

Cylindrospermopsyna – cytotoksyna syntetyzowana przez sinice

Michał ADAMSKI, Kornelia ZABAGŁO, Ariel KAMIŃSKI

ADAMSKI M, ZABAGŁO K, KAMIŃSKI A. 2016. **Cylindrospermopsin – cytotoxin synthesized by cyanobacteria.** *Wiadomości Botaniczne* 60(3/4): 85–93.

Cylindrospermopsin (CYN) is cytotoxic alkaloid produced by several freshwater species of cyanobacteria. Harmful effect of this compound includes inhibition of protein synthesis, increasing concentration of reactive oxygen species, DNA damages and even initiation of carcinogenesis. CYN molecule is high stable under influence of abiotic factors presents in natural environment. This toxin is potential threat for human health and life as well as organisms living near to cyanobacteria. The aim of this article is provide information about biological activity of CYN, its chemical stability and impact in nature.

KEY WORDS: cylindrospermopsin, cyanobacteria, cyanobacterial blooms

Michał Adamski, Kornelia Zabagło, Ariel Kamiński, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Gronostajowa 7, 30-386 Kraków, e-mail: michal.adamski@uj.edu.pl, kornelia.zabaglo@uj.edu.pl, ariel.kaminski@uj.edu.pl

WSTĘP

W ostatnich latach coraz częściej pojawiają się w zbiornikach wodnych intensywnie i masowo rozwijające się sinice tzw. zakwity sinicowe. Główną przyczyną ich występowania jest wzrost żyzności wód spowodowany dostarczaniem do nich pierwiastków biogennych zawartych w ściekach komunalnych i przemysłowych oraz w nawozach sztucznych. Zakwity stanowią poważny problem, ponieważ konsekwencją ich wystąpienia jest modyfikacja warunków życia w zbiornikach wodnych między innymi: zmniejszenie stężenia tlenu rozpuszczonego w wodzie (tzw. anoksja), wzrost jej mętności oraz ograniczenie bioróżnorodności organizmów. Rozwojowi sinic towarzyszy również wydzielanie nieprzyjemnego zapachu i zmiana koloru wody,

co znacząco pogarsza estetykę zbiornika wodnego (Sivonen, Jones 1999, Antoniou et al. 2005, Hilborn, Beasley 2015). Ponadto niektóre spośród gatunków sinic wykazują zdolność produkcji szeregu toksycznych metabolitów wtórnych określanych jako toksyny sinicowe. Uwzględniając efekty oddziaływania tych związków na organizmy zwierzęce podzielono je na cztery grupy: upośledzające działanie komórek wątroby – hepatotoksyny (np. mikrocystyny, nodularyna), destabilizujące ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy – neurotoksyny (np. anatoksyna-a, saksitoksyny), powodujące podrażnienia skóry i błon śluzowych – dermatotoksyny (np. lipopolisacharydy, lyngbyatoksyna) oraz naruszające przebieg wielu procesów metabolicznych w komórce – cytotoksyny (np. cylindrospermopsyna). Toksyny najczęściej trafiają do wody podczas lizy komórek

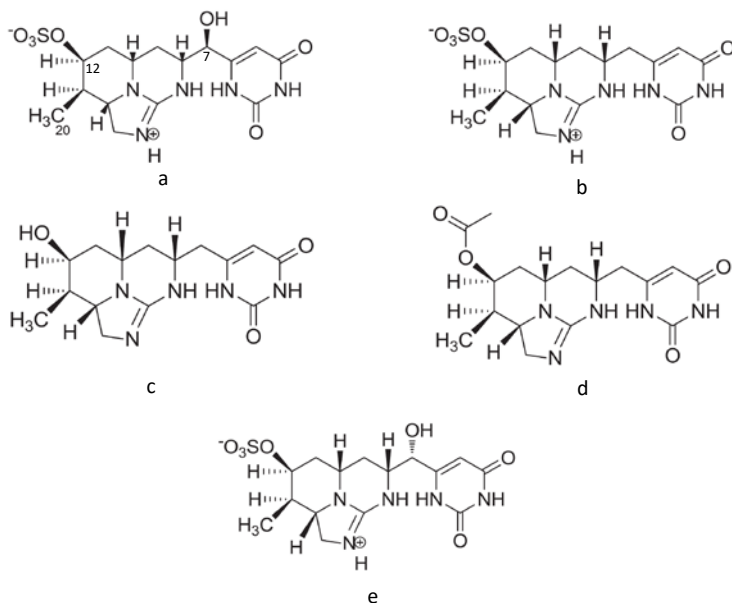
sinic, co w przypadku intensywnego zakwitnięcia może powodować wysokie ich stężenie. Do organizmu człowieka związki te mogą dostawać się poprzez: konsumpcję zanieczyszczonej wody oraz ryb i innych organizmów zwierzęcych pochodzących ze środowiska, w którym rozwinął się zakwit, zachłyśnięcie podczas uprawiania sportów wodnych czy inhalację aerozolem zawierającym cząsteczki toksyny (Białczyk et al. 2008, Carmichael, Wayne 2001, Merel et al. 2013, Adamski et al. 2014). Ostatnie lata charakteryzują się wzrostem liczby publikacji poświęconych jednej z najsilniej działających toksyn produkowanych przez sinice – cylindrospermopsynie (CYN). Zwiększone zainteresowanie CYN wiąże się ściśle z incydentem z 1979 roku znanym jako Palm Island Mystery Disease, związanym z Queensland (Australia). W jedynym dostępnym wówczas źródle wody pitnej w regionie (Solomon Dam) wystąpił zakwit *Cylindrospermopsis raciborskii*. Po spożyciu wody ze skażonego zbiornika 148 osób, głównie dzieci rdzennych mieszkańców wyspy, trafiło do szpitala z objawami ciężkiego zatrucia pokarmowego (Bourke et al. 1983, Hawkins et al. 1985). Od tego czasu przeprowadzono szereg testów na organizmach zwierzęcych potwierdzających, że ekstrakt pochodzący z sinicy wyodrębnionych z opisanego zakwitnięcia wykazuje toksyczne działanie. Rozwój analitycznych metod i technik badawczych takich jak wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) oraz nuklearny rezonans magnetyczny (NMR) otworzył możliwości wyizolowania i ustalenia budowy chemicznej CYN (Ohtani et al. 1992). Był to jednocześnie moment rozpoczęcia intensywnych prac poświęconych działaniu tej toksyny w żywych komórkach, degradacji pod wpływem różnych czynników abiotycznych i biotycznych oraz metod jej usuwania z wody. Obecnie, obok mikrocystyn (MCs), CYN stanowi spośród toksyn sinicowych niezwykle popularny obiekt zainteresowania licznych grup badawczych. Celem niniejszego artykułu jest przekazanie czytelnikom informacji o biologicznej aktywności CYN, stabilności cząsteczki oraz jej oddziaływania w warunkach naturalnych.

WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNO-CHEMICZNE CYN

Pod względem budowy chemicznej CYN jest alkaloidem, posiadającym trycycliczne ugrupowanie guanidynowe połączone z pierścieniem hydroksymetylouracylu (Ryc. 1a). Wyizolowana toksyna jest białym proszkiem ze szklistym połyskiem o masie molowej wynoszącej 415,42 g mol⁻¹ (Ohtani et al. 1992). Cząsteczka CYN może przechodzić w stan jonu obojnaczego, co stanowi o jej bardzo dobrej rozpuszczalności w wodzie oraz rozpuszczalnikach organicznych. Wykazano, że oprócz CYN, sinice zdolne są także do produkcji kilku jej analogów. Najwcześniej opisano 7-deoksy-cylindrospermopsynę, różniącą się od CYN brakiem grupy hydroksylowej przy siódmym atomie węgla (Ryc. 1b) (Norris et al. 1999). Scharakteryzowano również związek pozbawiony grupy hydroksylowej przy siódmym atomie węgla, który nie posiada również grupy siarczanowej przy węglu dwunastym (7-deoksy-desulfo-cylindrospermopsyna) (Ryc. 1c) oraz zawierający w tym miejscu grupę acetylową (7-deoksy-desulfo-12-acetylocylindrospermopsyna) (Ryc. 1d) (Wimmer et al. 2014). Najbardziej zbliżoną strukturę do CYN posiada jej epimer 7-epi-cylindrospermopsyna, której grupa hydroksylowa przy siódmym atomie węgla przyjmuje konfigurację przestrzenną S w odróżnieniu od struktury CYN, w której ta grupa ułożona jest w pozycji R (Ryc. 1e) (Banker et al. 2000).

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ CYN

Bioaktywne oddziaływanie CYN powoduje zaburzenie szeregu szlaków biochemicznych zarówno w organizmach zwierzęcych, jak również roślinnych. Wykazano wielokrotnie, że CYN jest inhibitorem biosyntezy białek przy czym mechanizm tego procesu nie został w pełni wyjaśniony (Harada et al. 1994, Terao et al. 1994, Froscio et al. 2003, López-Alonso et al. 2013). Najprawdopodobniej toksyna nie wchodzi w interakcję z rybosomami, lecz łączy się bezpośrednio z dużymi czynnikami translacyjnymi,



Ryc. 1. Budowa chemiczna CYN (a) oraz jej analogów: b – 7-deoksycylindrospermopsyna, c – 7-deoksy-desulfo-cylindrospermopsyna, d – 7-deoksy-desulfo-12-acetylcylindrospermopsyna, e – 7-epicylindrospermopsyna (oprac. M. Adamski, K. Zabagło, A. Kamiński).

Fig. 1. Chemical structure of CYN (a) and its analogues: b – 7-deoxycylindrospermopsin, c – 7-deoxy-desulfo-cylindrospermopsin, d – 7-deoxy-desulfo-12-acetylcylindrospermopsin, e – 7-epicylindrospermopsin (by M. Adamski, K. Zabagło, A. Kamiński).

co skutecznie zaburza proces powstawania białek (Frosio et al. 2003). Jednym z najbardziej zagrożonych działaniem CYN organów jest wątroba, do której toksyna szybko przedostaje się żyłą wrotną. Badania przeprowadzone na myszach dowiodły, że hepatocyty pod wpływem toksyny ulegały nieodwracalnym zmianom prowadzącym do ich zamierania. Działanie CYN w komórkach wątroby podzielono na cztery etapy: hamowanie syntezy białek, rozwarstwienie siateczki śródplazmatycznej, nagromadzenie niefizjologicznej ilości lipidów oraz śmierć komórki (Terao et al. 1994, Norris et al. 2002). Ponadto zaobserwowano również zmiany morfologiczne i biochemiczne w komórkach nerek, serca i płuc (Terao et al. 1994). Przechodząca przez układ pokarmowy CYN powodowała widoczne owrzodzenia i nieprawidłowości w funkcjonowaniu przełyku, żołądka oraz śledziony (Seawright et al. 1999).

Działanie CYN przyczyniało się również do powstawania stresu oksydacyjnego.

Podłożem tego procesu było hamowanie przez toksynę syntezy glutationu, stanowiącego jedną z najważniejszych składowych systemu antyoksydacyjnego w komórkach. Dodatkowo CYN reagowała z cytochromem P450, tworząc toksyczne produkty, które najprawdopodobniej również zaburzały prawidłowe działanie glutationu. Następstwem takich reakcji był wykazany drastyczny wzrost stężenia wolnych rodników tlenowych i stres oksydacyjny wywołujący: uszkodzenia błon komórkowych, kwasów nukleinowych, a w skrajnych przypadkach zainicjowanie procesów nowotworowych (Runnegar et al. 1995, Humpage et al. 2005). W przypadku myszy, którym podawano ekstrakt zawierający CYN następowała inicjacja rozwoju nowotworu (10%) (Falconer, Humpage 2001). Budowa chemiczna CYN powoduje, że łatwo wiąże się ona bezpośrednio z kwasami nukleinowymi, tworząc addukty prowadzące do rozdzielania materiału genetycznego skupionego w jądrze na

mniejsze mikrojądra lub przerwania nici kwasów nukleinowych (Shaw et al. 2000, Shen et al. 2002). Ponadto toksyna wykazywała zdolność upośledzania przebiegu podziałów komórkowych poprzez połączenie z chromosomami (z DNA lub z kinetochorem), co może przyczynić się do ograniczenia wartości indeksu mitotycznego lub aberracji w postaci utraty fragmentów lub całych chromosomów (Humpage et al. 2000).

Genotoksyczne właściwości CYN opisano również w ludzkich liniach komórkowych. W komórkach wątrobiaka linii HepG2 narażonych na działanie CYN zaobserwowano uszkodzenia cząsteczek DNA, zmiany morfologiczne oraz zahamowanie funkcji życiowych (Štraser et al. 2013, Liebel et al. 2015). Podobne rezultaty obserwowano testując wpływ CYN w pochodzących z wątroby komórkach linii HepaRG lub z jelita Caco-2 (Bazin et al. 2010, Kittler et al. 2016). Dowiedziono również, że CYN może stymulować ekspresję określonych genów np. włączonych w formowanie czynnika transkrypcyjnego p53, m.in. inicjującego apoptozę (Bain et al. 2007). Opisano także niekorzystne oddziaływanie tej toksyny na syntezę hormonów płciowych, w konsekwencji prowadzące do zaburzenia ilościowego stosunku progesteronu do estrogenu utrudniając zapłodnienie i/lub utrzymywanie ciąży (Young et al. 2008). Badania przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych dowiodły, że toksyczność CYN była zależna od sposobu, w jaki związek ten wnika do organizmu i na tej podstawie opracowano dawki śmiertelne powodujące śmierć 50 % badanych zwierząt (ang. *lethal dose*, LD₅₀). Najsilniej toksyna ta działała podana poprzez iniekcję dootrzewną (wartość LD₅₀ mieściła się w przedziale od 200 do 2000 µg kg⁻¹ dla różnych gatunków zwierząt), a najslabiej podana doustnie (LD₅₀ wyniosła od 4400 do 6900 µg kg⁻¹) (Metcalfe, Codd 2004). Humpage i Falconer (2003) opracowali test zezwalający na określanie stężenia CYN niewywołującego obserwowalnych szkodliwych skutków (ang. *no observed adverse effect level*, NOAEL) w odniesieniu do człowieka i ustalili jego wartość na poziomie 30 µg kg⁻¹. Na tej podstawie oszacowano wartość maksymalnego dopuszczalnego stężenia (ang.

maximum acceptable concentration, MAC) CYN w wodzie pitnej dla osób w różnej grupie wiekowej. Okazało się, że stężenie toksyny w wodzie konsumowanej przez osoby dorosłe (60 kg) nie powinno przekraczać 0,72 µg L⁻¹, a w przypadku dzieci oscylować wokół niższych wartości – odpowiednio 0,48 µg L⁻¹ dla 20-kilogramowego i 0,24 µg L⁻¹ dla 10-kilogramowego dziecka (Weirich, Miller 2014). Ustalone dopuszczalne wartości stężenia są zdecydowanie bardziej restrykcyjne niż norma przyjęta przez Światową Organizację Zdrowia (WHO), która zakłada przydatność wody do użytku zawierającą 1 µg L⁻¹ toksyny (Welker et al. 2004).

Wpływ CYN na procesy zachodzące w komórkach roślinnych jest stosunkowo słabo poznany. Pinheiro et al. (2016) opisali hamowanie rozwoju narażonych na działanie CYN glonów *Chlorella vulgaris*. Testowane stężenia toksyny (od 17 do 36 mg L⁻¹) powodowały czterokrotne obniżenie tempa rozwoju tych organizmów. Ponadto wykazano, że MC-LR może zwiększać efekt toksycznego działania CYN (Pinheiro et al. 2016). Należy jednak zaznaczyć, że stosowane stężenie toksyny znacznie przekraczało jej wartość oznaczaną w naturalnych zbiornikach wodnych. Freitas et al. (2015) również zaobserwowali silniejsze działanie mieszaniny CYN z MC-LR w porównaniu do toksyczności czystej CYN. Badania przeprowadzono na sałacie siewnej (*Lactuca sativa*), której w warunkach naturalnych kontakt z toksynami sinicowymi wydaje się być ograniczony. Obarczone podobną wadą były również eksperymenty przeprowadzone na bobie (*Vicia faba*) (Garda et al. 2015). Wpływ CYN u tej rośliny obejmował hamowanie wzrostu siewek, zatrzymanie syntezy białek w korzeniach, uszkodzenia materiału genetycznego i zaburzenia przebiegu mitozy. Badania przeprowadzone na wodnej paproci *Azolla filiculoides* dowiodły, że CYN (5 µg mL⁻¹) zawarta w ekstrakcie pochodzącym z sinic hamowała wzrost rośliny w sposób nagły i gwałtowny. Dawkę stężenia śmiertelnego (ang. *lethal concentrations*, LC₅₀), które wywoływało inhibicję wzrostu u 50% badanych roślin, oszacowano na 2,9 µg mL⁻¹. Niższe stężenia (0,05 lub 0,5 µg mL⁻¹) działały

w odmienny sposób i stymulowały wzrost paproci. Rośliny narażone na najwyższe testowane stężenie toksyny reagowały wzmoczoną syntezą chlorofilu a i b oraz białek. Zmiany w systemie antyoksydacyjnym paproci polegały na wzroście aktywności reduktazy glutationowej (GR) oraz transferazy S-glutationowej (GST). Wykazano również bioakumulację CYN w tkankach *A. filiculoides* oscylującą wokół $1,3 \mu\text{g g}^{-1}$ świeżej masy, co pozwoliło potwierdzić niewielkie aplikacyjne znaczenie tego gatunku w fitoremediacji (Santos et al. 2015). Opisano także inicjację stresu oksydacyjnego u *Lemna minor* kultywowanej w pożywkach zawierających CYN ($0,025\text{--}25 \mu\text{g L}^{-1}$) (Flores-Rojas et al. 2015). Nawet najmniejsze testowane stężenie toksyny powodowało wzrost zawartości wewnątrzkomórkowego nadtlenu wodoru. Równocześnie zaobserwowano wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych: katalazy, GR i GST. Nie odnotowano natomiast wzmoczonego działania peroksydazy. Najprawdopodobniej mechanizm kompensujący szkodliwe oddziaływanie wolnych rodników powstających pod wpływem CYN w komórkach rzęsy obejmował również udział karotenoidów (Flores-Rojas et al. 2015). Niektóre informacje wskazują, że toksyna w komórkach roślinnych hamuje biosyntezę białek w porównywalnym stopniu do inhibicji translacji zachodzącej pod wpływem CYN opisanej w komórkach zwierzęcych (Met-calf et al. 2004, Froscio et al. 2008).

CYN W ŚRODOWISKU NATURALNYM

Zdolność syntezy CYN wykazano dotychczas u kilkunastu gatunków sinic należących do różnych rodzajów: *Anabaena bergii*, *A. lapponica*, *A. planctonica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Aph. gracile*, *Aph. ovalisporum*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Lyngbya wollei*, *Oscillatoria* sp., *Raphidiopsis curvata*, *R. mediterranea* i *Umezakia natans* (Banker et al. 1997, Li et al. 2001, Preußel et al. 2006, Spooft et al. 2006, Seifert et al. 2007, De la Cruz et al. 2013). W Europie po raz pierwszy jej obecność stwierdzono w niemieckich jeziorach Langer See i Melangsee (Fastner et

al. 2003), a następnie w Hiszpanii, Czechach i Francji (Quesada et al. 2006, Blahova et al. 2008, Brient et al. 2009). Nieprzerwanie pojawiają się nowe informacje o jej identyfikacji w różnych regionach świata, ostatnio w Serbii i Chile (Dordević et al. 2015, Nimptsch et al. 2016). W Polsce pierwsze doniesienie o detekcji CYN dotyczyło jezior Wielkopolski – Bnińskiego, Bytyńskiego i Lubosińskiego. W niektórych próbkach stężenie toksyny przekraczało normę przyjętą przez WHO (Kokociński et al. 2009). Oddziaływanie CYN w środowisku naturalnym wciąż nie zostało w pełni wyjaśnione. Wykazano wielokrotnie, że toksyna ta podlega bioakumulacji w tkankach organizmów znajdujących się na wyższych niż sinice ogniwach łańcucha troficznego. Raki *Cherax quadricarinatus* zebrane w jeziorze, w którym wystąpił zakwit *C. raciborskii* zawierały średnio $0,9 \mu\text{g CYN g}^{-1}$ tkanki mięśniowej, a w wątrobotrzustce $4,3 \mu\text{g CYN g}^{-1}$ (Saker, Eaglesham 1999). Podobne rezultaty otrzymano hodując małże *Anodonta cygnea*, którym jako składową pożywienia podawano komórki *C. raciborskii*. Tkanki małży zawierały do $2,52 \mu\text{g CYN g}^{-1}$ świeżej masy, przy czym wysokie stężenie toksyny (50 % początkowo zakumulowanej ilości) utrzymywało się w organizmach zwierząt nawet po dwutygodniowej przerwie w karmieniu ich sinicami (Saker et al. 2004). Systematycznie pojawiają się nowe doniesienia świadczące o toksycznym działaniu CYN w organizmach zwierząt żyjących w sąsiedztwie sinic (De la Cruz et al. 2013, Dordević et al. 2015).

STABILNOŚĆ CZĄSTECZKI CYN

CYN jest związkiem wysoce stabilnym pod wpływem działania czynników takich jak: pH, temperatura, promieniowanie fotosyntetycznie aktywne (PAR), promieniowanie UV (Chiswell et al. 1999, Wörmer et al. 2010, Adamski et al. 2016 a, b). Toksyna nie ulegała rozkładowi w $\text{pH} \leq 7$, a alkalizacja przyczyniała się do przyspieszenia jej dekompozycji (83% w czasie 6 tygodni). Niezależnie od warunków pH temperatura $\leq 40^\circ\text{C}$ nie powodowała rozpadu jej cząsteczki (Adamski et

al. 2016 a). Jedynie wysoka temperatura (100°C) w połączeniu z warunkami alkalicznymi indukowała jej dekompozycję (82% po 4 godzinach). Rezultatem tych reakcji było wytworzenie szeregu produktów dekompozycji toksyny między innymi 7-epi-CYN (Adamski et al. 2016 a). Chiswell et al. (1999) wykazali obecność jednego produktu dekompozycji o czasie retencji i fragmentacji masowej zbliżonej do CYN, najprawdopodobniej pochodnej 7-epi-CYN. Uzyskane wyniki mogą potwierdzać hipotezę według której 7-epi-CYN jest produktem dekompozycji CYN. Wykazywano kilkakrotnie, że PAR bez/lub w obecności fotosensybilizatora fikocyjaniny C nie wpływało na stabilność CYN (Chiswell et al. 1999, Wörmer et al. 2010, Adamski et al. 2016 b). Poddanie CYN działaniu promieniowania UV w określonych warunkach powoduje jednak dekompozycję jej cząsteczki (Chiswell et al. 1999, Wörmer et al. 2010, Adamski et al. 2016 b). CYN ulegała dekompozycji pod wpływem UV-B jedynie w warunkach alkalicznych, również z wytworzeniem produktów dekompozycji. Produkty te w większości były jednak odmienne od tych uzyskanych w warunkach działania alkalicznego pH i wysokiej temperatury (Adamski et al. 2016 b).

Badania przeprowadzone w warunkach *in situ* wykazały, że promieniowanie UV w nieznacznym stopniu przyczyniało się do rozpadu CYN i dotyczyło w największym stopniu zakresu UV-A. Ponadto ustalono, że fotodegradacja CYN zależała od grubości tafli wody, na jakiej znajdowały się cząsteczki toksyny. CYN ulegała rozkładowi do głębokości 1 m, a zwiększenie głębokości do 4 m proces ten hamowało (Wörmer et al. 2010). Światło słoneczne nie wpływało na stabilność czystej toksyny w czasie 120 godzin, jednakże CYN zawarta w surowym ekstrakcie pochodzącym z komórek sinic ulegała szybkiemu rozkładowi (54% po 3 godzinach) (Chiswell et al. 1999). Wiedza dotycząca rozkładu CYN w warunkach naturalnych wciąż jest jednak niepełna. Smith et al. (2008) sugerują, że stabilność CYN determinowana jest przez wiele czynników działających symultatywnie, między innymi czynników fizycznych oraz chemicznych, a także obecności algicydów. Biorąc pod

uwagę stabilność CYN w warunkach działania czynników abiotycznych, należy stwierdzić, że w warunkach naturalnych najprawdopodobniej jednak w największym stopniu do jej degradacji przyczyniają się mikroorganizmy. Bakteria *Bacillus* AMRI-03 wykazywała zdolność całkowitego rozkładu CYN (300 µg L⁻¹) w czasie 6 dni (Mohammed, Alamri 2012). Opisano również bezpośrednią konsumpcję komórek sinic przez orzęski *Paramecium* cf. *caudatum* i sugerowano, że mikroorganizm ten mógłby być wykorzystany w strategii zapobiegania rozwojowi zakwitów (Fabbro et al. 2001). Wyniki innych badań wskazują, że zdolność i wydajność rozkładu CYN przez mikroorganizmy żyjące w sąsiedztwie sinic jest jednak ograniczona. Wörmer et al. (2008) nie zaobserwowali, nawet po czterdziestu dniach, degradacji CYN przez mikroorganizmy wyizolowane ze zbiornika, w którym wystąpił zakwit sinic.

PODSUMOWANIE

CYN jest jedną z najsilniej działających toksyn produkowanych przez sinice. Wykazuje ona szerokie spektrum oddziaływania na organizmy żywe. Biorąc pod uwagę wysoką stabilność jej cząsteczki stanowi duże zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka, a także dla organizmów żyjących w sąsiedztwie gatunków sinic zdolnych do jej syntezy. Wpływ CYN na procesy zachodzące w komórkach roślinnych wciąż nie został jeszcze w pełni wyjaśniony i wymaga dalszych badań. Oczywiście wydaje się również pilna potrzeba poszerzenia wiedzy o oddziaływaniu tego związku bezpośrednio w środowisku naturalnym.

LITERATURA

- ADAMSKI M., CHRAPUSTA E., BOBER B., KAMINSKI A., BIALCZYK J. 2014. Cylindrospermopsin: cyanobacterial secondary metabolite. biological aspects and potential risk for human health and life. *Oceanol. Hydrobiol. Stud.* **43**(4): 442–449.
- ADAMSKI M., ŻMUDZKI P., CHRAPUSTA E., BOBER B., KAMINSKI A., ZABAGLO K., LATKOWSKA E., BIALCZYK J. 2016 a. Effect of pH and temperature on stability of cylindrospermopsin.

- Characterization of decomposition products. *Algal Research* **15**: 129–134.
- ADAMSKI M., ŻMUDZKI P., CHRAPUSTA E., KAMINSKI A., BOBER B., BIALCZYK J. 2016 b. Characterization of cylindrospermopsin decomposition products formed under irradiation conditions. *Algal Research* **18**: 1–6.
- ANTONIOU M. G., DE LA CRUZ A. A., DIONYSIOU D. D. 2005. Cyanotoxins: New generation of water contaminations. *Journal of Environmental Engineering* **131**(9): 1239–1243.
- BAIN P., SHAW G., PATEL B. 2007. Induction of p53-regulated gene expression in human cell lines exposed to the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **70**(19): 1687–1693.
- BANKER R., CARMELI S., HADAS O., TELTSCH B., PORAT R., SUKENIK A. 1997. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* isolated from Lake Kinneret. *J. Phycol.* **33**(4): 613–616.
- BANKER R., TELTSCH B., SUKENIK A., CARMELI S. 2000. 7-epicylindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret. *J. Nat. Prod.* **63**(3): 387–389.
- BAZIN E., MOUROT A., HUMPAGE A. R., FESSARD V. 2010. Genotoxicity of a freshwater cyanotoxin, cylindrospermopsin, in two human cell lines: Caco-2 and HepaRG. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **51**(3): 251–259.
- BIALCZYK J., LECHOWSKI Z., BOBER B. 2008. Neurotoksyny syntetyzowane przez sinice. *Wiadom. Bot.* **52**(3/4): 43–53.
- BLÁHOVÁ L., BABICA P., ADAMOVSKÝ O. 2008. Analyses of cyanobacterial toxins (microcystins, cylindrospermopsin) in the reservoirs of the Czech Republic and evaluation of health risks. *Environmental Chemistry Letters* **6**(4): 223–227.
- BOURKE A.T. C., HAWES R. B., NEILSON A., STALLMAN N. D. 1983. An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicon* **21**(3): 45–48.
- BRIENT L., LENGRONNE M., BORMANS M., FASTNER J. 2009. First occurrence of cylindrospermopsin in freshwater in France. *Environmental Toxicology* **24**(4): 415–420.
- CARMICHAEL W. W., WAYNE W. 2001. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: „The Cyano-HABs”. *Human and Ecological Risk Assessment* **7**(5): 1393–1407.
- CHISWELL R. K., SHAW G. R., EAGLESHAM G. K., SMITH M. J., NORRIS R. L., SEAWRIGHT A. A., MOORE M. R. 1999. Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology* **14**(1): 155–165.
- DE LA CRUZ A., HISKIA A., KALOUDIS T., CHERNOFF N., HILL D., ANTONIOU M. G., HE X., LOFTIN K., O’SHEA K., ZHAO C., PELAEZ M., HAN C., LYNCH T. J., DYIONYSIOU D. D. 2013. A review on cylindrospermopsin: the global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin. *Environmental Science: Processes Impacts* **15**: 1979–2003.
- DORDEVIĆ N. B., SIMIĆ S. B., ĆIRIĆ A. R. 2015. First identification of the cylindrospermopsin (CYN)-producing cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyńska) Seenayya & Subba Raju in Serbia. *Fresenius Environmental Bulletin* **24**: 3736–3742.
- FABBRO L., BAKER M., DUIVENVOORDEN L., PEGG G., SHIEL R. 2001. The effects of the ciliate *Paramecium* cf. *caudatum* Ehrenberg on toxin producing *Cylindrospermopsis* isolated from the Fitzroy river, Australia. *Environmental Toxicology* **16**(6): 489–497.
- FALCONER I. R., HUMPAGE A. R. 2001. Preliminary evidence for in vivo tumour initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology* **16**(2): 192–195.
- FASTNER J., HEINZE R., HUMPAGE A. R., MISCHKE U., EAGLESHAM G. K., CHORUS I. 2003. Cylindrospermopsin occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* **42**(3): 313–321.
- FLORES-ROJAS N. C., ESTERHUIZEN-LONDT M., PFLUGMACHER S. 2015. Antioxidative stress responses in the floating macrophyte *Lemna minor* L. with cylindrospermopsin exposure. *Aquatic Toxicology* **169**: 188–195.
- FREITAS M., CAMPOS A., AZEVEDO J., BARREIRO A., PLANCHON S., RENAUT J., VASCONCELOS V. 2015. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) leaf-proteome profiles after exposure to cylindrospermopsin and a microcystin-LR/cylindrospermopsin mixture: a concentration-dependent response. *Phytochemistry* **110**: 91–103.
- FROSCIO S. M., HUMPAGE A. R., BURCHAM P. C., FALCONER I. R. 2003. Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from acute toxicity in mouse hepatocyte. *Environmental Toxicology* **18**(4): 243–251.
- FROSCIO S. M., HUMPAGE A. R., WICKRAMASINGHE W., SHAW G., FALCONER I. R. 2008. Interaction of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin with the eukaryotic protein synthesis system. *Toxicon* **51**(2): 191–198.
- GARDA T., RIBA M., VASAS G., BEYER D., M-HAMVAS M., HAJDU G., TÁNDOR I., MÁTHE C. 2015. Cytotoxic effects of cylindrospermopsin in mitotic and non-mitotic *Vicia faba* cells. *Chemosphere* **120**: 145–153.
- HARADA K. I., OHTANI I., IWAMOTO K., SUZUKI M., WATANABE M. F., WATANABE M., TERAOKA K. 1994. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezekia natans* and its screening method. *Toxicon* **32**(1): 73–84.
- HAWKINS P. R., RUNNEGAR M. T. C., JACKSON A. R. B., FALCONER I. R. 1985. Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyńska) Seenayya and Subba Raju

- isolated from a domestic supply reservoir. *Appl. Environm. Microbiol.* **50**(5): 1292–1295.
- HILBORN E., BEASLEY V. 2015. One health and cyanobacteria in Freshwater Systems: animal illnesses and deaths are sentinel events for human health risks. *Toxins* **7**(4): 1374–1395.
- HUMPAGE A. R., FENECH M., THOMAS P., FALCONER I. R. 2000. Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutat. Res.* **472**: 155–161.
- HUMPAGE A. R., FONTAINE F., FROSCIO S., BURCHAM P., FALCONER I. R. 2005. Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity, role of cytochrome P-450 and oxidative stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **68**(9): 739–753.
- HUMPAGE A. R., FALCONER I. R. 2003. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice, determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology* **18**(2): 94–103.
- KITTLER K., HURTAUD-PESEL D., MAUL R., KOLREP F., FESSARD V. 2016. In vitro metabolism of the cyanotoxin cylindrospermopsin in HepaRG cells and liver tissue fractions. *Toxicon* **110**: 47–50.
- KOKOCIŃSKI M., DZIGA D., SPOOF L., STEFANIAK K., JURCZAK T., MANKIEWICZ-BOCZEK J., MERILUOTO J. 2009. First report of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the shallow, eutrophic lakes of western Poland. *Chemosphere* **74**(5): 669–675.
- LIEBEL S., DE OLIVEIRA RIBEIRO C. A., DE MAGALHÃES V. F., DA SILVA R. C., ROSSI S. C., RANDI M. A., FILIPAK NETO F. 2015. Low concentrations of cylindrospermopsin induce increases of reactive oxygen species levels, metabolism and proliferation in human hepatoma cells (HepG2). *Toxicology in Vitro* **29**(3): 479–488.
- LI R., CARMICHAEL W. W., BRITAIN S., EAGLESHAM G. K., SHAW G. R., LIU Y., WATANABE M. M. 2001. First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata*. *J. Phycol.* **37**(6): 1121–1126.
- LÓPEZ-ALONSO H., RUBIOLÓ J. A., VEGA F., VIEYTES M. R., BOTANA M. L. 2013. Protein synthesis inhibition and oxidative stress induced by cylindrospermopsin elicit apoptosis in primary rat hepatocytes. *Chemical Research in Toxicology* **26**(2): 203–212.
- MEREL S., WALKER D., CHICANA R., SNYDER S., BAURÈS E., THOMAS O. 2013. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International* **59**: 303–327.
- METCALF J. S., BARAKATE A., CODD G. A. 2004. Inhibition of plant protein synthesis by the cyanobacterial hepatotoxin, cylindrospermopsin. *FEMS Microbiology Letters* **235**(1): 125–129.
- METCALF J. S., CODD G. A. 2004. Cyanobacterial toxins in the water environment – a review of current knowledge. University of Dundee, U. K.
- MOHAMED Z., ALAMRI S. A. 2012. Biodegradation of cylindrospermopsin toxin by microcystin-degrading bacteria isolated from cyanobacterial blooms. *Toxicon* **60**(8): 1390–1395.
- NIMPTSCH J., WOELFL S., OSORIO S., VALENZUELA J., MOREIRA C., RAMOS V., CASTELO-BRANCO R., LEÃO P. N., VASCONCELOS V. 2016. First record of toxins associated with cyanobacterial blooms in oligotrophic North Patagonian lakes of Chile – a genomic approach. *International Review of Hydrobiology* **101**(1–2): 57–68.
- NORRIS R. L., EAGLESHAM G. K., PIERENS G., SHAW G. R., SMITH M. J., CHISWELL R. K., SEAWRIGHT A. A., MOORE M. R. 1999. Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology* **14**(1): 163–165.
- NORRIS R. L., SEAWRIGHT A. A., SHAW G. R., SENOGLES P., EAGLESHAM G. K., SMITH M. J., CHISWELL R. K., MOORE M. R. 2002. Hepatic xenobiotic metabolism of cylindrospermopsin *in vivo* in the mouse. *Toxicon* **40**(4): 471–476.
- OHTANI I., MOORE R. E., RUNNEGAR M. T. C. 1992. Cylindrospermopsin, a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *ChemInform* **114**(20): 7941–7942.
- PINHEIRO C., AZEVEDO J., CAMPOS A., VASCONCELOS V., LOUREIRO S. 2016. The interactive effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on the growth rate of the freshwater algae *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology* **25**: 745–758.
- PREUSSEL K., STÜKEN A., WIEDNER C., CHORUS I., FASTNER J. 2006. First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon* **47**(2): 156–162.
- QUESADA A., MORENO E., CARRASCO D., PANIAGUA T., WÖRMER L., DE HOYOS C., SUKENIK A. 2006. Toxicity of *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanobacteria) in a Spanish water reservoir. *Eur. J. Phycol.* **41**(1): 39–45.
- RUNNEGAR M. T., KONG S. M., ZHONG Y. Z., LU S. C. 1995. Inhibition of reduced glutathione synthesis by cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* **49**(2): 219–225.
- SAKER M. L., EAGLESHAM G. K. 1999. The accumulation of cylindrospermopsin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the Redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Toxicon* **37**(7): 1065–1077.
- SAKER M. L., METCALF J. S., CODD G. A., VASCONCELOS V. M. 2004. Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Toxicon* **43**(2): 185–194.
- SANTOS C., AZEVEDO J., CAMPOS A., VASCONCELOS V., PEREIRA A. 2015. Biochemical and growth performance of the aquatic

- macrophyte *Azolla filiculoides* to sub-chronic exposure to cylindrospermopsin. *Ecotoxicology* **24**: 1848–1867.
- SEAWRIGHT A. A., NOLAN C. C., SHAW G. R., CHISWELL R. K., NORRIS R. L., MOORE M. R., SMITHS M. J. 1999. The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska). *Environmental Toxicology* **14**(1): 135–142.
- SEIFERT M., MCGREGOR G., EAGLESHAM G., WICKRAMASINGHE W., SHAW G. 2007. First evidence for the production of cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin by the freshwater benthic cyanobacterium, *Lyngbya wollei*. *Harmful Algae* **6**(1): 73–80.
- SHAW G. R., SEAWRIGHT A. A., MOORE M. R., LAM P. K. 2000. Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid, evaluation of its toxicological activity. *Therapeutic Drug Monitoring* **22**(1): 89–92.
- SHEN X., LAM P. K., SHAW G. R., WICKRAMASINGHE W. 2002. Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicol* **40**(10): 499–501.
- SIVONEN K., JONES G. 1999. Cyanobacterial Toxins. W: I. CHORUS, J. BARTRAM (red.), *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences Monitoring and Management*. E&FN Spon, London, s. 41–111.
- SMITH M. J., SHAW G. R., EAGLESHAM G. K., HO L., BROOKES J. D. 2008. Elucidating the factors influencing the biodegradation of cylindrospermopsin in drinking water sources. *Environmental Toxicology* **23**(3): 413–421.
- SPOOF L., BERG K. A., RAPALA J., LAHTI K., LEPISTÖ L., METCALF J.S., CODD GA. MERILUOTO J. 2006. First observation of cylindrospermopsin in *Anabaena lapponica* isolated from the Boreal Environment (Finland). *Environmental Toxicology* **21**(6): 552–560.
- ŠTRASER A., FILIPIČ M., NOVAK M., ŽEGURA B. 2013. Double strand breaks and cell-cycle arrest induced by the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in HepG2 cells. *Marine Drugs* **11**(8): 3077–3090.
- TERAO K., OHMORI S., IGARISHI K., OHTANI I., WATANABE M. F., HARADA K. I., ITO E., WATANABE M. 1994. Electron microscope studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezekia natans*. *Toxicol* **32**(7): 833–843.
- WEIRICH C. A., MILLER T. R. 2014. Freshwater harmful algal blooms: toxins and children's health. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* **44**(1): 2–24.
- WELKER M., CHORUS I., FASTNER J. 2004. WHO Report on Water, Sanitation and Health Protection of Human Environment, Geneva, May. p. 4.
- WIMMER K. M., STRANGMAN W. K., WRIGHT J. L. C. 2014. 7-Deoxy-desulfo-cylindrospermopsin and 7-deoxy-desulfo-12-acetylcylindrospermopsin: two new cylindrospermopsin analogs isolated from a Thai strain of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae* **37**: 203–206.
- WÖRMER L., CIRÉS S., CARRASCO D., QUESADA A. 2008. Cylindrospermopsin is not degraded by co-occurring natural bacterial communities during a 40-day study. *Harmful Algae* **7**(2): 206–213.
- WÖRMER L., HUERTA-FONTELA M., CIRÉS S., CARRASCO D., QUESADA A. 2010. Natural photodegradation of the cyanobacterial toxins microcystin and cylindrospermopsin. *Environm. Sci. Technol.* **44**(8): 3002–3007.
- YOUNG F. M., MICKLEM J., HUMPAGE A. R. 2008. Effects of the blue-green algal toxin cylindrospermopsin (CYN) on human granulosa cells *in vitro*. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* **25**(3): 374–380.