



***Cyanobacteria* – źródło związków biologicznie czynnych**

Joanna Głowacka, Małgorzata Waleron, Magdalena Szefel-Markowska,
Ewa Łojkowska, Krzysztof Waleron

Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii,
Uniwersytet Gdański i Akademia Medyczna, Gdańsk

***Cyanobacteria* – the source of biologically active substances**

Summary

Cyanobacteria (blue – green algae) are one of the largest group of Gram – negative, photosynthetic prokaryotes, which are morphologically diverse and highly widespread in salt and sweet water and also in terrestrial habitats. They play a significant role as primary producers in many ecosystems. Some species of *Cyanobacteria* are capable to grow extensively and form toxic water blooms which can be dangerous for animal and human health. Certain species of them produce a wide variety of bioactive compounds which can have potential biotechnological, cosmetic and pharmaceutical applications. *Cyanobacteria* have recently been identified as one of the most promising group of organisms from which large number of novel, biochemically active natural compounds can be isolated.

Key words:

Cyanobacteria, biologically active substances, natural products, toxins, microcystin, anatoxins, nodularin, cyanovirin.

Adres do korespondencji

Krzysztof Waleron,
Katedra Biotechnologii,
Międzyuczelniany Wydział
Biotechnologii UG i AMG,
ul. Kładki 24,
Gdańsk 80-824;
e-mail:
waleron@biotech.univ.gda.pl

biotechnologia

4 (79) 95–112 2007

1. Wstęp

Cyanobacteria – potocznie zwane sinicami, stanowią najliczniejszą i bardzo zróżnicowaną morfologicznie grupę gramujemnych, fotosyntetyzujących prokariotów. Ze względu na to, że wykazują szeroki zakres tolerancji na wiele czynników środowiskowych, można je spotkać niemal we wszystkich niszach ekologicznych. Są organizmami kosmopolitycznymi, choć zdecydowana większość zamieszkuje zbiorniki wodne – zarówno słodkie

jak i o różnym stopniu zasolenia (1-3). *Cyanobacteria* żyją również w glebie, występują na obszarach pustynnych i polarnych, w termalnych źródłach i w lodowatych potokach i jeziorach, a także w zamrożonych wodach i śniegach Arktyki (3). Zasiadają gorące solanki, alkaliczne jeziora sodowe i środowiska zakwaszone. *Cyanobacteria* żyją w symbiozie z innymi organizmami, jak np. *Nostoc* występujący w obrębie porostu *Peltigera* oraz w korzeniach *Cycas* i *Gunnera* czy *Anabaena azollae* żyjąca w przestworach międzykomórkowych liści wodnej paproci *Azolla* (3,4). Uważa się, że to powszechne występowanie cyjanobakterii w tak różnorodnych, często ekstremalnych środowiskach jest wynikiem ich długiej ewolucji w trakcie, której wykształciły specyficzne strategie adaptacyjne. Jedną z nich jest wydalenie na zewnątrz komórek sinic polimerów, głównie polisacharydów, które tworzą otoczki odgrywające istotną rolę w interakcji tych organizmów ze środowiskiem oraz chroniące komórki sinic przed niekorzystnymi czynnikami zewnętrznymi (2).

Cyanobacteria uznawane są za jedne z najstarszych ewolucyjnie organizmów. Ich liczące około 3,5 mld lat prekambryjskie szczątki zachowały się w postaci tzw. stromatolitów (5). Uważa się, że cyjanobakterie stanowią ważne źródło informacji o początkach życia oraz o powstawaniu organelli komórkowych organizmów wyższych (5).

W ostatnich latach znaczna część badań dotycząca tych mikroorganizmów została poświęcona produkowanym przez nie związkom. *Cyanobacteria* wytwarzają bowiem szereg metabolitów wtórnych o aktywności biologicznej. Są wśród nich związki o właściwościach neurotoksycznych i hepatotoksycznych oraz związki mające właściwości chemioterapeutyków, znajdujące zastosowanie m.in. w przemyśle farmaceutycznym czy biotechnologicznym. Celem pracy jest przegląd i podsumowanie informacji na temat *Cyanobacteria* jako organizmów będących bogatym źródłem substancji aktywnych biologicznie.

2. Znaczenie *Cyanobacteria*

Cyanobacteria odgrywają znaczącą rolę w ekosystemie stanowiąc ważny element biocenozy. Zdolność do przeprowadzania fotosyntezy spowodowała, że ich udział w globalnej produkcji tlenu jest znaczący. Jako pierwsze fotoautotrofy spowodowały wzrost zawartości O_2 w atmosferze z 1 do 21% (5). Cyjanobakterie wykazujące zdolność wiązania azotu atmosferycznego wzbogacają gleby, oceany i inne wody w ten cenny dla organizmów żywych pierwiastek. Wprowadzenie do gleby gatunków sinic wiążących azot atmosferyczny pozwala na podniesienie wydajności plonów o 15-20% (6). Polisacharydy wydzielane przez te mikroorganizmy są wykorzystywane do polepszania struktury i pojemności wodnej gleb, ze szczególnym uwzględnieniem gleb pustynnych. Niektóre gatunki cyjanobakterii (*Phormidium* sp. J-1) zdolne są do syntezy polisacharydów takich jak emulciany, które wydzielane do środowiska wodnego powodują zlepianie się cząstek zawieszonych w wodzie i ich

sedymencję. Prowadzi to do oczyszczania powierzchniowej warstwy wody, a przez to do polepszenia transmisji promieniowania słonecznego do głębszych partii zbiornika (2). Niektóre cyjanobakterie tolerują obecność metali ciężkich w swoim środowisku i mają zdolność do ich akumulacji, co stwarza możliwość wykorzystania tych mikroorganizmów do usuwania toksycznych pierwiastków ze zbiorników wodnych oraz gleby (7). *Nostoc linckia* i *Nostoc rivularis* obniżają poziom jonów kadmu i cynku w wodzie skażonej odpowiednio o 75 i 50% (7). Słodkowodne, nietoksyczne szczepy *Gloeothece magna* zdolne są do wiązania jonów kadmu i manganu. Na podstawie wyników badań wskazuje się, że wiązanie to jest na tyle wydajne, że możliwe jest zastosowanie żywych kultur *G. magna*, bądź suchego materiału jako swoistych biofiltrów do oczyszczania wody pitnej (8). W interakcji z innymi bakteriami, cyjanobakterie wykazują zdolność do tworzenia mat mikrobiologicznych, które także znajdują zastosowanie w bioremediacji. Prowadzone są badania nad wykorzystaniem mat mikrobiologicznych w neutralizacji różnych kategorii odpadów: metali, radionuklidów oraz zanieczyszczeń organicznych (9). Istotna jest również zdolność cyjanobakterii do biodegradacji ropy naftowej i jej pochodnych. Pięć szczepów cyjanobakterii: *Aphanothece halophyletica*, *Dactylococcopsis salina*, szczep EPUS z rodzaju *Halothece*, *Oscillatoria* szczep OSC i *Synechococcus* szczep UNIGA, badanych przez Abeda i Köstera (2005) wykazywało zdolność do rozkładu n-alkanów – składników ropy naftowej. Tę samą właściwość cyjanobakterii wykazał Al-Hasan w przypadku kultur *Microcoleus chthonoplastes* i *Phormidium corium* izolowanych z bogatych w oleje osadów pochodzących z Zatoki Arabskiej (10).

Istotna jest również rola tych mikroorganizmów jako źródła pokarmu. Niektóre gatunki, zwłaszcza *Nostoc commune* i *Nostoc flagelliforme*, służą jako pożywienie na Syberii, w południowo-wschodniej Azji i w Japonii. W Stanach Zjednoczonych, Australii, a obecnie także w Europie coraz bardziej popularne stają się preparaty i odżywki otrzymywane z *Cyanobacteria* z rodzaju *Arthrospira* (*Spirulina*). Związki izolowane ze *Arthrospira platensis* mają właściwości odżywcze, odtruwające i ogólnie wzmacniające, aktywują makrofagi, limfocyty B, komórki NK i T, wzmagają wydzielanie interferonu γ , interleukiny-1- β oraz innych cytokin. Ekstrakt z komórek *A. platensis* działa przeciwalergicznie (wywierając wpływ przeciwhistaminowy), zmniejsza stężenie cholesterolu we krwi (działanie przeciwmiażdżycowe), a także hamuje procesy kancerogenezy (11). Stwierdzono również aktywność ekstraktu *A. platensis* przeciwko herpeswirusom, wirusom cytomegalii i wirusom grypy (12). Aktywnymi, istotnymi dla człowieka składnikami preparatu „spirulina” są: fikocyjanina, polipeptydy, aminokwasy, karotenoidy, witamina B12, związki żelaza, magnezu, wapnia, miedzi, fosforu i selenu. W 100 g sproszkowanej *Arthrospira platensis* zawiera się 55-70% białka i 7-13% soli mineralnych i tylko 0,6-0,8% tłuszczu (11,13).

Produkowane przez cyjanobakterie polisacharydy mają specyficzne właściwości fizykochemiczne, do których zalicza się zdolność do tworzenia żeli, stabilizacji zawiesin i emulsji, tworzenia po wysuszeniu włókien i cienkich szklistych warstw, podwyższania stopnia lepkości roztworów wodnych, tworzenia ciekłych kryształów

oraz centrów krystalizacji, zwiększania objętości i/lub utrzymywanie produktów żywnościowych w formie zawiesin. Związki te znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Wykorzystywane są m.in. w przemyśle spożywczym (produkcja roślinnego odpowiednika żelatyny, lodów, galaretek i innych), w przemyśle tekstylnym (barwienie i apreturowanie tkanin), w przemyśle kosmetycznym (składniki kremów i odżywek) oraz w przemyśle farmaceutycznym (składniki leków) (2).

Cyanobacteria są również wykorzystywane w biotechnologii i inżynierii genetycznej jako źródło enzymów restrykcyjnych. Z ok. 90 szczepów cyjanobakterii wyizolowano 180 systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych (14).

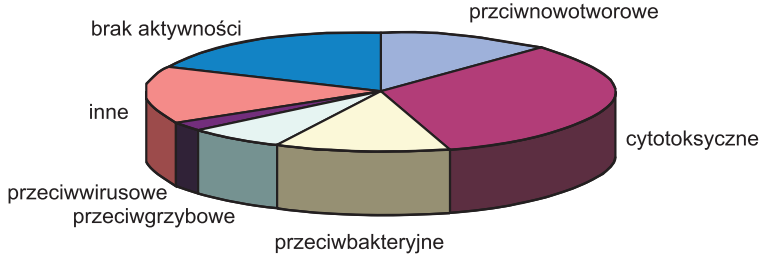
3. Związki biologicznie czynne pozyskiwane z *Cyanobacteria*

Związki biologicznie aktywne zawarte w komórkach cyjanobakterii zalicza się do metabolitów wtórnych. Są produktem wyspecjalizowanego metabolizmu, cechuje je często duża specyficzność i wybiórczość w oddziaływaniu na inne organizmy. Mogą wywierać efekt leczniczy, ale również mogą być toksynami. W dalszej części pracy omówiono, izolowane z komórek *Cyanobacteria*, związki aktywne biologicznie, które mogą mieć pozytywne znaczenie dla człowieka oraz te, które stanowią mogą zagrożenie dla jego zdrowia i życia.

Metabolity wtórne wytwarzane przez *Cyanobacteria* charakteryzują się bardzo zróżnicowaną budową chemiczną. Wyróżnia się alkaloidy, poliketydy, peptydy, lipopeptydy, związki aromatyczne, lipopolisacharydy, laktony i wiele innych (15,16). Metabolity wtórne mogą spełniać rolę czynników obronnych przed konsumentami, np. toksyny. Mogą także stanowić rezerwę metaboliczną, pełnić funkcję związków powierzchniowo czynnych, czynników różnicowania komórkowego i chelatorów, mogą być także wytwarzane jako uboczne, szkodliwe dla komórki, produkty przemiany materii. Stwierdzono również, że metabolity wtórne mogą odgrywać istotną rolę w procesach symbiozy cyjanobakterii z innymi organizmami (17).

3.1. Metabolity wtórne wykazujące korzystną dla człowieka aktywność biologiczną

Rezultaty badań prowadzonych w ostatnich latach rzuciły nowe światło na cyjanobakterie jako potencjalne źródło substancji aktywnych biologicznie. Zwięzłą charakterystykę związków biologicznie czynnych przedstawiono na rysunku i w tabeli. W dobie wzrastającej odporności mikroorganizmów na środki farmakologiczne, te właściwości cyjanobakterii okazały się szczególnie cenne, a poszukiwanie nowych substancji o aktywności przeciwwgrzybowej, przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej czy przeciwnowotworowej stało się priorytetowym celem wielu zespołów badawczych. W 1990 r. rozpoczęto intensywne badania nad cyjanobakteriami pod kątem



Rys. Zawartość poszczególnych grup związków biologicznie czynnych w ekstraktach izolowanych z komórek cyjanobakterii morskich. Wielkość próby: 424 bioprodukty (wg 15, zmodyfikowane).

poszukiwania nowych związków biologicznie czynnych. Już w 2001 r. liczba przebadanych szczepów słono- i słodkowodnych przekroczyła 4000 (15,18). Wśród wielu naturalnych produktów izolowanych z cyjanobakterii szczególną uwagę zwrócono na związki o charakterze: przeciwwirusowym (nostoflan, scytoviryna, spirulan wapnia), przeciwbakteryjnym (kawaguchipectyna, nostocyklyna A, nostocyna A, mikrosporyna, muskoryd), przeciwgrzybowym (kaloficyna, kryptoficyna), przeciwnowotworowym (antyllatoksyna, apratoksyna A, cylindrocyclofan, didemnin, obyamid, ulongapeptyna, kryptoficyna) i przeciwmalarycznym (calothrixin), a także na związki hamujące działanie enzymów (aeuroginozyna, mikrocystryny, spumigina A) oraz hamujące wzrost glonów i innych gatunków cyjanobakterii (bastadyna, cyjanobakteryna) (15,19,20). Na rysunku przedstawiono udział poszczególnych grup związków bioaktywnych w puli związków biologicznie aktywnych wytwarzanych przez cyjanobakterie morskie (15).

Tabela

Substancje aktywne biologicznie izolowane z komórek *Cyanobacteria*

Nazwa związku	Organizm źródłowy	Rodzaj aktywności biologicznej	Literatura
1	2	3	4
aeuroginozyna	<i>Mircocystis aeuuginosa</i>	inhibitor proteaz białkowych, aktywność cytotoksyczna	(15,37)
anatoksyna-a	<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Oscillatoria formosa</i>	neurotoksyna, analog acetylocholin i kokainy	(15,16,50,57)
anatoksyna-a(s)	<i>Anabaena circinalis</i> , <i>Anabaena flos-aquae</i>	neurotoksyna, inhibitor acetylocholinesterazy	(15,16,50,57)
antyllatoksyna	<i>Lyngbya majuscula</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(15,16)
ambigol A i B	<i>Fischerella ambigua</i>	aktywność antibakteryjna, antygrzybowa, cytotoksyczna, przeciwzapalna, antywirusowa, hamuje rozwój małż	(32)
apratoksyna A	<i>Lyngbya majuscula</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(41)
bastadyna	<i>Anabaena basta</i>	aktywność antycyjanobakteryjna, antibakteryjna	(15)

1	2	3	4
calothrixin	<i>Calothrix</i> sp.	aktywność przeciwnowotworowa i antymalaryczna	(15,16)
cyjanobakteryna	<i>Scytonema bofmanni</i>	aktywność antycyanobakteryjna, algicyd	(47)
cyjanowiryna CV-N	<i>Nostoc ellipsosporum</i>	aktywność antywirusowa	(15,49)
cylindrocyclofan	<i>Cylindrospermum lincheiforme</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(15,16)
cylindrospermopsyna	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	hepatotoksyna	(15,16,51)
dendroamidy A-C	<i>Nostocales</i> i <i>Stigonematales</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(54)
dichlorometan	<i>Oscillatoria</i> sp.	aktywność antibakteryjna	(18)
didemnina	<i>Synechocystis trididemni</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(15,16)
fischerelina	<i>Fischerella muscicola</i>	aktywność antygrzybowa, herbicyd	(15)
hapalozyna (X)	<i>Hapalosiphon welwitschii</i>	aktywność przeciwnowotworowa, cytotoksyna	(16)
kaloficyna	<i>Calothrix fusca</i>	fungicyd o szerokim spektrum działania	(15,19)
kawaguchipeptyna	<i>Mircocystis aeuuginosa</i>	aktywność antibakteryjna	(15,37)
kryptoficyna	<i>Nostoc</i> sp.	aktywność przeciwnowotworowa, antygrzybowa	(15,16,20,44)
lyngbyatoksyna	<i>Lyngbya majuscula</i>	aktywator białkowej kinazy C	(15,16)
majuskulamidy A-D	<i>Lyngbya majuscula</i>	aktywność antygrzybowa	(15)
mikrocycloamid	<i>Microcystis aeuuginosa</i>	aktywność przeciwnowotworowa, algicyd	(37)
mikrocystyny	<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Anabaenopsis</i> sp., <i>Hapalosiphon</i> sp., <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>M. viridis</i> , <i>Nostoc rivulare</i> , <i>Oscillatoria agardhii</i>	hepatotoksyny, inhibitory fosfataz proteinowych, kancerogenne dla komórek wątroby	(15,16,49-56)
mikrosporyna	<i>Nostoc commune</i>	aktywność antibakteryjna	(15)
mikrowirydyna	<i>Mircocystis aeuuginosa</i>	aktywność antibakteryjna, inhibitor proteaz białkowych	(15)
muskoryd	<i>Nostoc muscorum</i>	aktywność antibakteryjna	(15)
neosaksitoksyna (afanotoksyna II)	<i>Anabaena circinalis</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Dinoflagellata</i> , <i>Lyngbya wolei</i> , <i>Oscillatoria</i> sp.	neurotoksyna	(50)
nodularyny	<i>Nodularia spumigena</i>	hepatotoksyna, inhibitor fosfataz proteinowych, kancerogenne dla komórek wątroby	(15,49-51)
noscomin	<i>Nostoc commune</i>	aktywność antibakteryjna	(36)
nostocycloamid	<i>Nostocales</i> i <i>Stigonematales</i>	aktywność cytotoksyczna, algicyd	(15)
nostocyclylina A	<i>Nostoc</i> sp. TAU szczep IL-220	aktywność antibakteryjna	(15,38)
nostocyna A	<i>Nostoc spongiaeforme</i>	aktywność antibakteryjna	(15)
nostoflan	<i>Nostoc flagelliforme</i>	aktywność antywirusowa	(15,30,31)
obyanamid	<i>Lyngbya confervoides</i>	aktywność cytotoksyczna	(15,42)
raocycloamidy A i B	<i>Nostocales</i> , <i>Stigonematales</i>	aktywność cytotoksyczna, algicyd	(37)
saksitoksyna (afanotoksyna I)	<i>Anabaena circinalis</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Dinoflagellata</i> , <i>Lyngbya wolei</i> , <i>Oscillatoria</i> sp.	neurotoksyna	(15,50)
scytowiryna	<i>Scytonema varium</i>	aktywność antywirusowa	(15,25)

1	2	3	4
spirulina wapnia	<i>Artbrospira (Spirulina) platensis</i>	aktywność antywirusowa	(15,28,29)
spumigina A (IV)	<i>Nodularia spumigena</i>	właściwości inhibicyjne w stosunku do trombiny, plazminy i trypsyny	(15,16)
tanikolid	<i>Lyngbya majuscula</i>	aktywność antygrzybowa	(15)
tenuocyklamidy	<i>Nostocales, Stigonematales</i>	aktywność przeciwnowotworowa	(37)
tjipanazol D	<i>Fischerella ambigua</i>	aktywność antybakteryjna	(32)
ulongapeptyna	<i>Lyngbya</i> sp.	aktywność cytotoksyczna	(15,43)

3.1.1. Związki o aktywności przeciwwirusowej

Wśród leków przeciwwirusowych wyróżnić można związki: wzmacniające układ odpornościowy, blokujące adsorpcję wirusów na powierzchni komórki gospodarza oraz hamujące rozwój wirusów po ich wnikięciu do wnętrza komórki. Leczenie infekcji wirusowej jest trudne, a większość metod polega na ograniczeniu namnażania i rozprzestrzeniania się wirusa, co często prowadzi do przekształcenia infekcji ostrej w przewlekłą.

Mechanizm działania leków hamujących rozwój retrowirusów polega głównie na obniżeniu aktywności: odwrotnej transkryptazy, RT (enzymu niezbędnego do syntezy komplementarnej cząsteczki DNA na matrycy RNA), proteazy (odpowiadającej za hydrolizę białek prekursorowych wirusa podczas uwalniania wirionów z komórek zakażonych) oraz integrazy (odpowiedzialnej za włączanie prowirusowego DNA do genomu zakażonej komórki). Współcześnie, leczenie skierowane przeciw retrowirusowi HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*) polega na stosowaniu terapii kombinowanej, dwu- lub trzylekowej, która zapewnia nosicielom znaczące wydłużenie bezobjawowego okresu choroby (21). Do najbardziej znanych grup leków przeciwwirusowych należą: nukleozydowe inhibitory RT np. azydodotymidyna (AZT), lamiwudyna (3TC), stawudyna (d4T) czy zalcytabina (ddC), nienukleozydowe inhibitory RT np. delavirdyna (DLV), efawirenz (EFV), nevirapina (NVP), a także inhibitory proteazy jak: indinawir (IDV), amprenawir (APV), tipranawir (TPV), saquinawir (SQV) czy ritonawir (RIT) oraz inhibitory integrazy zawierające kwas kawoilochinowy (DCQA) (22,23). Stosowanie tych leków wiąże się niestety z wystąpieniem niepożądanych skutków ubocznych, do których (w zależności od stosowanego preparatu) należą: wysypki, nudności, wymioty, brak apetytu, spadek masy ciała, lipodystrofia, kwasica mleczanowa, hiperlipidemia, uszkodzenie wątroby, insulinooporność, kamica układu moczowego, zapalenie trzustki, szpiku kostnego z neutropenią i trombocytopenią, zaburzenia w funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego (np. ogniskowa, postępująca encefalopatia) oraz miopatie (24). Niektóre powikłania są na tyle poważne, że uniemożliwiają kontynuowanie leczenia. Wadą terapii z użyciem wymienionych leków przeciwwirusowych jest brak całkowitej eliminacji cząstek wirusowych oraz możliwość pojawienia się lekoopornych mutantów wirusa. Rozwiązania pro-

blemów leczenia chorób wirusowych poszukuje się w związkach naturalnych. Przewodzona jest intensywna analiza związków pozyskiwanych przede wszystkim z mikroorganizmów, w celu identyfikacji tych o poszukiwanych cechach. Od 1983 do 1994 r. ponad 60% odkrytych czynników przeciwinfekcyjnych i przeciwnowotworowych stanowiły produkty naturalne (25). Do 2003 r. wykryto w organizmach morskich ponad 150 substancji wykazujących aktywność skierowaną przeciwko HIV (26). W 1993 r. opublikowano wyniki badań, których przedmiot stanowiły lipo- i hydrofilne ekstrakty wyizolowane z ponad 900 szczepów cyjanobakterii. Ekstrakty testowane były w celu ustalenia ich zdolności do hamowania aktywności RT ptasiego wirusa mieloblastomy AMV (ang. *Avian Myeloblastosis Virus*) oraz wirusa HIV-1. Osiemnaście wodnych ekstraktów z komórek cyjanobakterii wykazało zdolność hamowania RT izolowanej z obu wirusów. Poziom hamowania aktywności RT był porównywalny do tego, jaki posiada AZT podawana w stężeniu 668 ng/ml (24). Na podstawie przeprowadzonych badań wysunięto wnioski, że cyjanobakterie mogą stanowić źródło nowych substancji, skutecznych w terapii przeciwwirusowej (24).

Związkiem o charakterze przeciwwirusowym jest wytwarzana przez *Nostoc elliposporum* (F90783, Q68D170) cyjanowiryna (CV-N). Białko to, zawierające 101 aminokwasów hamowało rozwój następujących wirusów: HIV-1, HIV-2, małpiego wirusa nabytego niedoboru odporności, SIV (ang. *Simian Immunodeficiency Virus*) oraz wirusa nabytego niedoboru odporności kotów, FIV (ang. *Feline Immunodeficiency Virus*). Mechanizm działania cyjanowiryny polega na blokowaniu adsorpcji wirusa na powierzchni komórki gospodarza. Związek ten powoduje zmiany konformacyjne w obrębie wirusowej glikoproteiny gp120. W wyniku tych zmian gp120 nie wiąże się z receptorem CD4 obecnym na powierzchni komórek gospodarza i materiał genetyczny wirusa nie wnika do wnętrza komórki. Na podstawie wstępnych badań sugeruje się, że cyjanowiryny wytwarzane są w komórkach niewielu szczepów cyjanobakterii, a ich biologiczna funkcja nie jest dotąd znana (15,26).

Kolejnym związkiem przeciwwirusowym jest scytowiryna – białko izolowane z wodnych ekstraktów cyjanobakterii *Scytonema varium*. Scytowiryna zbudowana jest z 95 aminokwasów i zawiera 5 charakterystycznych, wewnątrzłańcuchowych wiązań dwusiarczkowych. Wykazuje powinowactwo do glikoprotein otoczki wirusowej: gp120 i gp160 oraz w mniejszym stopniu do gp41. Podobnie jak cyjanowiryna hamuje proces adsorpcji wirusa na powierzchni komórek gospodarza. Wykazano, że scytowiryna ma aktywność przeciwwirusową i skutecznie hamuje rozwój infekcji, jeśli zostanie podana do 8 godzin od zakażenia wirusem (25).

W 2002 r. została opisana przeciwwirusowa aktywność wodnych ekstraktów z komórek *Spirulina maxima*. Wykazano, że hamują one rozwój zakażeń powodowanych przez wirusa opryszczki pospolitej HSV-2 i HSV-1 (ang. *Herpes Simplex Virus*), wirusa pseudowścieklizny PRV (ang. *Pseudorabies Virus*) oraz ludzkiego wirusa cytomegalii HCMV (ang. *Human Cytomegalovirus*). ED₅₀ (ang. *effective dose* – czyli ilość związku aktywnego niezbędna do zahamowania rozwoju wirusa w 50%) dla badanych ekstraktów wynosiła odpowiednio 0,069, 0,333, 0,103 i 0,142 mg/ml wobec

czterech badanych wirusów. Infekcja herpeswirusów hamowana była w fazie ich adsorpcji i penetracji do komórki gospodarza (27).

Interesujący jest również fakt, że wytwarzane przez *Arthrospira platensis* i inne gatunki *Cyanobacteria* polisacharydy wykazywały zdolność do hamowania replikacji: HIV-1 i HIV-3, wirusa opryszczki pospolitej (HSV), wirusa grypy typu A, wirusa Polio oraz wirusa świnki (MuV, ang. *Mumps Virus*), hodowanych w zawiesinach kultur komórek ludzkich. Hamowanie replikacji wirusów następowało już przy niskim stężeniu polisacharydu, przy czym nie zaobserwowano żadnego efektu toksycznego wobec komórek ludzkich (2). Hayashi wraz z zespołem udowodnili, że polisacharyd o nazwie spirulan wapnia (Ca-SP), izolowany ze *Arthrospira platensis*, stanowi obiecujący czynnik anty-HIV-1 i anty-HSV-1. Wykazali, że Ca-SP (w skład, którego wchodzi: ramnoza, ryboza, mannoza, fruktoza, galaktoza, ksyloza, glukoza, kwas glukuronowy i galakturonowy oraz siarczan i wapń) jest skuteczniejszym czynnikiem anty-HIV-1 niż siarczan dekstranu (DS). W badaniach przeprowadzonych na komórkach izolowanych z krwi mysiej wykazano, że Ca-SP działa w niższych stężeniach niż DS, a ponadto ma mniejszą aktywność przeciwkoagulacyjną i dłuższy okres półtrwania we krwi (28,29).

Wytwarzany przez *Nostoc flagelliforme* polisacharyd – nostoflan wykazuje aktywność przeciw wirusom HSV-1, HSV-2, HCMV oraz wirusowi grypy typu A (30). Wodne i metanolowe ekstrakty z komórek cyjanobakterii należących do rodzajów *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Scytonema*, *Lyngbya* i *Calothrix* badane były (w warunkach *in vitro* na komórkach izolowanych z nerek psich) pod kątem aktywności przeciwko wirusowi grypy typu A. Najsilniejsze działanie przeciwwirusowe obserwowano w przypadku metanolowych ekstraktów uzyskanych z *Microcystis aeruginosa*, *M. ichthyoblabe* i *M. wesenbergii*, żaden z ekstraktów nie wykazał efektu cytotoksycznego wobec badanych linii komórkowych. Obserwowano natomiast spadek aktywności proteazy wirusowej o 90%. Znaczącym atutem uzyskanych ekstraktów jest fakt, że nie stwierdzono selekcji mutantów wirusa grypy typu A opornych na ekstrakty cyjanobakteryjne nawet po kilkukrotnych inkubacjach i pasażach (31).

3.1.2. Związki o aktywności przeciwbakteryjnej

Mechanizm działania związków przeciwbakteryjnych polega głównie na hamowaniu procesów takich jak: biosynteza kwasów nukleinowych, białek oraz składników ściany komórkowej bakterii. Mimo dużej liczby dostępnych obecnie antybiotyków, wciąż dochodzi do selekcji mutantów lekoopornych. Z tego powodu w wielu laboratoriach na całym świecie poszukuje się nowych związków o aktywności antybiotycznej, pracuje się także nad opracowaniem pochodnych już stosowanych antybiotyków.

W 1995 r. Falch wraz z zespołem przebadali 80 lipo- i hydrofilnych ekstraktów otrzymanych z 20 gatunków hodowanych słodkowodnych i glebowych cyjanobakte-

rii. Spośród 54 badanych ekstraktów 78% wykazało działanie przeciwbakteryjne. Z komórek gatunku *Fischerella ambigua* badacze wyizolowali 3 składniki lipofilnych ekstraktów takie jak: ambigol A, ambigol B oraz tjipanazol D. Dwa pierwsze związki charakteryzowała aktywność przeciwbakteryjna, przeciwwirusowa, przeciwgrzybowa, cytotoksyczna, przeciwzapalna, a także stwierdzono hamujący wpływ ambigolów na rozwój małży. W przypadku tjipanazolu D obserwowano umiarkowaną aktywność przeciwbakteryjną (32). W badaniach ekstraktów z komórek cyjanobakterii pod kątem aktywności przeciwbakteryjnych wykazano, że lipo- i hydrofilowe ekstrakty szczególnie efektywnie hamowały wzrost bakterii gramdodatnich.

Zespół Kreitlow badał, przy użyciu metody dyfuzyjno-krażkowej, wpływ 50 ekstraktów uzyskanych z 12 różnych szczepów cyjanobakterii izolowanych ze słodko- oraz słonowodnych zbiorników (w tym z zakwitu na Morzu Bałtyckim) na 6 gatunków bakterii i 1 gatunek drożdży (18). Nie obserwowano zahamowania wzrostu bakterii Gram (-): *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* oraz drożdży *Candida maltosa*. Zauważono natomiast wysoką aktywność cyjanobakteryjnych ekstraktów przeciwko bakteriom Gram (+): *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Dichlorometan izolowany z *Oscillatoria* sp. 022 wykazał najsilniejszą aktywność przeciwko *S. aureus* (strefa hamowania 13 mm), zaś metanolowy ekstrakt pochodzący z *Oscillatoria rubescens* 016 hamował wzrost *S. aureus*, *B. subtilis* jak i *M. flavus* (18).

Podobnych obserwacji dokonał Østensvik (1998) podczas badania wodnych i metanolowych ekstraktów z komórek 5 wybranych gatunków *Cyanobacteria*. Opisał on antybakteryjne działanie ekstraktów uzyskanych z *Cylindrospermopsis raciborski*, *Anabaena lemmermannii*, *Microcystis aeruginosa*, *Tychonema bourrellyi* i *Aphanizomenon flos-aquae* w stosunku do 4 z 5 badanych gatunków bakterii: *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *Micrococcus luteus* i *Aeromonas hydrophila*. Najbardziej wrażliwą bakterią okazała się *B. subtilis*, a najbardziej oporną *M. luteus*. Zauważono także, że wodne ekstrakty z *A. flos-aquae* hamują rozwój *A. hydrophila* nie działając na pozostałe badane bakterie (33).

Aktywność przeciwbakteryjna naturalnych produktów pochodzących z wielokomórkowych, bentonicznych cyjanobakterii *Pseudoanabaena* sp. była testowana wobec mikroorganizmów patogennych dla człowieka. Komórkowe ekstrakty hamowały wzrost bakterii *E. coli*, *Salmonella* sp. i *S. aureus* oraz grzyba *Candida albicans*. Uważa się, że związki zawarte w badanym ekstrakcie mogą mieć znaczącą wartość farmakologiczną. W środowisku naturalnym, szczególnie w czasie zakwitów w zbiornikach wodnych *Pseudoanabaena* mogą mieć wpływ na ogólny skład flory bakteryjnej (34).

W roku 2004 zespół Noamana wykazał, że *Synechococcus leopoliensis* również wytwarza związki działające bakteriobójczo na gramdodatnie bakterie z rodzaju *Staphylococcus*. Na podstawie przeprowadzonych badań wyznaczono optymalne warunki hodowli *Synechococcus*, w których obserwowano intensywny ich wzrost i maksymalne gromadzenie w komórkach metabolitów wykazujących aktywność przeciwbakteryjną (35).

Aktywnością skierowaną przeciwko bakteriom: *Staphylococcus epidermidis*, *B. cereus* i *E. coli* charakteryzuje się zewnątrzkomórkowy diterpenoid-noscomin wytwarzany przez *Nostoc commune*. Efektywność tego diterpenoidu jest porównywalna ze skutecznością działania takich antybiotyków jak chloramfenikol i tetracyklina (36).

Mircocystis aeuroginosa – cyjanobakteria znana ze zdolności do produkowania toksycznej hepatotoksyny, wytwarza również cykliczne peptydy przeciwbakteryjne, do których należy kawaguchipeptyna (37) oraz mikrowirydyna (15).

Przeciwbakteryjne oddziaływanie stwierdzono także w przypadku: bastadyny izolowanej z *Anabaena basta*, mikrosporyny z *Nostoc commune*, muskorydu z *Nostoc muscorum* czy nostocyny A z *Nostoc spongiaeforme* (15), a także nostocykliny A wydzielanej jako główny metabolit w czasie zakwitów *Nostoc* sp. TAU szczep IL-220 (38). Prowadzone są także badania nad efektywnością zewnątrzkomórkowych polisacharydów *Cyanothece* spp. i *Cyanospira capsulata* jako czynników przeciwadhezyjnych, które blokują wiązanie *Helicobacter pylori* do komórek ludzkich (39). Aktywność przeciwbakteryjna ekstraktów uzyskanych z komórek cyjanobakterii polega przede wszystkim na destabilizacji bakteryjnych ścian komórkowych, które stanowią naturalne bariery ochronne.

3.1.3. Związki przeciwnowotworowe

Związki o właściwościach przeciwnowotworowych są cytotoksynami, które indukują w komórkach apoptozę, czyli programowaną śmierć komórki. Jest to proces uporządkowany prowadzący do eliminacji komórek bez aktywacji procesu zapalnego i uszkodzenia sąsiadujących tkanek. Podczas apoptozy dochodzi do kurczenia się komórek, zagęszczenia chromatyny, a w efekcie do fragmentacji DNA i powstania ciałek apoptotycznych. W procesie tym uczestniczą enzymy z rodziny ICE (ang. *interleukin-1-beta-converting enzyme*) nazywane też kaspazami. Apoptoza jest procesem naturalnym, dzięki niej mogą być usuwane komórki potencjalnie niebezpieczne dla organizmu jak np. zakażone wirusami, mające uszkodzone DNA lub komórki nowotworowe (40).

W ostatniej dekadzie, w trakcie badań komórek *Cyanobacteria* pod kątem nowych produktów bioaktywnych, wykryto wiele substancji mających właściwości chemioterapeutyków przeciwnowotworowych. Jedną z nich jest apratoksyna A – opisywana jako jeden ze związków o najsilniejszej aktywności cytotoksycznej wśród substancji wytwarzanych przez organizmy żywe. Apratoksyna A została wyizolowana z morskiej cyjanobakterii *Lyngbya majuscula* i wykazuje właściwości przeciwnowotworowe zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* (41).

Ishida wraz z zespołem badaczy (2000) wyizolowali po raz pierwszy z hodowli *Microcystis aeuroginosa* (NIES – 298) cytotoksyczny, cykliczny heksapeptyd – mikrocyklamid o aktywności skierowanej przeciwko mysim komórkom białaczkowym

P388. Podobne właściwości opisano również dla nostocyklamidu, dendroamidów A-C, raocyklamidów A i B oraz tenuocyklamidów A-D, które pozyskiwano z cyjanobakterii należących do rzędów *Nostocales* i *Stigonematales* (37).

Aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek typu KB mają cykliczne depsipeptydy o nazwach – obyamid i ulongapeptyna otrzymane z morskich cyjanobakterii *Lyngbya confervoides* i *Lyngbya* sp. (42,43). Związki takie jak: calothrixin izolowany z *Calothrix* sp. (wykazujący także aktywność przeciwmalaryczną), didemnin z *Synechocystis trididemni*, antyllatoksyna z *Lyngbya majuscula*, cylindrocyclofan z *Cylindrospermum lincheiforme*, hapalozyny z *Hapalosiphon welwitschii* czy kryptoficyny z *Nostoc* sp. są również zdolne do hamowania procesów kancerogenezy. Te ostatnie, określane jako makrolidy antymitotyczne wykazują efekt cytotoksyczny w stosunku do ludzkich komórek nowotworowych, zarówno tych wrażliwych jak i opornych na dostępne środki farmakologiczne (16). Mechanizm ich działania polega na destabilizacji układu mikrotubulinowego oraz indukcji fosforylacji onkoproteiny Bc1-2, co prowadzi do indukcji kaspaz i następnie do wywołania odpowiedzi apoptotycznej (20,44). Jakkolwiek wysoka toksyczność kryptoficyn wyklucza zastosowanie tych związków jako potencjalnych leków, to ich nowe pochodne uważane są za cenne środki farmakologiczne w walce z nowotworami i grzybicami (15,16) Niektóre kryptoficyny jak – kryptoficyna 52 znajdują się we wczesnych fazach testów klinicznych (20,44).

3.1.4. Związki o aktywności przeciwgrzybowej – fungicydy

Fungicydy działają poprzez specyficzne zahamowanie procesów życiowych grzybów. Nowoczesne fungicydy odznaczają się dużą selektywnością – oddziałują na jeden etap w procesach życiowych wybranych gatunków grzybów. Selekcja odpornych na dany związek chemiczny lub grupę związków mutantów, wymusza konieczność stosowania preparatów wieloskładnikowych lub poszukiwania nowych związków aktywnych, hamujących rozwój tych mikroorganizmów.

Aktywność przeciwgrzybowa cyjanobakterii została zauważona już w 1962 r. przez zespół badawczy kierowany przez Welcha (45), w kolejnych latach potwierdzano jej istnienie. W 1995 r. przedstawiono wyniki badań 54 ekstraktów, uzyskanych z komórek cyjanobakterii. Wykazano, że 45% z nich wykazuje aktywność przeciwgrzybową (32). W 1999 r. Issa z zespołem, badając planktoniczne, nitkowate cyjanobakterie *Oscillatoria angustissima* i *Oscillatoria parientina*, zauważył, że metabolity wtórne tych mikroorganizmów hamują wzrost grzybów: *Aspergillus terreus*, *Penicillium variable*, *Microsporium canis*, *Chrysosporium tropicum* i *Trichophyton rubrum* (45). Charakter przeciwgrzybowy wykazuje również fischerellina – lipopeptyd wytwarzany przez *Fischerella muscicola* oraz takie związki jak: majuskulamidy A-D i tanikolid produkowane przez *Lyngbya majuscula* (15). Kryptoficyny izolowane z *Nostoc* sp. poza zdolnością do hamowania procesów kancerogenezy wykazują również zastosowanie w zwalczaniu grzybów (16).

3.1.5. Związki biologicznie czynne hamujące rozwój cyjanobakterii i glonów – algicydy

Naturalnym algicydem izolowanym ze słodkowodnej cyjanobakterii *Scytonema hofmannii* jest cyjanobakteryna. Związek ten hamuje wzrost glonów, a także innych cyjanobakterii. Hamowanie wzrostu *Euglena gracilis* polega na przerywaniu ciągłości błon tylakoidów w chloroplastach tych organizmów (46). Ze względu na ograniczoną aktywność przeciwko nefotosyntetyzującym bakteriom i protozoa, cyjanobakteryna może być stosowana jako specyficzny algicyd (47). Zdolność do hamowania przez cyjanobakterie wzrostu innych gatunków cyjanobakterii i glonów okazała się bardzo użyteczna dla gospodarki morskiej. Jednym z większych problemów przemysłu stoczniowego jest tzw. „biofouling” czyli porastanie powierzchni materiałów zanurzonych w wodzie przez mikroorganizmy. Przez wiele lat usiłowano walczyć z tym zjawiskiem przy użyciu różnych metod fizykochemicznych, biologiczno-chemicznych czy fizykomechanicznych. Rozwiązaniem problemu miały być farby zawierające TBT (tri-n-butyl), który bardzo skutecznie hamował procesy porastania. Masowe stosowanie farb zawierających TBT wywołało znaczny wzrost skażenia wód i w efekcie w ostatnich latach wprowadzono zakaz stosowania preparatów opartych na tym związku. Dalsze próby rozwiązania tego problemu skłoniły badaczy do poszukiwania naturalnych związków hamujących rozwój organizmów porastających. Aburzua wraz z zespołem (1999) badali aktywność ekstraktów *Scytonema hofmannii* i *Calothrix brevissima* wobec okrzemek *Nitzschia pusilla* – głównemu sprawcy „biofoulingu”. Zaobserwowano silne zahamowanie wzrostu okrzemek po zastosowaniu ekstraktu z *S. hofmannii*, przy czym efekt hamowania zależał od stężenia ekstraktu komórkowego. Nie wykryto natomiast tych właściwości w ekstraktach z komórek *C. brevissima*. Na podstawie otrzymanych wyników z tych badań potwierdzono, że związki pozyskiwane z niektórych cyjanobakterii mogą stanowić skuteczne algicydy (48).

3.2. Wtórne metabolity wytwarzane przez *Cyanobacteria* potencjalnie toksyczne dla człowieka i zwierząt

Postępujący rozwój wielu dziedzin światowej gospodarki, zmiany klimatyczne oraz wzrost zanieczyszczenia środowiska spowodowały zaburzenie równowagi w wielu ekosystemach. Coraz częściej obserwuje się niekontrolowane zakwity toksycznych cyjanobakterii należących m.in. do rodzajów: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Cylindrospermum*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc* i *Oscillatoria* (18,49). Zakwity tworzą się, gdy zaistnieją następujące warunki: bezwietrzna pogoda lub łagodne wiatry, temperatura wody od 15 do 30°C, pH wody w granicach 6-9 oraz wysoka zawartość substancji odżywczych w postaci azotanów i fosforanów. W takich warunkach dochodzi do szybkiego rozmnażania się i rozwoju cyjanobakterii

oraz intensywnej produkcji metabolitów wtórnych. Obecnie toksyczne zakwity cyjanobakterii w wodach słonych i słodkich stanowią poważny problem również w Polsce. Związane jest to z coraz większą eutrofizacją zbiorników wodnych i bardziej intensywnym stosowaniem detergentów oraz nawozów sztucznych, które powodują modyfikację składu chemicznego wód.

Pierwszy raport dotyczący zachorowania człowieka na skutek spożycia wody zawierającej cyjanobakterie przedstawiony został w Londynie w 1844 r. przez Farre (49). Badacz australijski, Francis opublikował w 1978 r. w „Nature” pierwszy naukowy opis toksycznego w stosunku do zwierząt działania związków produkowanych przez cyjanobakterie (50). *Cyanobacteria* wytwarzają kilka rodzajów toksyn, które ze względu na właściwości biologiczne i stosowane do ich oznaczania testy toksyczności dzieli się na dwie klasy: biotoksyny i cytotoksyny. W pierwszej klasie wyróżnia się: hepatotoksyny i neurotoksyny (16).

3.2.1. Związki hepatotoksyczne

Większość wytwarzanych przez *Cyanobacteria* toksyn to hepatotoksyczne, cykliczne peptydy: mikrocytyny (heptapeptydy) i nodularyny (pentapeptydy), które przyspieszają rozwój guzów nowotworowych (49-51). Peptydy te wytwarzane są na drodze ATP-zależnej, pozarybosomalnej syntezy białek (NRPS, ang. *Nonribosomal Peptide Synthesis*). Najlepiej poznaną hepatotoksyną jest mikrocytyna (52), cykliczny peptyd zbudowany z siedmiu aminokwasów. W pozycji pierwszej cząsteczka ta zawsze zawiera D-aminokwas (najczęściej alaninę, ale także: kwas asparaginowy, leucynę lub serynę), drugim aminokwasem może być alanina, arginina, kwas glutaminowy, leucyna, fenyloalanina, tyrozyna lub walina. W pozycji trzeciej występuje kwas asparaginowy, natomiast w czwartej: alanina, arginina, kwas glutaminowy, leucyna, metionina, fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan lub walina. Piątą pozycję zajmuje kwas 3-amino-9-metoksy-2,6,8-trimetylo-10-fenylodeka-4,6-dienowy (Adda) lub jego pochodne. To właśnie ten związek odpowiedzialny jest za toksyczność mikrocytyny (53). Szósty aminokwas to kwas D-glutaminowy bądź jego estry, natomiast siódmy aminokwas to najczęściej metylodehydroalanina, a niekiedy dehydroalanina, metyloseryna, metyloleucyna lub dehydrobutyryna (16,52). Ta różnorodność składu warunkuje dużą zmienność mikrocytyny. Do 2002 r. opisano budowę ok. 70 wariantów tego peptydu izolowanych z sinic należących do gatunków: *Anabaena*, *Hapalasisiphon*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc* i *Oscillatoria* (16,51,54).

Hepatotoksyny są inhibitorami fosfatyz proteinowych PP1 i PP2A zarówno zwierzęcych jak i roślinnych (55). Po spożyciu toksycznych cyjanobakterii przez zwierzęta lub ludzi, mikrocytyny uwalniane są wskutek lizy komórek cyjanobakterii w przewodzie pokarmowym i przenikają do krwi w jelicie krętym. Następnie są przenoszone do hepatocytów, gdzie hamują aktywność fosfatyz proteinowych. Proces ten prowadzi do zaburzenia równowagi procesów fosforylacji i defosforylacji

w komórce. Nadmierna fosforylacja filamentów pośrednich i mikrofilamentów prowadzi do zmian w strukturach cytoszkieletu hepatocytów. Hepatocyty tracą swój kształt, kurczą się, ulegają dezintegracji, struktura wewnętrzna wątroby zostaje zniszczona. Prowadzi to do krwotoków wewnątrzwątrobowych, niewydolności wątroby i w konsekwencji do śmierci organizmu (50). Cyjanotoksyny odpowiedzialne są m.in. za masowe zatrucia zwierząt dzikich i domowych, wymieranie fok w Morzu Bałtyckim, wyginięcie migrujących kaczek i gęsi w środkowozachodnich Stanach USA oraz za zatrucia ludzi (50). Obecność mikrocyzyn w wodzie stosowanej do dializ w Klinice w Curaru w Brazylii w 1996 r. spowodowała śmierć 52 spośród 131 dializowanych pacjentów (56). Chroniczne, niewielkie dawki mikrocyzyny są kancerogenne dla komórek wątroby (50,51,53).

Roślinne fosfatazy proteinowe są zaangażowane w proces fotosyntezy, aktywację enzymów biorących udział w wiązaniu CO₂, a także w regulację ekspresji genów kodujących enzymy odpowiadające za biosyntezę skrobi. Ekspozycja roślin na działanie mikrocyzyn powoduje zmniejszenie wzrostu korzeni, spadek zawartości chlorofilu oraz miejscowe nekrozy. Ponadto, w tkankach roślin może dochodzić do akumulacji mikrocyzyn, co stanowi potencjalne zagrożenie dla ludzi i zwierząt je spożywających (55). LD₅₀ dla mikrocyzyny wynosi od 50 do 1000 µg/kg masy ciała (57).

3.2.2. Związki neurotoksyczne

Cyjanobakterie należące do rodzajów: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* i *Trichodesmium* wytwarzają związki neurotoksyczne. Należące do biotoksyn neurotoksyny takie jak: anatoksyna-a (I), anatoksyna-a(s) (III), wytwarzane wyłącznie przez *Cyanobacteria* oraz saksitoksyna III i neosaksitoksyna (wytwarzane także przez glony), wpływają negatywnie na funkcje ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego zwierząt i ludzi (16,50).

Budowa chemiczna anatoksyny-a została określona po raz pierwszy w 1972 r. przez Huberta i Edwardsa. Anatoksyna-a wytwarzana jest przez cyjanobakterie z rodzaju *Anabaena* i *Oscillatoria*. Toksyna ta jest alkaloidem o silnym działaniu neurotoksycznym, o strukturze podobnej do neurotransmitera – acetylocholiny. Acetylocholina uwalniana jest przez synapsę neuronu unerwiającego komórki mięśniowe w celu wywołania skurczu. Wiąże się z receptorami zawierającymi zarówno miejsce wiązania neurotransmitera jak i kanał jonowy w błonie komórkowej. Po przyłączeniu się acetylocholiny kanał zostaje otwarty wyzwalając przepływ jonów, co powoduje skurcz komórek mięśniowych. Wkrótce potem kanał zamyka się, a receptory przygotowują się do odpowiedzi na nowe sygnały. W tym czasie acetylocholina zostaje rozłożona przez esterazę acetylocholinową, co chroni komórki mięśniowe przed nadmiernym pobudzeniem. Analogiczne do acetylocholiny działanie ma anatoksyna-a. W komórkach eukariotycznych nie istnieje jednak żaden enzym zdolny do jej rozkładu. Toksyna ta nie jest degradowana i akumuluje się w organizmie, nie-

ustannie pobudzając mięśnie, wywołując ich skurcze i drżenie prowadzące do znużenia, a następnie paraliżu. Oddziaływanie anatoksyny na mięśnie oddechowe może prowadzić do śmierci organizmu w wyniku uduszenia. LD₅₀ w przypadku neurotoksyn wytwarzanych przez *Cyanobacteria* wynosi od 10 do 200 µg/kg masy ciała (57). Anatoksyna-a jest cennym narzędziem w badaniach nad mechanizmem działania acetylocholin, bada się także możliwości zastosowania jej zmodyfikowanej formy w spowalnianiu procesu upośledzenia umysłowego w chorobie Alzheimerera. Podjęto także próby zastosowania zmodyfikowanej, nietoksycznej pochodnej anatoksyny-a w leczeniu miastonii (50).

Anatoksyna-a(s) (s – ang. *salivation* – ślinienie: zaobserwowane u myszy laboratoryjnych, którym wstrzykiwano tę postać anatoksyny) jest fosforanem organicznym wywołującym podobne objawy jak anatoksyna-a (15). Anatoksyna-a(s), druga z neurotoksyn wytwarzanych wyłącznie przez cyjanobakterie, izolowana jest z *Anabaena circinalis* i *Aphanizomenon flos-aquae*. Jej toksyczność związana jest z hamowaniem aktywności esterazy acetylocholinowej, co prowadzi do akumulacji acetylocholin. Nagromadzenie tego neuroprzekaźnika powoduje nadmierne pobudzanie komórek mięśniowych i objawy podobne do wywoływanych przez anatoksynę-a. Ten naturalny fosforan organiczny wykazuje działanie analogiczne do insektycydów syntetycznych, dlatego też stanowi przedmiot zainteresowania badaczy pracujących nad nową generacją środków owadobójczych. W odróżnieniu od większości insektycydów anatoksyna-a(s) jest rozpuszczalna w wodzie. Jest bezpieczniejsza niż stosowane dotychczas insektycydy, gdyż nie gromadzi się w błonach komórkowych i innych bogatych w lipidy strukturach komórkowych, dodatkowym jej atutem jest szybka biodegradacja w środowisku naturalnym (50).

Neurotoksynami wytwarzanymi zarówno przez cyjanobakterie jak i glony morskie z rodzaju *Dinoflagellata* są saksitoksyna i neosaksitoksyna. Ich działanie polega na blokowaniu kanałów sodowo-potasowych, co uniemożliwia przewodzenie impulsów nerwowych i wydzielanie acetylocholin przez neurony. W efekcie nie dochodzi do pobudzenia komórek mięśniowych i następuje najpierw porażenie, a następnie paraliż mięśni. Neurotoksyny te są wytwarzane przez cyjanobakterie należące do rodzaju *Aphanizomenon* oraz gatunku *Anabaena circinalis* (50).

Do innych toksyn wytwarzanych przez cyjanobakterie należą: cylindrospermopsyna (hepatotoksyczny alkaloid pozyskiwany z *Cylindrospermopsis raciborskii*) (51), lyngbyatoksyna A (IV) (wytwarzana przez *Lyngbya majuscula*), która wywołuje ciężkie zapalenie przełyku i przewodu pokarmowego oraz stanowi aktywator białkowej kinazy C, spumigina A (IV) (izolowana z *Nodularia spumigena*) wykazująca właściwości hamujące w stosunku do trombiny, plazminy i trypsyny, a także hapalozyna (pozy-skiwana z *Hapalosiphon welwitschii*) (16) (tab.).

4. Podsumowanie

Cyanobacteria stanowią cenne źródło substancji biologicznie czynnych posiadających m.in. właściwości związków przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych, przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybowych, przeciwmalarycznych i algicydów (tab.). Związki te mogą znaleźć szerokie zastosowanie w medycynie, farmacji, biotechnologii, a także w różnych gałęziach przemysłu kosmetycznego, spożywczego, tekstylnego i morskiego. Z tego względu mikroorganizmy te wzbudzają duże zainteresowanie i stanowią przedmiot wielu badań. Nasza grupa badawcza jako partner w projekcie MERGE w ramach Międzynarodowego Roku Polarnego 2007-2008 prowadzi poszukiwania cyjanobakterii arktycznych, które produkują związki aktywne biologicznie. W ramach realizacji projektu PBZ-KBN-112/PO6/2005 prowadzimy również badania cyjanobakterii pochodzących z międzynarodowych kolekcji referencyjnych, a także cyjanobakterii izolowanych z różnych biotopów Polski pod kątem ich zdolności do wytwarzania związków aktywnych biologicznie.

Praca finansowana z projektu PBZ-KBN-112/PO6/2005 oraz MNiSW 1682/P01/2007/32.

Literatura

1. Castehol R. W., Waterbury J. B., (1989), in: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Eds. Stanley J.T., Bryant M. P., Pfenning N., William & Wilkins, Baltimore, USA, 3, 1710-1800.
2. Lechowski Z., Białczyk J., (2001), *Wiad. Bot.*, 45, 35-51.
3. Whitton B. A., Potts M., (2000), in: *The Ecology of Cyanobacteria*, Eds. Whitton B. A., Potts M., Kluwer AP, Holandia, 1-11.
4. Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (1999), *Microbiology*, Wm. C. Brown Publishers, USA, 468, 472-476.
5. Stal L. J., (2000), in: *The Ecology of Cyanobacteria*, Eds. Whitton B. A., Potts M., Kluwer AP, Holandia, 61-120.
6. Zehr J. P., Waterbury J. B., Turner P. J., Montoya J. P., Omoregie E., Steward G. F., Hansen A., Kari D. M., (2001), *Nature*, 412, 635-638.
7. El-Enany A. E., Issa A. A., (2000), *ETAP*, 8, 95-101.
8. Mohamed Z. A., (2001), *Water Res.*, 35, 4405-4409.
9. Bender J., Phillips P., (2004), *Bioresour. Technol.*, 94, 229-238.
10. Abed R. M. M., Köster J., (2005), *Int. Biodeterioration & Biodegradation*, 55, 29-37.
11. Belay A., (2002), *The Journal of Am. Nutraceutical Association* 5, 27-49.
12. Blinkowa L. P., Gorobets O. B., Baturo A. P., (2001), *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 2, 114-118.
13. www.spirulina.com/SPBNutrition.html
14. Piechula S., Waleron K., Świątek W., Biedrzycka I., Podhajska A., (2001), *FEMS Microbiol. Lett.*, 198, 135-140.
15. Burja A. M., Banaigs B., Abou-Mansour E., Burgess J. G., Wright P. C., (2001), *Tetrahedron*, 57, 9347-9377.
16. Łukomska J., Kasprzykowski F., Łankiewicz L., Grzonka Z., (2000), *Wiad. Chem.*, 56, 57.
17. Codd G. A., (1995), *Water Science Technology*, 32, 149-156.
18. Kreitlow S., Mundt S., Liduguist U., (1999), *J. Biotech.*, 70, 61-63.
19. Moon S. S., Chen J. L., Moore R. E., Patterson G. M. L., (1992), *J. Org. Chem.*, 57, 1097-1103.

20. Eggen M., Georg G. I., (2002), *Med. Res. Rev.*, 22, 85-101.
21. Pratzner B., (1996), *Wiedza i Życie*, 10.
22. www.acidsmeds.com/List.htm
23. www.biotechnologia.com.pl
24. Lau A. F., Siedlecki J., Anleitner J., Patterson G. M., Caplan F. R., Moore R. E., (1993), *Planta Med.*, 59, 148-151.
25. Bokesch H. R., O'Keefe B. R., McKee T. C., Pannell L. K., Patterson G. M. L., Gardella R. S., Sowder R. C., Turpin J., Watson K., Buckheit R. W. Jr., Boyd M. R., (2003), *Biochemistry*, 42, 2578-2584.
26. Tziveleka L. A., Vagias C., Roussis V., (2003), *Curr. Top. Med. Chem.*, 3, 1512-1535.
27. Hernández-Corona A., Nieves I., Meckes M., Chamorro G., Barron B. R., (2002), *Antiviral Research*, 56, 279-285.
28. Hayashi K., Hayashi T., Kojima I., (1996), *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 12, 1463-1471.
29. Hayashi K., Hayashi T., Maeda M., Kojima I., (1996), *J. Nat. Prod.*, 59, 83-87.
30. Kanekiyo K., Lee J. B., Hayashi K., Takenaka H., Hayakawa Y., Endo S., Hayashi T., (2005), *J. Nat. Prod.*, 68, 1037-1041.
31. Zainuddin E. N., Mundt S., Wegner U., Mentel R., (2002), *Med. Microbiol. Immunol.*, 191, 181-182.
32. Falch B. S., König G. M., Wright A. D., Sticher O., Angerhofer C. K., Pezzuto J. M., Bachmann H., (1995), *Planta Med.*, 61, 321-328.
33. Østewnik Ø., Skulberg O. M., Underdal B., Hormazabal V., (1998), *J. Appl. Microbiol.*, 84, 1117-1124.
34. Oufdou K., Mezrioui N., Oudra B., Loudiki M., Barakate M., Sbiyyaa B., (2001), *Microbios.*, 106, 21-29.
35. Noaman N. H., Fattah A., Khaleafa M., Zaky S. H., (2004), *Microbiol. Res.*, 159, 395-402.
36. Jaki B., Orjala J., Sticher O., (1999), *J. Nat. Prod.*, 62, 502-503.
37. Ishida K., Nakagawa H., Murakami M., (2000), *J. Nat. Prod.*, 63, 1315-1317.
38. Ploutno A., Carmeli S., (2000), *J. Nat. Prod.*, 63, 1524-1526.
39. Ascencio F., Gama N. L., de Philippis R., Ho B., (2004), *Folia Microbiol.*, 49, 64-70.
40. Baś M., Cywińska A., Sokołowska J., Krzyżowska M., (2004), *Życie Weterynaryjne*, 79, 671-675.
41. Luesch H., Yoshida W. Y., Moore R. E., Paul V. J., Corbett T. H., (2001), *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 5418-5423.
42. Williams P. G., Wesley Y. Y., Moore R. E., Paul V. J., (2002), *J. Nat. Prod.*, 65, 29-31.
43. Williams P. G., Yoshida W. Y., Quon M. K., Moore R. E., Paul V. J., (2003), *J. Nat. Prod.*, 66, 651-654.
44. Shih C., Teicher B. A., (2001), *Curr. Pharm. Des.*, 7, 1259-1276.
45. Issa A. A., (1999), *ETAP*, 8, 33-37.
46. Gleason F. K., (1990), *FEMS Microbiol. Lett.*, 68, 77-82.
47. Mason C. P., Edwards K. R., Carlson R. E., Pignatello J., Gleason F. K., Wood J. M., (1982), *Science*, 215, 400-402.
48. Aburzua S., Jakubowski S., Eckert S., Fuchs P., (1999), *Botanica Marina*, 42, 459-465.
49. Hunter P. R., (1998), *J. Appl. Microbiol.*, 84, 35-40.
50. Carmichael W. W., (1994), *Świat Nauki*, 3, 32-39.
51. Neilan B. A., Dittmann E., Rouhiainen L., Bass R. A., Schaub V., Sivonen K., Börner T., (1999), *J. Bacteriol.*, 181, 4089-4097.
52. Figueiredo D. R., Azeiteiro U. M., Esteves S. M., Goncalves F. J. M., Pereira M. J., (2004), *ELSEVIER*, 59, 151-163.
53. Dawson R. M., (1998), *Toxicon*, 36, 953-962.
54. Mikalsen B., Boison G., Skulberg O. M., Fastner J., Davies W., Gabrielsen T. M., Rudi K., Jakobsen K. S., (2003), *J. Bacteriol.*, 185, 2774-2785.
55. McElhiney J., Lawton L. A., Leifert C., (2001), *Toxicon*, 39, 1411-1420.
56. Azavedo S. M., Carmichael W. W., Jochimsen E. M., Rinehart K. L., Lau S., Shaw G. R., Eaglesham G. K., (2002), *Toxicology*, 181-182, 441-446.
57. Dow C. S., Swoboda U. K., (2000), in: *The Ecology of Cyanobacteria*, Eds. Whitton B. A., Potts M., Kluwer AP, Holandia, 613-632.