

Zofia Walter

BUDOWA TOKSYN CYJANOBAKTERII

W pracy została przedstawiona struktura neurotoksyn i hepatotoksyn – toksyn produkowanych przez cyjanobakterie. Ponadto omówiono przypuszczalny mechanizm ich działania.

WSTĘP

Pomimo, że produkowanie toksyn przez cyjanobakterie zwane dawniej sinicami jest znane od bardzo dawna (pierwsze opisane zjawisko zatrucia przez toksyny sinicowe pochodzi z roku 1878), fakt ten budzi ostatnio coraz większe zainteresowanie badaczy. Toksyny cyjanobakterii stanowią znaczne zagrożenie zatrucia wody w czasie intensywnego porastania przez nie zbiorników wodnych, zarówno pewnych odcinków rzek i jezior [2, 11], jak i zbiorników zaporowych stanowiących źródła wody pitnej [33].

Degradacja cykli biogeochemicznych i hydrologicznych w wyniku działalności człowieka jest jednym z podstawowych zagrożeń dla biosfery, a przede wszystkim dla jakości zasobów wodnych [43]. Jednym z największych problemów jest nasilenie zanieczyszczeń obszarowych oraz zjawiska tzw. wtórnego zanieczyszczenia zbiorników wodnych na skutek eutrofizacji wód. Najgroźniejszym efektem eutrofizacji jest właśnie występowanie toksycznych zakwitów sinicowych [28, 43]. Miarą wagi tego problemu jest uznanie powyższego zagadnienia za priorytetowe w międzynarodowym programie hydrologicznym (UNESCO IHP 1996-2001 r.) „Ecohydrology” [43]. Program ten ma na celu konsolidację prac zespołów z różnych ośrodków naukowych i zapewnienia kompleksowego i interdyscyplinarnego charakteru badań.

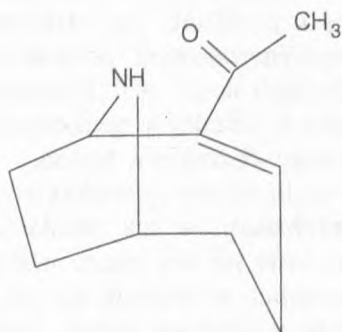
W ostatnich latach została zbadana struktura wielu toksyn cyjanobakterii, co niewątpliwie przyczyni się do poznania mechanizmów ich działania i poszerzenia wiedzy na ten temat. Pomimo to dane na ten temat nadal wydają się fragmentaryczne i niedostateczne, szczególnie ze względu na fakt, że obok ostrej toksyczności, przyjmowanie bardzo niewielkich dawek tych

toksyn może wykazywać działanie genotoksyczne, a także być czynnikiem rakotwórczym. Właśnie ten proces, związany z toksycznością przewleklą, jest w małym stopniu poznany.

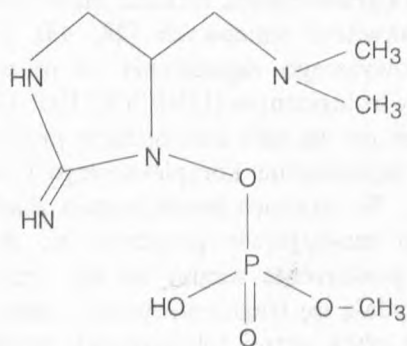
NEUROTOKSYNY

Jako pierwsza zbadana pod względem chemicznym została toksyna z *Anabaena flos-aquae* – anatoksyna *a*. Jest to alkaloid o silnym działaniu biologicznym, szczególnie na komórki układu nerwowego. Poznanie jej struktury dało początek poznaniu całego szeregu związków produkowanych przez cyjanobakterie, wydzielonych jako grupa neurotoksyn [11, 12, 18].

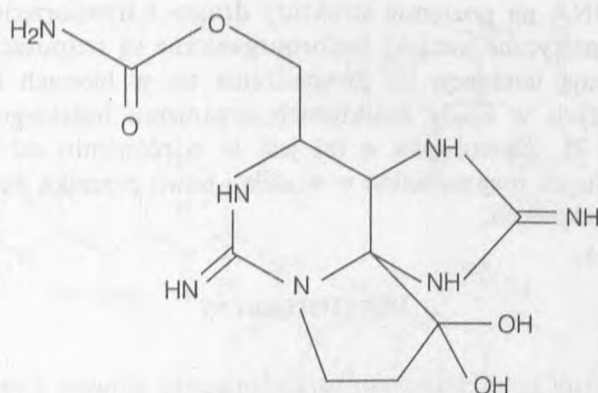
Neurotoksyne to alkaloidy oddziałujące na układ nerwowy, należące do jednych z najbardziej toksycznych substancji produkowanych przez sinice. Powodują śmierć w ciągu kilku sekund do kilku minut poprzez porażenie układu oddechowego. Neurotoksyne są wytwarzane głównie przez trzy rodzaje sinic: *Anabaena*, *Aphanizomenon* oraz *Oscillatoria* [29]. Dotychczas została poznana szczegółowa budowa czterech neurotoksyn: anatoksyny *a*, anatoksyny *a* (s), saksitoksyny oraz neosaksitoksyny. Te dwie ostatnie produkowane są nie tylko przez cyjanobakterie, ale również przez niektóre bruzdnice morskie (*Dinoflagellata*). Struktura wymienionych toksyn została przedstawiona na rys. 1-4. Budowa anatoksyny *a* wykazuje strukturę podobną do acetylocholiny. Związek reaguje z receptorami acetylocholinowymi, a szczególnie z receptorami nikotynowymi acetylocholiny. Jest całkowicie oporny na działanie esterazy acetylocholinowej i pozostaje w organizmie, powodując nieustanne pobudzenie mięśni, prowadzące do paraliżu i nieuchronnej śmierci. Podobne działanie wykazuje anatoksyna *a* (s). Również saksitoksyna i neosaksitoksyna przerywają połączenia pomiędzy neuronami



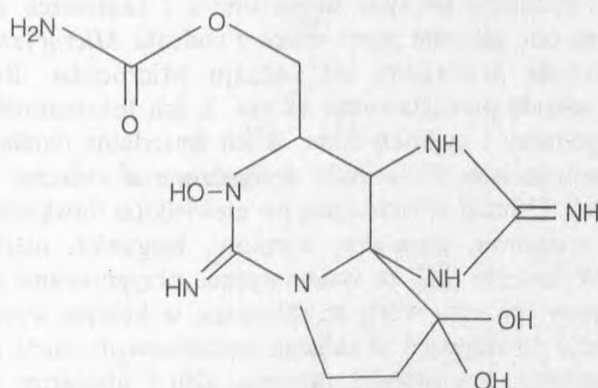
Rys. 1. Struktura anatoksyny-*a*



Rys. 2. Struktura anatoksyny-*a* (s)



Rys. 3. Struktura saksitoksynu



Rys. 4. Struktura neosaksitoksynu

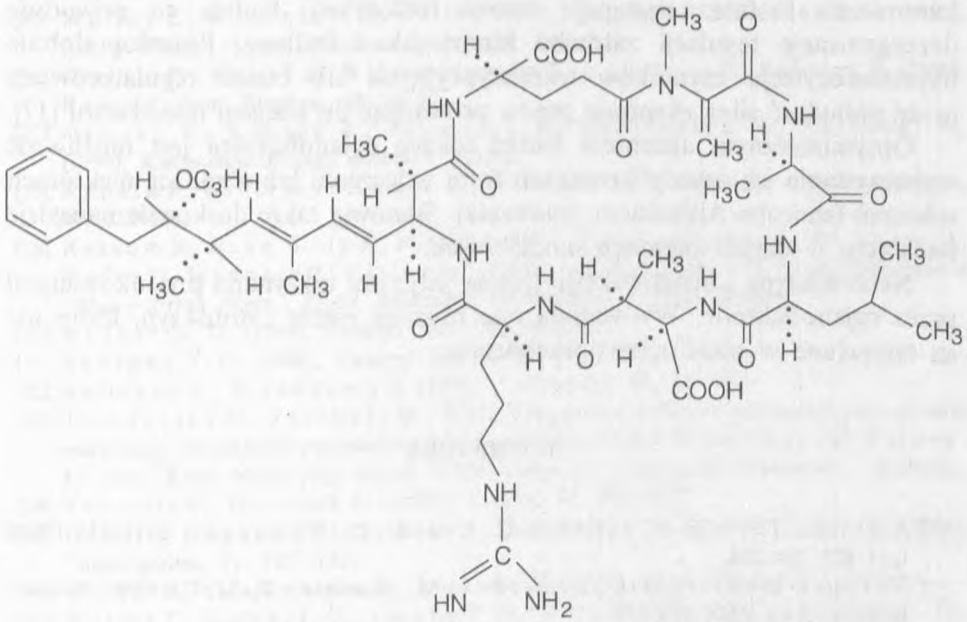
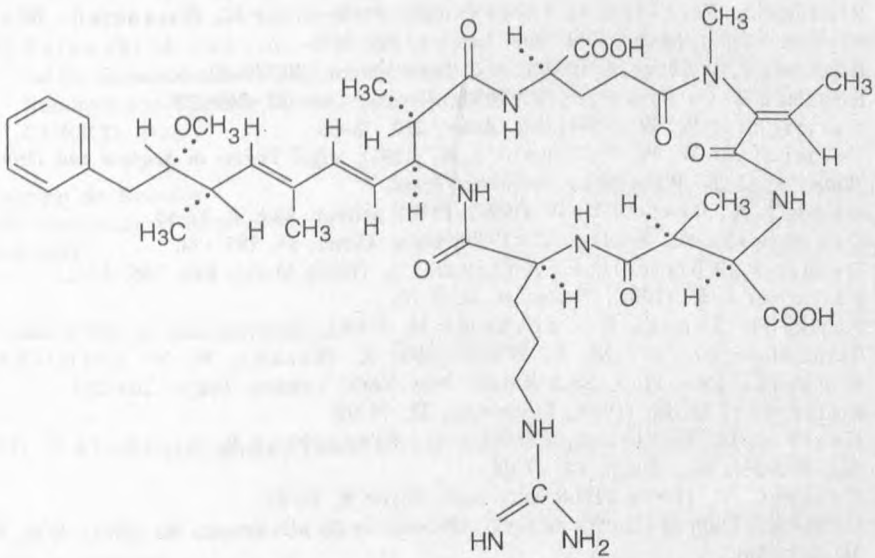
i mięśniami, ale mechanizm ich działania jest inny. Blokują uwalnianie acetylocholiny przez neurony, w wyniku zahamowania wpływu jonów sodu przez kanały błonowe. [1, 25, 32].

Anatoksyna *a* (*s*) jest naturalnym fosforanem organicznym o budowie podobnej do syntetycznych środków owadobójczych, takich jak np.: paration, dichlorfos i malation, czy też gazów bojowych – somanu i sarinu. Jest to obok występującego w *Streptomyces antibioticus* DSM, drugi jak dotąd wykryty naturalny związek fosforoorganiczny. Badania przeprowadzone w wielu ośrodkach [2, 10, 15, 19, 24, 30, 31, 40] jak i badania prowadzone od wielu lat w Katedrze Genetyki Molekularnej UŁ, wykazały mutagenny i genotoksyczny wpływ insektycydów fosforoorganicznych. Powodują one aberracje chromosomowe, mutacje, są czynnikami teratogennymi, a także kancerogennymi [14, 22, 36]. Powodują zaburzenia w przekazywaniu informacji

genetycznej podczas procesu transkrypcji [38] metylację zasad azotowych i degradację DNA na poziomie struktury drugo- i trzeciorzędowej [4–8, 26, 37, 39, 41]. Syntetyczne związki fosforoorganiczne są rozpuszczalne w tłuszczach i wykazują tendencję do gromadzenia się w błonach komórkowych i innych bogatych w lipidy strukturach organizmu ludzkiego oraz innych kręgowców [3–9]. Anatoksyna *a* (s) jest w odróżnieniu od insektycydów fosforoorganicznych rozpuszczalna w wodzie i łatwo przenika do uwodnionych struktur komórkowych.

HEPATOTOKSYNY

Hepatotoksyny są substancjami uszkadzającymi głównie komórki wątroby. Najczęściej występującymi hepatotoksynami cyjanobakterii są mikrocystyny. Poznane jest około 60 różnych mikrocystyn [11]. Charakteryzuje je podobna budowa. Są to cykliczne peptydy utworzone z 7 cząsteczek aminokwasów. Produkowane są one głównie przez sinice z rodzaju *Microcystis* i *Anabaena*. Nazwa ich została utworzona od rodzaju *Microcystis*. Budowa jednej z mikrocystyn została przedstawiona na rys. 5. Ich toksyczność jest znacznie wyższa niż strychniny i cyjanku sodu, a ich śmiertelne działanie w wyniku uszkodzeń komórek wątroby zostało stwierdzone u zwierząt (bydło, ptaki, zwierzęta dzikie). U ludzi stwierdzono po niewielkich dawkach takie objawy jak: wysypka naskórna, gorączka, wymioty, biegunka, ostre uszkodzenie wątroby [29]. Wykazano [16], że systematyczne przyjmowanie małych dawek hepatotoksyn przy spożyciu wody ze zbiornika, w którym występują zakwity sinicowe prowadzi do zaburzeń w układzie pokarmowym, może zapoczątkować nowotwory wątroby, krwawienie, nekrozę, [29] i apoptozę w komórkach hepatocytów [42]. Ponadto stwierdzono, że ich genotoksyczność jest znacznie większa aniżeli benzenu [20]. Zbadany był również kancerogenny efekt *in vitro* działania hepatotoksyn na komórki ludzkie w hodowli [17, 35]. Istnieją w literaturze dane epidemiologiczne o licznych przypadkach pierwotnych nowotworów wątroby skorelowanych z obecnością mikrocystyn w wodzie pitnej [17, 35]. Mikrocystyny wywołują aberracje chromosomowe w limfocytach ludzkiej krwi obwodowej. Stwierdzone uszkodzenia to: złamania oraz pęknięcia chromatydowe i chromosomowe, a także występowanie pojedynczych chromosomów dicentrycznych i wymiany chromatyd [27]. Wykazano również, że mikrocystyny hamują aktywność fosfataz białkowych *in vitro* [34]. Hamowanie to jest porównywalnie silne i specyficzne jak w przypadku promotora nowotworowego – kwasu okadainowego, który przyczynia się do hyperfosforylacji czynników transkrypcyjnych lub białek regulatorowych [13, 17]. Podobne efekty wykazują nodularyny zbudowane z 5 aminokwasów, wytwarzane przez cyjanobakterie z rodziny *Nodularia*.

Rys. 5. Budowa mirystyny z *Microcystis aeruginosa*Rys. 6. Budowa nodularyny z *Nodularia spumigena*

Budowa nodularyn została przedstawiona na rys. 6. W konsekwencji hamowania fosfataz następuje wzrost fosforylacji białek, co powoduje dezorganizację regulacji zarówno kinaz, jak i fosfataz. Prawdopodobnie hyperfosforylacja czynników transkrypcyjnych lub białek regulatorowych może pobudzać silną ekspresję genów prowadząc do inicjacji nowotworu [17].

Optymistycznym akcentem badań toksyn cyjanobakterii jest możliwość wykorzystania ich zmodyfikowanych form w leczeniu lub atenuacji niektórych schorzeń (choroba Alzheimer, miastenia). Stanowią także doskonałe narzędzie badawcze w eksperymentach modelowych.

Neurotoksyny i hepatotoksyny nie są jedynymi toksynami produkowanymi przez cyjanobakterie. Wytwarzają one również szereg cytotoxyn, które nie są omawiane w niniejszym opracowaniu.

LITERATURA

- [1] Amar M., Thomas P., Johnson C., Lunt G. G., Wonnacott S. (1993), *FEBS Lett* **327**, 284–288.
- [2] Antunes-Madeira M. C., Almeida L. M., Madeira V., M. C. (1990), *Biochim. Biophys. Acta* **1022**, 110–114.
- [3] Błasiak J. (1993), *Acta Bioch. Polon.* **40**, 35–38.
- [4] Błasiak J. (1995), *Comp. Biochem. Physiol.* **110**, 15–21.
- [5] Błasiak J. (1996), *Folia Biochim. Biophys.* **11**, 73–79.
- [6] Błasiak J. (1996), *Cell. Molec. Biol. Lett.*, **1**, 439–446.
- [7] Błasiak J., Jałoszyński P., Trzeciak A., Szyfter K., (1998), *Mut. Res.*
- [8] Błasiak J., Trzeciak A., Jałoszyński P., Szyfter K., Osiecka R., Błaszczuk A. (1997), *Molec. Cell. Biol. Lett.*, **2**, 389–397.
- [9] Błasiak J., Walter Z. (1992), *Acta Bioch. Polon.* **39**, 49–52.
- [10] Bechera B. C., Bhummy S. P. (1987), *Toxicol. Lett.* **27**, 269–277.
- [11] Carmichael W. W. (1994), *Sci. Amer.* **270**, 78–86.
- [12] Carmichael W. W., Falconer J. R. (1993), *Algal Toxins in Seaford and Drinking Water*, ed. J. R. Falconer, Academic Press.
- [13] Codd G. A., Beattie K. A. (1991), *PHLS Microb. Dig.* **8**, 82–85.
- [14] Czajkowska A., Walter Z. (1980), *Hum. Genet.* **56**, 189–194.
- [15] Dolara P., Torricelli F., Antonelli N. (1994) *Mutat. Res.* **325**, 47–51.
- [16] Falconer I. R. (1994), *Toxins*, et. al. 3–10.
- [17] Fujiki H., Sueoka E., Suganuma M. (1996), *Carcinogenesis of microcystis*, [w:] *Toxic Microcystis* ed.: M. F. Watanaba, K. Harada, W. W. Carmichael, H. Fujiki, CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo, 203–232.
- [18] Hallegraef G. M. (1993), *Phycologia*, **32**, 79–99.
- [19] Heath A. G., Cech J. J., Zinkl J. G., Finalayson B., Fujimura R. (1993), *Am. Fisheries Soc. Symp.* **14**, 17–28.
- [20] Keevil C. W. (1991), *PHLS Microbiol., Digest* **8**, 91–95.
- [21] Lahti K., Rapala J., Färdig M., Niemela M., Sivonen K. (1997), *Wat. Res.*, **31**, 1005–1012.
- [22] Malinowska A., Walter Z. (1983), *Bromat. Chem. Toksykol.* **XVI**, 3–4.
- [23] Martens P. A., Clayton D. A. (1979), *J. Mol. Biol.*, **135**, 327–351.

- [24] Mathew G., Vijayalaxami K. K., Abdul-Rahiman M. (1992), *Mutat Res.*, **280**, 169–173.
- [25] Molloy L., Wonnacott S., Gallagher T., Brough P. A., Livet B. G. (1995), *Eur. J. Pharm. (Molec. Pharmac. Sect.)*, **289**, 447–453.
- [26] Oliński R., Walter Z., Wiaderkiewicz R., Lukasova E., Palecek E. (1980), *Radiat. Environ. Biophys.*, **18**, 65–72.
- [27] Osiecka R., Kontek R., Błaszczuk A., Tarczyńska M., Zalewski M. (1996), *Konferencja Biologii Komórki*, Lublin.
- [28] Rapala J., Lahti K., Sivonen K., Niemela M. (1994), *Let. Appl. Microbiol.*, **19**, 423–428.
- [29] Ressor R., Saan Song F., Fitzgerald J., Turczynowicz L., El Saadi O., Roder D., Maynard T., Falconer I. (1994), [w:] *Health Effects of Toxic Cyanobacteria (Blue – Green Algae)*, 27–69, Australian Government Publish Service.
- [30] Reuber M. D. (1985), *Environ. Res.*, **37**, 119–153.
- [31] Skorpan Y. G. (1986), *Toxicol. Genet.*, **20**, 262–266.
- [32] Soliakov L., Wonnacott S. (1996), *J. Neuroch.*, **67**, 163–170.
- [33] Tarczyńska M., Zalewski M. (1997), *Toksyczność zakwitów sinicowych jako czynnik eutrofizacji – mechanizm powstawania i możliwość kontroli*, red. Wiśniewski M. Zalewski, Zesz. Kom. Nauk przy Prezyd. PAN, *Człowiek i środowisko*, Warszawa – w druku.
- [34] Tencalla F., Dietrich D. (1997), *Toxicon* **35**, 583–595.
- [35] Ueno Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hanegawa A., Watanabe M. F. (1996), *Carcinogenesis* **17**, 1317–1321.
- [36] Walter Z., Czajkowska A., Lipecka K. (1980), *Hum. Genet.*, **53**, 375–381
- [37] Walter Z., Jasicki P., Zastawny T. H. (1989), *Bull. Soc. Sci. Lett. Łódź* **21**, (1–10).
- [38] Walter Z., Wiszkowska H. (1990), *Acta Bioch. Polon.* **37**(1), 73–76.
- [39] Walter Z., Wojtysiak M. (1989), *Bull. Soc. Sci. Lett. Łódź* **19**, 1–10.
- [40] Wang D. N. (1994), *FEBS Lett.* **346**, 26–31.
- [41] Wiaderkiewicz R., Walter Z. (1990), *Folia Bioch. Biophys.*, **7**, 27–40
- [42] Yoshida T., Makita Y., Nagata S., Tsutsumi T., Yoshida F., Sekijima M., Tamura S., Ueno Y. (1997), *Nat. Toxins* **5**(3), 91–95.
- [43] Zalewski M., Janauer G. A., Jolankai G. (1997), *Ecologyhydrology. A new Paradigm for the Sustainable use of Aquatic resources, Conceptual Background, Working Hypothesis, Rationale and Scientific Guidelines for the Implementation of the IHP-V Projects 2.3/2.4*. UNESCO, Paris.

Wpłynęło do Redakcji
Folia biochimica et biophysica
24.04.1998

Katedra Genetyki Molekularnej
Uniwersytet Łódzki

Zofia Walter

THE STRUCTURE OF CYANOBACTERIUM TOXINS

In the study the structure of *Cyanobacterium* toxins is presented. The mechanism of their action is described.