadniania pól uprawnych wodą zawierającą produkty toksycznych sinic (PFLUGMACHER i współaut. 2006).

ZALECENIA ODNOŚNIE LIMITÓW BEZPIECZEŃSTWA

Relatywnie mało jest dostępnych informacji na temat efektów zdrowotnych będących skutkiem intoksykacji Antx-a, w porównaniu np. do mikrocystyn, stąd istniejące wytyczne odnośnie bezpiecznych stężeń i zalecanych limitów przedstawiane są jedynie w formie projektów lub tymczasowych zaleceń. W chwili obecnej uważa się, że chroniczna ekspozycja na Antx-a nie stanowi zagrożenia, w odróżnieniu od zatruć ostrych. W 2006 r. amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (ang. Environmental Protection Agency, EPA) zaproponowała wartość 0,003 mg kg⁻¹dzień⁻¹ jako dawkę referencyjną (RfD), czyli szacowane dzienne narażenie populacji ludzkiej, wraz z grupami wrażliwymi, które nie powinno spowodować wystąpienia efektów szkodliwych w ciągu całego życia. Wskaźnik ten wyliczono na podstawie wartości NO-AEL (ang. no observed adverse effect level)

ustalonej dla myszy, wynoszącej 2,5 mg kg⁻¹dzień⁻¹, z uwzględnieniem współczynnika niepewności (UF) równego 1000. Ustalenie RfD pozwoliło na obliczenie maksymalnej wartości dopuszczalnego stężenia Antx-a w wodzie służącej celom rekreacyjnym przy ekspozycji krótkoterminowej (ang. short-term recreational guidance value), którą oszacowano na 450 µg L⁻¹. Zaproponowany został także analogiczny wskaźnik dla ekspozycji subchronicznej (ang. subchronic recreational guidance value) na poziomie 75 µg L⁻¹. Natomiast rekomendowane maksymalne stężenie Antx-a w wodzie pitnej wynosi 1 µg L⁻¹ (HARDY 2008), aczkolwiek nie jest to wartość obligatoryjna i np. w Nowej Zelandii maksymalne akceptowalne stężenie tej toksyny ustalono na 6 µg L⁻¹, a niektóre źródła podają jako zalecaną wartość 3 µg L⁻¹ (SVRCEK i SMITH 2004, OSSWALD i współaut. 2007a).

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA TERAPEUTYCZNEGO

Ze względu na podobne do acetylocholiny działanie Antx-a, trwają poszukiwania syntetycznych analogów Antx-a, o niższej toksyczności od macierzystego związku i większej stabilności, które można byłoby stosować leczniczo w niektórych jednostkach cho-

robowych o podłożu neurodegeneracyjnym. Do grupy chorób, w których terapii i badaniu etiologii mogłyby znaleźć zastosowanie pochodne Antx-a, należy miastenia, dystrofia mięśniowa, choroba Parkinsona czy choroba Alzheimer'a (BOTANA 2007).

ANATOKSYNA-a – CHEMIZM, WYSTĘPOWANIE, EFEKTY DZIAŁANIA

Streszczenie

Sinicowe zakwity wód stanowią jeden z poważniejszych problemów dotyczących zbiorniki wodne na całym świecie. Masowy rozwój sinic (cyjanobakterii) powoduje szereg niekorzystnych konsekwencji, do których należą zmiany warunków abiotycznych w zbiornikach, prowadzące z kolei do zaburzeń w strukturze lokalnych ekosystemów wodnych. Sinice mogą oddziaływać także bezpośrednio na inne organizmy, m.in. poprzez wytwarzanie i uwalnianie toksyn sinicowych (cyjanotoksyn). Szacuje się, że nawet

do 75% sinicowych zakwitów wód związanych jest z produkcją toksyn. Substancje te są związkami o różnorodnej budowie chemicznej i wielokierunkowym sposobie działania. Dzieli się je, ze względu na budowę chemiczną, na cykliczne alkaloidy, peptydy i lipopolisacharydy (LPS). Do pierwszej grupy należy anatoksyna-a, wtórny metabolit o silnym działaniu neurotoksycznym. Celem niniejszej pracy było przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat tej cyjanotoksyny.

ANATOXIN-a – CHEMISTRY, OCCURENCE, EFFECTS

Summary

Cyanobacterial water blooms are one of the most serious concerns for water bodies worldwide. Massive cyanobacterial proliferation causes many adverse consequences, such as change of abiotic conditions, which in turn leads to disturbances in the

structure of local water ecosystems. Additionally, cyanobacteria are able to exert direct influences on other organisms, i.e. producing cyanotoxins. It is estimated that up to 75% of cyanobacterial blooms is toxic. Cyanotoxins are a group of compounds of dif-

ferent chemical properties and biological activities. According to their chemical structure, cyanotoxins are divided into cyclic alkaloids, peptides and lipopolysaccharides (LPS). Among them anatoxin-a, a

secondary metabolite of potent neurotoxic activity, can be found. The aim of the present paper was to present the current state of knowledge on that cyanotoxin.

LITERATURA

- ARÁOZ R., MOLGÓ J., TANDEAU DE MARSAC N., 2010. *Neurotoxic cyanobacterial toxins*. *Toxicol* 56, 813–828.
- ASTRACHAN N. B., ARCHER B. G., HILBELINK D. R., 1980. *Evaluation of the subacute toxicity and teratogenicity of anatoxin-a*. *Toxicon* 18, 684–688.
- BARTON L., 2005. *Structural and functional relationships in procariotes*. Springer, USA.
- BEDNARSKA A., 2006. *Sinice i ich wpływ na roślino-żerne zwierzęta planktonowe*. *Wiad. Ekol.* 52, 59–87.
- BŁASZCZYK A., MAZUR-MARZEC H., 2006. *BMAA i inne neurotoksyny cyjanobakterii*. *Pol. Hyperbar. Res.* 4, 7–14.
- BŁASZCZYK A., TORUŃSKA A., KOBOS J., BROWARCZYK-MATUSIAK G., MAZUR-MARZEC H., 2010. *Ekologia toksycznych sinic*. *Kosmos* 59, 173–198.
- BOTANA L., 2007. *Phycotoxins. Chemistry and Biochemistry*. Blackwell Publishing.
- CAMPOS F., DURAN R., VIDAL L., FARO L. R., ALFONSO M., 2007. *In vivo neurochemical characterization of anatoxin-a evoked dopamine release from striatum*. *J. Neural. Transm.* 114, 173–184.
- CARMICHAEL W. W., DRAPEAU C., ANDERSON D. M., 2000. *Harvesting of Aphanizomenon flos-aquae Ralfs ex Born. & Flah. var. flos-aquae (Cyanobacteria) from Klamath Lake for human dietary use*. *J. Appl. Phycol.* 12, 585–595.
- CHORUS I., BARTRAM J., 1999. *Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management*. WHO. Spon Press, London.
- CODD G. A., 1995. *Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance*. *Water Sci. Technol.* 32, 149–156.
- CONTI-FINE B. M., NAVANEETHAM D., LEI S., MAUS A. D. J., 2000. *Neuronal nicotinic receptors in non-neuronal cells: new mediators of tobacco toxicity?* *Eur. J. Pharmacol.* 393, 279–293.
- DEVLIN J. P., EDWARDS O. E., GORHAM P. R., HUNTER N. R., PIKE R. K., STAVRIC B., 1977. *Anatoxin-a, a toxic alkaloid from Anabaena flos-aquae NRC-44h*. *Can. J. Chem.* 55, 1367–1371.
- FAWELL J. K., MITCHELL R. E., HILL R. E., EVERETT D. J., 1999. *The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse, II Anatoxin-a*. *Hum. Exp. Toxicol.* 18, 168–173.
- HARDY J., 2008. *Washington State Recreational Guidance for Microcystins (Provisional) and Anatoxin-a (Interim/Provisional). Final Report*. Washington State Department of Health.
- KANOSHINA I., LIPS U., LEPPÄNEN J. M., 2003. *The influence of weather conditions (temperature and wind) on cyanobacterial bloom development in the Gulf of Finland (Baltic Sea)*. *Harmful Algae* 2, 29–41.
- KIVIRANTA J., SIVONEN K., LAHTI K., LUUKKAINEN R., NIEMELA S. I., 1991. *Production and biodegradation of cyanobacterial toxins-a laboratory study*. *Archiv. Hydrobiol.* 121, 281–294.
- LAKSHMANA RAO P. V., BHATTACHARYA R., GUPTA N., PARIDA M. M., BHASKAR A. B. S., BUBEY R., 2002. *Involvement of caspase and reactive oxygen species in cyanobacterial toxin anatoxin-a-induced cytotoxicity and apoptosis in rat thymocytes and Vero cells*. *Arch. Toxicol.* 76, 227–235.
- MAZUR H., PLINSKI M., 2003. *Nodularia spumigena blooms and the occurrence of hepatotoxin in the Gulf of Gdansk*. *Oceanologia* 45, 305–316.
- MÉJEAN A., MANN S., MALDINEY T., VASSILIADIS G., LEQUIN O., PLOUX O., 2009. *Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium Oscillatoria PCC 65060 occurs on a modular polyketide synthase initiated by l-proline*. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 7512–7513.
- MITROVIC S. M., PFLUGMACHER S., JAMES K. J., FUREY A., 2004. *Anatoxin-a elicits an increase in peroxidase and glutathione S-transferase activity in aquatic plants*. *Aquat. Toxicol.* 68, 185–192.
- MOLLOY L., WONNACOTT S., GALLAGHER T., BROUGH P. A., LIVETT B. G., 1995. *Anatoxin-a is a potent agonist of the nicotinic acetylcholine receptor of bovine adrenal chromaffin cells*. *Eur. J. Pharmacol.* 289, 447–453.
- OSSWALD J., RÉLLAN S., GAGO A., VASCONCELOS V., 2007a. *Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a*. *Environ. International* 33, 1070–1089.
- OSSWALD J., RÉLLAN S., CARVALHO A. P., GAGO A., VASCONCELOS V., 2007b. *Acute effects of an anatoxin-a producing cyanobacterium on juvenile fish – Cyprinus carpio L.* *Toxicon* 49, 693–698.
- OSSWALD J., RÉLLAN S., GAGO A., VASCONCELOS V., 2008. *Uptake and depuration of anatoxin-a by the mussel Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) under laboratory conditions*. *Chemosphere* 72, 1235–1241.
- PAERL H. W., 1996. *A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments*. *Phycologia* 35, 25–35.
- PAWLIK-SKOWROŃSKA B., SKOWROŃSKI T., PIRSZEL J., ADAMCZYK A., 2004. *Relationship between cyanobacterial bloom composition and anatoxin-a and microcystin occurrence in the eutrophic dam reservoir (SE Poland)*. *Pol. J. Ecol.* 52, 479–490.
- PFLUGMACHER S., JUNG K., LUNDEVALL L., NEUMANN S., PEUTHERT A., 2006. *Effects of cyanobacterial toxins and cyanobacterial cell-free crude extract on germination of alfalfa (Medicago sativa) and induction of oxidative stress*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2381–2387.
- RANTALA-YLINEN A., KÄNÄ S., WANG H., ROUHIAINEN L., RIZZI E., BERG K., GUGGER M., SIVONEN K., 2011. *Anatoxin-a Synthetase Gene Cluster of the Cyanobacterium Anabaena sp. Strain 37 and Molecular Methods To Detect Potential Producers*. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 7271–7278.
- RAWN D. F., NIEDZWIADK B., LAU B. P., SAKER M., 2007. *Anatoxin-a and its metabolites in blue-green algae food supplements from Canada and Portugal*. *J. Food Prot.* 70, 776–779.
- RÉLLAN S., OSSWALD J., SAKER M., GAGO-MARTINEZ A., VASCONCELOS V., 2009. *First detection of anatoxin-a in human and animal dietary supplements containing cyanobacteria*. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2189–2195.
- RYMUSZKA A., 2012. *Cytotoxic activity of the neurotoxin anatoxin-a on fish leukocytes in vitro and in vivo studies*. *Acta Vet. Brno* (w druku).

- RYMUSZKA A., SIEROSŁAWSKA A., 2010. *Study on apoptotic effects of neurotoxin anatoxin-a on fish immune cells*. Neuroendocrinol. Lett. 31, 11-15.
- RYMUSZKA A., SIEROSŁAWSKA A., 2011. *Effects of neurotoxin – anatoxin-a on common carp (Cyprinus carpio L.) innate immune cells in vitro*. Neuroendocrinol. Lett. 32, 101-105.
- RZYMSKI P., 2009. *Wpływ toksyn sinicowych na zdrowie człowieka*. Nowiny Lek. 78, 353-359.
- SÁNCHEZ M., BERNAL-CASTILLO J., ROZO C., RODRÍGUEZ I., 2003. *Spirulina (Arthrospira): An Edible Microorganism. A Review*. Revista Universitas Scientiarum 8 http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/universitas_docs/vol8n1/J_bernal.htm
- SCHWIMMER M., SCHWIMMER D., 1968. *Medical aspects of phycology*. [W:] *Algae, man, and the environment*. JACKSON D. F. (red.). Syracuse University Press, New York, NY, 279-358.
- SIEROSŁAWSKA A., RYMUSZKA A., 2010. *Evaluation of genotoxic potential of neurotoxin anatoxin-a with the use of umuC test*. Neuroendocrinol. Lett. 31, 16-20.
- SIVONEN K., 1996. *Cyanobacterial toxins and toxin production*. Phycologia 35, 12-24.
- SIVONEN K., 2000. *Freshwater cyanobacterial neurotoxins: ecobiology, chemistry and detection*. [W:] *Seafood and freshwater toxins*. BOTANA L. M. (red.). CRC Press, 567-583.
- SMITH C., SUTTON A., 1993. *The persistence of anatoxin-a in reservoir water*. Foundation for Water Research, Report No. FR0427.
- SOLIAKOV L., GALLAGHER T., WONNACOTT S., 1995. *Anatoxin-a-evoked [³H]dopamine release from rat striatal synaptosomes*. Neuropharmacology 34, 1535-1541.
- STEVENS D., KRIEGER R., 1991. *Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-a*. Toxicon, 29, 167-179.
- SVRCEK C., SMITH D. W., 2004. *Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options, a review*. J. Environ. Eng. Sci. 3, 155-185.
- TENEVA I., MLADENOV R., POPOV N., DZHAMBZOV B., 2005. *Cytotoxicity and apoptotic effects of microcystin-LR and anatoxin-a in mouse lymphocytes*. Fol. Biol. (Praha) 51, 62-67.
- WHO (World Health Organization), 1998. *Guidelines for drinking-water quality*. 2nd ed. Addendum to Vol. 2. *Health criteria and other supporting information*. Geneva.
- YANG X., 2008. *Occurrence of the cyanobacterial neurotoxin, anatoxin-a, in New York State waters*. Dissertation, UMI, ProQuest Information and Learning Company, Ann Arbor, MI, USA.
- YAVASOGLU A., KARAASLAN M. A., UYANIKGIL Y., SAYIM F., ATEŞ U., YAVASOGLU N. U., 2008. *Toxic effects of anatoxin-a on testes and sperm counts of male mice*. Exp. Toxicol. Pathol. 60, 391-396.