

Toksyny syntetyzowane przez morskie glony

Jan BIAŁCZYK, Zbigniew LECHOWSKI, Beata BOBER

BIAŁCZYK J., LECHOWSKI Z., BOBER B. **Toxins synthesized by sea algae.** *Wiadomości Botaniczne* 53(3/4): 31–51.

The blooms of sea water caused by certain algae (dinoflagellates, diatoms, red algae) appears widely regardless of the geographic zone. These are producers of numerous secondary metabolites, often with a toxic effect on animals and humans. The accumulation of these compounds in the bodies of animals living in a shelf zone and living off phytoplankton (e.g. bivalves, clams, cockles, oysters, scallops, mussels, crabs, fishes) is the cause of some cases of food poisoning in people, for whom they constitute a primary source of nutrition. Besides these compounds are through algae secreted into the water environment and in the form of an aerosol or through direct contact with the skin may enter into the organism during work at sea, swimming or surfing. The symptoms of poisoning caused by toxins synthesized by sea algae has been divided into five groups depending on the effects exerted: paralytic (e.g. saxitoxin), amnesic (ocadaic acid), diarrhea and other gastric problems (e.g. azaspiracid, domoic acid), neurotoxic (e.g. brevetoxin, macrocyclic imines) and various effects including a tumour promoting activity (e.g. yessotoxin, pectenotoxin). The article describes the chemical structure of toxins, the physico-chemical features, the mechanism of action as well as the characteristics of organisms capable of their synthesis.

KEY WORDS: diatoms, dinoflagellates, red algae, sea toxins, secondary metabolites

Jan Białczyk, Zbigniew Lechowski, Beata Bober, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, e-mail: j.bialczyk@uj.edu.pl

WSTĘP

Spośród morskich glonów (bruzdnic, okrzemek, krasnorostów) niektóre gatunki występują nie tylko powszechnie ale także masowo niezależnie od strefy geograficznej. Są one producentami wielu metabolitów wtórnych, często o działaniu toksycznym na zwierzęta i ludzi. Akumulacja tych związków w ciałach zwierząt żyjących w strefie szelfowej i odżywiających się fitoplanktonem (np. różnych gatunków mięczaków, osłonnic, krabów i ryb) jest przyczyną licznych zatruc ludzi, dla których stanowią one często podstawowe źródło pożywienia. Ponadto

związki te są przez glony wydzielane do środowiska wodnego i w formie aerozolu lub bezpośredniego kontaktu ze skórą mogą przedostawać się do organizmu człowieka podczas pracy na morzu, pływania lub surfing. Zakwity wody powodowane przez glony są także przyczyną występowania przypadków masowej śmierci zwierząt morskich, w tym ssaków. Nieliczne gatunki morskich ssaków posiadają rozwinięty system oceny toksyczności mięczaków i mogą unikać ich konsumpcji (np. wydra) (Kvitek et al. 1991). W regionach, w których prowadzona jest hodowla małży jadalnych, zatrucia toksynami glonowymi są przyczyną poważnych

strat ekonomicznych. Według informacji FAO, światowa produkcja małej jadalnych wynosiła w 2005 roku około 13,5 miliona ton, w tym aż 90% produkcji pochodziło z kultur morskich (FISHSTAT, FIGIS, www.fao.org. March 2007). W okresie ostatnich 30 lat liczba zatruć toksynami glonowymi systematycznie wzrasta, co jest wynikiem zwiększonej częstotliwości występowania zakwitów wraz z postępującą eutrofizacją wód strefy szelfowej. Do podstawowych czynników stymulujących rozwój zakwitów glonów należą: wzbogacanie wody w nutrieny poprzez ich wypłukiwanie z osadów jak również z lądowych zasobów (jako efekt przemysłowej działalności człowieka, odprowadzania ścieków miejskich i innego rodzaju zanieczyszczeń), zmian temperatury wody, stopnia zasolenia, stężenia związków organicznych i związków chelatujących metale, zawartości witaminy B₁₂ i warunków świetlnych w toni wodnej. Interakcja pomiędzy tymi czynnikami jest główną przyczyną okresowo pojawiających się zakwitów, a o ich cyklicznym występowaniu decyduje zdolność tworzenia przetrwalnych cyst w niekorzystnych warunkach, umożliwiając przetrwanie glonów w warstwie osadowej nawet powyżej 15 lat (Jesús, Otero 2008).

Wiedza o zagrożeniach towarzyszących zakwitom morskich glonów jak i sposoby przeciwdziałania wywoływanym przez nie zatruciom były przekazywane przez lokalne społeczności przez pokolenia. Znane były one rodzajowi ludzkiemu tysiące lat przed wynalezieniem pisma. Najstarsze informacje opisujące przypadki wystąpienia zakwitów i ich efekty pochodzą sprzed kilku tysięcy lat z różnych kontynentów. Opis pierwszej plagi egipskiej zawarty w Księdze Wyjścia (Biblia 1975) („cała woda, która jest w rzece zmieni się w krew...”) wskazuje, że wydarzenie to było najprawdopodobniej związane z pojawieniem się zakwitów toksycznego gatunku bruzdnicy z rodzaju *Pfiesteria*. Ostrzeżenie przed spożywaniem ryb, akumulujących toksynę produkowaną przez *Gonyaulax polyedra*, zawierała pierwsza chińska farmakopea napisana 2800 lat p.n.e. (Kao 1996). Podobne zakazy spożywania szelfowych mięczaków i ryb

odławianych z morza w czasie, gdy przypląwy przybierały kolor czerwony podczas dnia lub iskrzyły żółto w nocy, wprowadzono w przedkolumbijskiej Ameryce. Strażnicy stosowali system umieszczanych na brzegach znaków ostrzegawczych w czasie występowania zakwitów glonów. Po raz pierwszy wprowadzono więc już wówczas system kwarantanny w Ameryce (Halstead et al. 1965). Najstarszym źródłem naukowym opisującym zatrucia ludzi po spożyciu mięczaków i krabów morskich było dzieło wydane w 1689 roku zatytułowane *Ephémérides des curieux de la natura*, a cytowane przez Chevalier'a i Duchesne'a w 1851 roku. Natomiast pierwszy szczegółowy raport o zatruciach mieszkańców British Columbia w 1793 roku został opublikowany przez Vancouvera w 1801 roku. W XIX i pierwszej połowie XX wieku odnotowano w różnych częściach świata liczne przypadki zatruć, w tym śmierci ryb i ludzi. Na pełne określenie rodzaju i struktury toksyn oraz produkujących je organizmów pozwoliły dopiero wyniki prac badaczy drugiej połowy XX wieku i obecnego stulecia. Rezultaty te w miarę rozwoju podstaw teoretycznych, jak i bardzo czułych metod analitycznych, pozwalały na dokładniejszą ich identyfikację.

W ciągu ostatniego 20-lecia uzyskano pełniejszą charakterystykę fizykochemiczną, a także określono aktywność biologiczną licznych nowo odkrywanych metabolitów wtórnych. Wyjaśniony został mechanizm działania wielu glonowych toksyn, wyznaczono dla nich dawkę półletalną (LD₅₀) i dawkę śmiertelną (LD₉₉) oraz opisano efekty ich oddziaływania na ludzki organizm. Zatrucia ludzi indukowane przez morskie toksyny podzielono na pięć typów w zależności od wywieranych efektów: paraliżujące (np. grupa saksytoksyn), wywołujące amnezję (np. kwas okadaikowy), powodujące biegunkę i inne dolegliwości przewodu pokarmowego (np. azaspiracid, kwas domoikowy), neurotoksyczne (np. brewetoksyna, makrocycliczne iminy) i o różnym sposobie oddziaływania, między innymi stymulujące rozwój nowotworów (np. yessotoksyna, pektenotoksyna). Stosowane nazwy toksyn często wiążą

się z nazwami rodzajowymi syntetyzujących je organizmów. W artykule została opisana ich budowa chemiczna, właściwości fizykochemiczne, mechanizm działania wraz z charakterystyką organizmów zdolnych do ich syntezy.

TOKSYNY O DZIAŁANIU PARALIŻUJĄCYM

Przypadki zatrucia toksynami wywołującymi objawy paraliżu były znane od wielu stuleci (Kao 1993, FAO/IOC/WHO 2004). Obejmują one związki zaliczane do saksytoksyn (STX) i obecnie znanych jest około 20 jej analogów. STX są alkaloidami i zostały podzielone na trzy podgrupy: karbaminiany (saksytoksyna (Ryc. 1, STX), neosaksytoksyna i gonyatoksyna-1-4), sulfokarbamoliany (tetradotoksyny B-1-2, C-1-4) i dekarbamoliany (dekarbosaksytoksyna, dekarboneosaksytoksyna i dekarbogonyatoksyna 1-4) (FAO/IOC/WHO 2004). Powyższa klasyfikacja została przyjęta na podstawie stopnia ich toksyczności tj. od najsilniej do najslabiej działających. Głównymi producentami STX są bruzdnice należące do rodzaju *Alexandrium* (*A. tamarense* i *A. catenella*), szeroko rozpowszechnione w różnych regionach geograficznych świata (Prakash et al. 1971, Oshima et al. 1977). STX są łatwo absorbowane w przewodzie pokarmowym zwierząt i szybko docierają do tkanki nerwowej. Mechanizm ich działania polega na wiązaniu się z receptorem zależnym od napięcia w Na^+ -kanałach jonowych w błonach neuronów. Procesy te stymulują zamknięcie kanałów i blokowanie pasywnego napływu Na^+ do pobudzonych neuronów, a w konsekwencji zakłócenie przewodzenia potencjału czynnościowego (Hall et al. 1990). Powinowactwo różnych

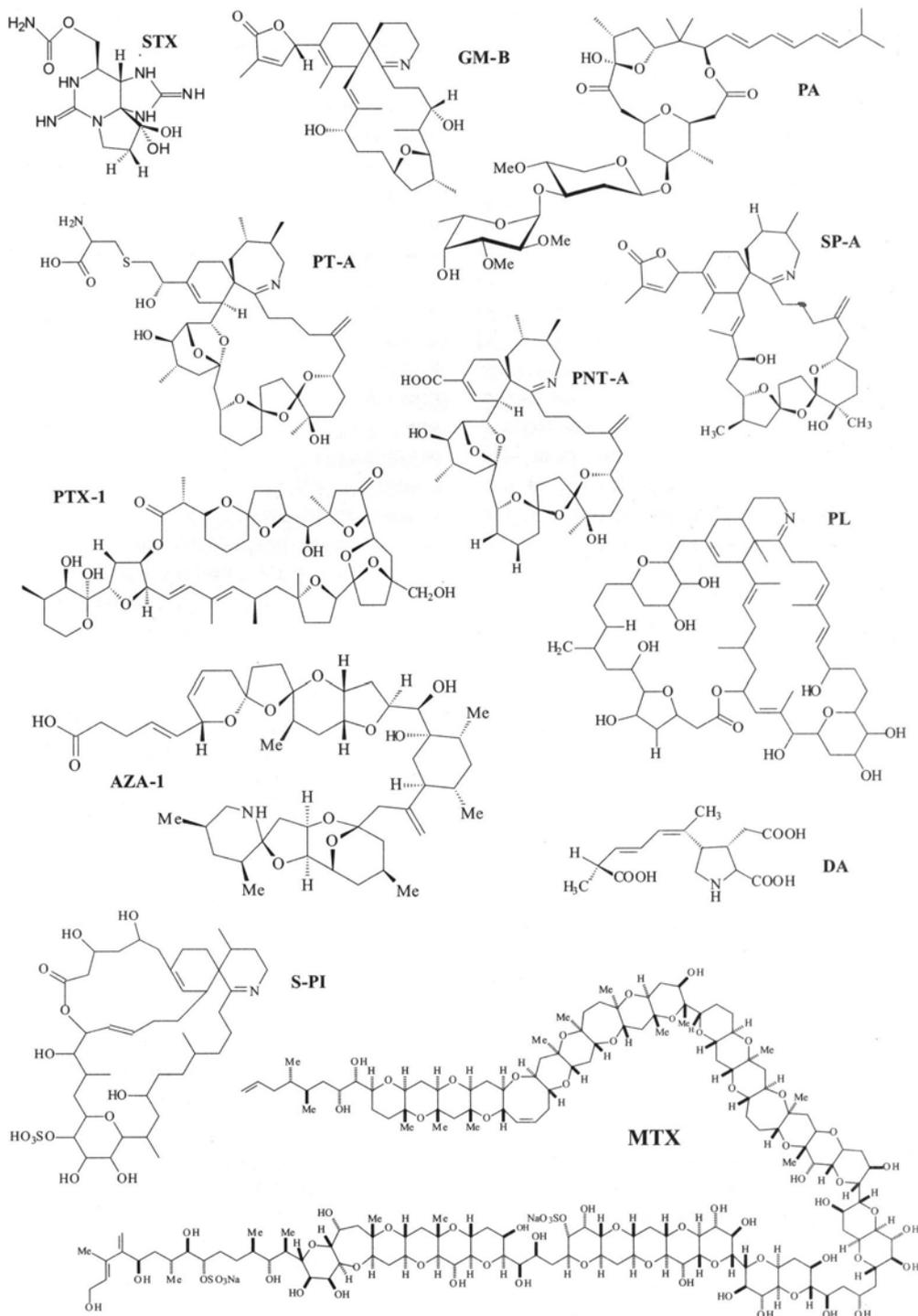
STX do receptora jest zróżnicowane. Toksyczność STX po ich spożyciu jest o kilkadziesiąt razy słabsza w porównaniu z iniekcją dootrzewnową (i.d.). LD_{50} wynosiła około 260 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała myszy (mcm) w przypadku dawkowania doustnego i około 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm po i.d. (Wiberg, Stephenson 1960). Pierwsze symptomy zatrucia ujawniają się po 5 do 30 min., a dalszy jego rozwój prowadził ostatecznie po 4 do 6 godz. do śmierci osobnika w następstwie paraliżu oddechowego. STX jest rozpuszczalna w wodzie i stabilna termicznie (Shimizu 2000). Stabilność struktury STX zależy od pH. W warunkach alkalicznego pH wszystkie związki z tej grupy ulegają szybkiej degradacji, nawet w temperaturze pokojowej. Zachowują one natomiast trwałość w pH kwaśnym, co oznacza, że STX w soku żołądkowym człowieka (pH 1–2) nie ulega żadnym przekształceniom. Poprzez gotowanie ryb, małży, krabów i innych zwierząt morskich zawierających STX można zredukować jej stężenie w tkankach nawet o 70%, głównie na skutek wylugowania toksyny do wody lub bulionu. Zawartość STX w morskich organizmach może osiągać wysokie wartości. W 2005 roku wykazano, że w małżach pochodzących z różnych rejonów przybrzeżnych Norwegii zawartość STX wynosiła nawet do 1600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ich ciała (UK Committee on Toxicity. Statement on risk assessment and monitoring of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in support of human health. Raport 2006).

TOKSYNY INDUKUJĄCE AMNEZJĘ

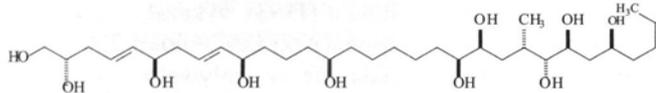
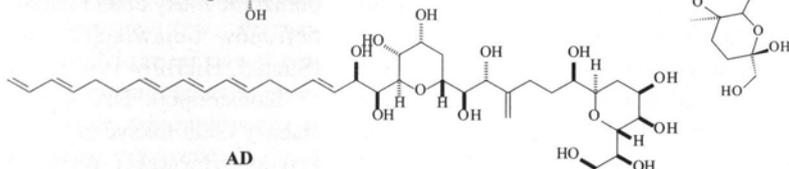
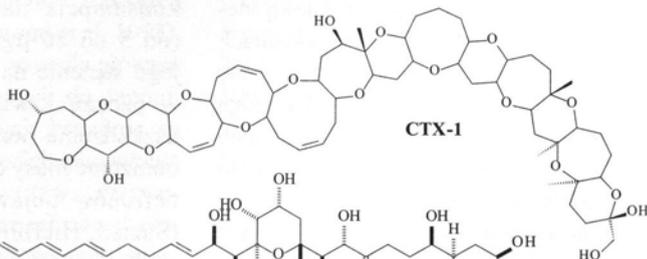
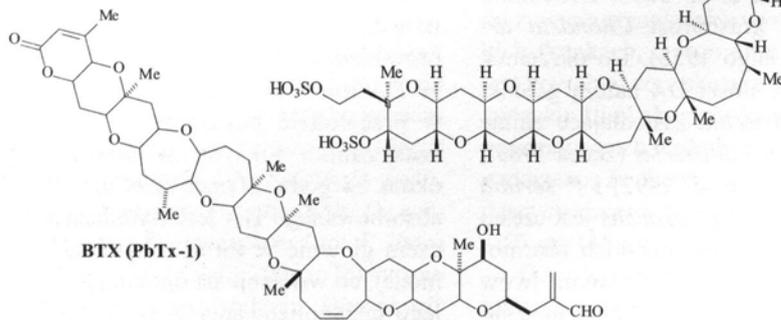
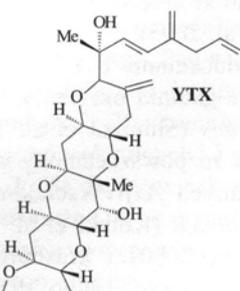
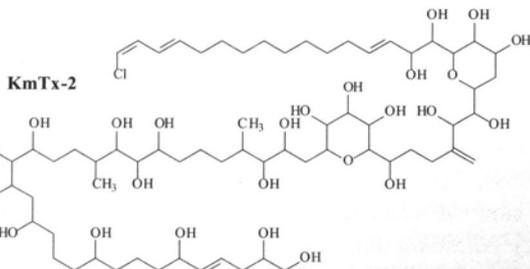
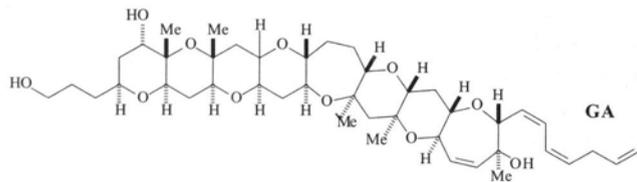
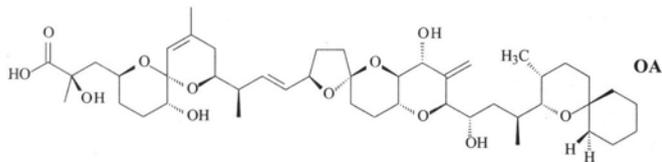
Do toksyn powodujących tego typu zatrucia należy kwas domoikowy (DA). Został

Ryc. 1. Budowa chemiczna toksyn syntetyzowanych przez glony morskie. STX – saksytoksyna, CM-B – gymnodimina (typ B), PA – polikawerozyd (typ A), PT-A – pteriatoksyna (typ A), SP-A – spiroolid (typ A), PNT – pinnatoksyna (typ A), PTX – pektenotoksyna (typ 1), PL – prorocentrolid, AZA-1 – azaspiracid (typ 1), DA – kwas domoikowy, S-PI – spiro-prorocentrimina, MTX – maitoksyna, OA – kwas okadaikowy, GA – gambierol, KmTx-2 – karlotoksyna (typ 2), YTX – yessotoksyna, BTX (PbTx-1) – brewetoksyna (typ PbTx-1), CTX-1 – ciguatoksyna (typ 1), AD – amfidinol (typ 3).

Fig. 1. Chemical structure of toxins synthesized by sea algae. STX – saxitoxin, CM-B – gymnodimine (type B), PA – poly-cavernoside (type A), PT-A – pteriatoxin (type A), SP-A – spirolide (type A), PNT – pinnatotoxin (type A), PTX – pectenotoxin (type 1), PL – prorocentrolide, AZA-1 – azaspiracid (type 1), DA – domoic acid, S-PI – spiro-prorocentrimine, MTX – maitoxin, OA – okadaic acid, GA – gambierol, KmTx-2 – karlotoxin (type 2), YTX – yessotoxin, BTX (PbTx-1) – brevetoxin (type PbTx-1), CTX-1 – ciguatoxin (type 1), AD – amphidinol (type 3).



Ryc. 1 (Fig. 1)



on zidentyfikowany jako toksyna, która w 1987 roku była przyczyną zatrucia ponad 100 osób po spożyciu przez nich małży na Wyspie Króla Jerzego (Kanada) (Perl et al. 1990, Todd 1993). Obecność DA wykazano w ciałach różnych gatunków mięczaków, krabów i homarów (FAO/IOC/WHO 2004). DA jest trikarboksylowym aminokwasem (Ryc. 1, DA), charakteryzującym się wieloma formami pochodnymi, do których należy kwas izodomoikowy (obecnie znanych jest sześć stereoizomerów A–F) (Maeda 1986) i domoikolaktony (A, B) (Maeda et al. 1987, Wright et al. 1990). Kwas izodomoikowy jest 12 do 20-krotnie słabiej toksyczny od DA (Holland et al. 2005).

Producentami DA i jego pochodnych są niektóre gatunki okrzemek, np. *Amphora coffeaeformis* (Shimizu et al. 1989), bentosowy gatunek rozpowszechniony w słonych wodach tropikalnych Azji Wschodniej *Nitzschia navis-varingica* (Kotaki et al. 2000, Lundholm, Moestrup 2000) i krasnorost *Chondria armata* (Takemoto, Daigo 1958). Do okrzemek produkujących duże ilości DA należą gatunki z rodzaju *Pseudonitzschia* zasiedlające zimne wody morskie, np. *P. multiseriata* (Bates 1989), *P. australis* (Garrison et al. 1992) i *P. seriata* (Lundholm et al. 1994). *P. australis* jest często przyczyną śmierci ptaków morskich (kormoranów, pelikanów) i kregowców (m.in. lwów morskich) (Worck 1993, Scholin 2000). Inne gatunki zaliczane do tego rodzaju produkują niewielkie ilości DA. Jak wykazano w badaniach laboratoryjnych, okrzemki charakteryzujące się zdolnością do intensywnej syntezy DA mogą w ciągu miesiąca produkować go w ilościach od 12 do 37 pg/komórkę, a pozostałe około 1 pg/komórkę (Bates 1989).

Do symptomów neurologicznych zatrucia przez DA należą: ból głowy, zaniki pamięci, ogólna dezorientacja, ataksja (utrzymująca się nawet przez kilka dni), tyfoidalne konwulsje, epilepsja, często już po godzinie występująca śpiączka (w około 70% przypadków), a śmierć następuje w czasie kilku dni (Halstead et al. 1965, Kao 1996). Już niewielkie stężenie DA w tkankach, wynoszące od 5 do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy

ciała, obniża zdolność odbioru sygnałów akustycznych. Ponadto mogą wystąpić niespecyficzne dolegliwości przewodu pokarmowego takie jak: nudności, wymioty, biegunka i skurcze mięśni brzusznych.

DA jest agonistą receptora glutaminowego w Na^+ -kanałach jonowych w błonach neuronów centralnego systemu nerwowego. Działa on jako analog kwasu glutaminowego lub proliny. Wiązanie DA do receptora glutaminowego w Na^+ -kanałach stymuluje ich otwarcie i niekontrolowany napływ Na^+ do neuronów. Prowadzi to do depolaryzacji błon i dodatkowo wzrostu stężenia Ca^{2+} , powodując śmierć neuronów (FAO/IOC/WHO 2004). Powinowactwo kwasu izodomoikowego do receptora glutaminowego jest około 240 razy niższe w porównaniu do aktywności DA. Obniżenie natężenia opisanych wyżej reakcji jest następstwem braku podwójnego wiązania pomiędzy atomami węgla 1'-2' w strukturze cząsteczki kwasu izodomoikowego (Hampson et al. 1992). Badania przeprowadzone na gryzoniach i małpach wykazały, że DA jest słabo (od 4 do 6%) absorbowany w przewodzie pokarmowym, a połowiczny czas zaniku toksyny w tkankach wynosił około 24 godz. (Truelove et al. 1997). Część absorbowanego DA jest wydalana wraz z moczem głównie w formie chemicznie niezmiennionej, co wskazuje na ograniczoną możliwość jego metabolizowania *in vivo*. Systematyczna konsumpcja nawet niewielkich dawek DA (od 5 do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała), utrzymująca jego stężenie na stosunkowo niskim poziomie w osoczu krwi, wywołuje jednak poważne uszkodzenia nerek. Dawki takie wpływają na obniżenie masy ciała i zmiany ultrastrukturalne nefronów objawiające się ich wakuolizacją (Suzuki, Hierlihy 1993).

Konsumpcja DA wywiera około 10 razy słabszy efekt toksyczny w porównaniu do iniekcji dootrzewnowej. Wyniki badań opisane przez Todd'a (1993) wykazały, że jednorazowe spożycie dawki DA w ilości 200–300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała nie wywoływało zauważalnych zmian neurologicznych. Wystąpienie słabych objawów obserwowano przy dawkach od 900 μg do

1,9 mg/kg masy ciała, a bardzo silne objawy zatrucia stwierdzono po spożyciu DA w ilościach od 2 do 4,2 mg/kg masy ciała. Opisany rezultat autorzy tłumaczą tym, że zaledwie niewielka ilość DA zostaje zaabsorbowana w przewodzie pokarmowym, a większość ulega wydaleni. DA ulega częściowej dekompozycji w temperaturze powyżej 50°C, a proces ten jest przyspieszany przez światło, tlen i ekstremalne wartości pH (<2 lub >12) (Maeda et al. 1987). O jego trwałości świadczy jednak fakt, że wodny roztwór DA przetrzymywany w ciemności, pH 5–7 i temperaturze 4°C nie ulegał degradacji nawet przez ponad rok.

TOKSYNY WYWOŁUJĄCE BIEGUNKĘ

Pierwsze opisane przypadki masowych zatruc tego typu toksynami odnotowano w latach 70-tych XX wieku w Japonii (Yasumoto et al. 1978) i Niderlandach (Kat 1979), a następnie w wielu innych regionach świata. Zatrucia ujawniły się po konsumpcji morskich gatunków mięczaków i krabów, które poprzez filtrowanie morskiej wody odżywiają się fitoplanktonem zawierającym bruzdnice z rodzajów *Dinophysis* (*D. acuminata*, *D. acuta*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. mitra*, *D. norvegica*, *D. rotundata*, *D. sacculus*, *D. tripos*) i *Prorocentrum* (np. *P. lima*) (Vale, Sampayo 2002, Vale 2006). Toksyczne gatunki planktonowego rodzaju *Dinophysis* występują w przeważającej mierze w morskich wodach Europy (Kat 1985, Egmond et al. 1993), natomiast rodzaj *Prorocentrum* zasiedla głównie wody w obszarach przylegających do Japonii (Yasumoto 1985). Gatunki tych bruzdnic są szeroko rozpowszechnione, ale ich pojawianie się nie jest ściśle skorelowane z tzw. „czerwonymi zakwitami morza”. Niemniej nawet niewielka liczba komórek konsumowanych przez małże może być przyczyną zakumulowania w nich toksyn. Wykazano to w przypadku *D. fortii*, których obecność w liczbie 200 komórek/l wywoływała już widoczne objawy zatrucia (Yasumoto 1985).

Do dominujących objawów tego typu zatrucia należą: biegunka, nudności, wymioty i silny ból

brzucha (Hamano et al. 1986). Występują one już po 30 minutach lub kilku godzinach po konsumpcji opisanych wyżej gatunków i ustępują w czasie kolejnych trzech dni. Zatrucia toksynami wywołującymi biegunkę mogą przechodzić w stan chroniczny. Do chwili obecnej nie udało się opracować żadnego skutecznego antidotum (Yasumoto 1985). Ten typ zatruc wywoływany jest przez kwas okadaikowy (OA) (Ryc. 1, OA) lub jego analogi takie jak dinofyzystoksyna – 1 (DTX-1), dinofyzystoksyna – 2 (DTX-2) bądź ich formy estrowe (Murata et al. 1982, Hu et al. 1992, Suzuki et al. 2004), występujące w różnych proporcjach u poszczególnych gatunków, a efekt ich toksycznego działania jest uzależniony również od regionu geograficznego. Pod względem budowy chemicznej należą one do lipofilnych polieterów zawierających 38 atomów węgla w cząsteczce, 17 centrów chiralnych i 3 spiroketony (Larsen et al. 2007). Są to związki stabilne termicznie. Wykazano, że OA po przeniknięciu do żywych organizmów występował we wszystkich tkankach, a jego eliminacja z organizmu jest powolna, co wskazuje na słabą mobilizację związku. Ilość akumulowanego OA w morskich bezkręgowcach może być wysoka. W 2002 roku wykazano, że tkanki morskich krabów pochodzących z rejonu Norwegii zawierały od 1,05 do 1,50 mg OA/kg masy ciała (Aune et al. 2004).

OA i jego analogi są specyficznymi inhibitorami serynowo/treoninowych fosfatyz białkowych PP 1 i PP 2A (Dounay, Forsyth 2002) jak również innych enzymów tej grupy (Bialojan, Takai 1988, Nishiwaki et al. 1990). Jest on około 1000 razy bardziej efektywny w hamowaniu aktywności PP 2A aniżeli PP 1 (Takai et al. 1992). Fosfatazy są enzymami włączonymi w regulację wielu komórkowych procesów poprzez sterowanie reakcjami defosforylacji białek (Fernández et al. 2002), modyfikując równocześnie stężenie ich form ufosforylowanych. Odgrywają one ważną rolę w wielu procesach regulatorowych w komórce, takich jak: metabolizm, transport błonowy, kurczliwość, sekrecja (Fujiki et al. 1988, Fernández et al. 2002). Fosforylacja jest posttranslacyjną modyfikacją białek ważnych dla regulacji wielu funkcji komórkowych,

między innymi: kontroli wzrostu, różnicowania, metabolizmu, transdukcji sygnałów oraz apoptozy (Fernández et al. 2002). Kinazy białkowe pośredniczą w reakcjach przyłączania reszty fosforanowej do aminokwasów: seryny, treoniny lub tyrozyny, podczas gdy fosfatazy białkowe umożliwiają odłączanie fosforu nieorganicznego (P_i). Poziom fosforylacji białek jest odwracalnie regulowany przez aktywność kinaz i fosfataz białkowych. Hamowanie aktywności fosfataz białkowych poprzez toksyny z grupy OA powoduje intensyfikację procesu fosforylacji białek (Bialojan, Takai 1988). Opisana reakcja jest przyczyną degeneracji i zmian w strukturze nabłonka jelitowego prowadzących w efekcie do biegunki (Aonuma et al. 1991). Wzrost poziomu ufosforylowanych białek cytoszkieletu komórek nabłonka jelit zmienia jego budowę, poprzez podwyższenie upakowania białek strukturalnych, obniżając jednocześnie przepuszczalność i wchłanianie roztworów, a w konsekwencji stymulując proces ich wydalania (Aune, Yndestad 1993, Fiorentini et al. 1996, Okada et al. 2000).

Toksyny z grupy OA są silnymi promotorami nowotworów: żołądka, jelit, okrężnicy, płuc (Nishiwaki et al. 1990, Stabell et al. 1991, Fernández et al. 2002) i skóry (Fujiki et al. 1988). Hamują one również proces mitozy (Egmond et al. 1993), wywierają efekty mutagenne (Aonuma et al. 1991) i immunotoksyczne, powodując supresję produkcji interleukiny-1 (Hokama et al. 1989). LD_{50} po i.d. wynosiło 200 μg OA/kg mcm, 140 μg DTX-1/kg mcm (FAO/IOC/WHO 2004) i około 350 μg DTX-2/kg mcm (Aune et al. 2007). Toksyczność DTX wzrastała wraz ze stopniem nienasylenia acylowych grup łańcucha węglowego.

Azaspiracid (AZA) został zidentyfikowany podczas badań prowadzonych nad zatruciami pacjentów w Holandii w 1995 roku po spożyciu przez nich małży importowanych z Irlandii (McMahon, Silke 1996, Satake et al. 1998). Toksyna ta jest produkowana przez morską heterotroficzną bruzdnicę *Protoperdinium crassipes*. AZA posiada strukturę połączonych polieterynych pierścieni (Ryc. 1, AZA). Wykazano

występowanie 11 analogów, różniących się nieznacznie rodzajami podstawników (-H, $-\text{CH}_3$, $-\text{OH}$) przy poszczególnych pierścieniach. Są to toksyny o niezwykle szerokim spektrum działania. Symptomy zatrucia (biegunka, wymioty, skurcze żołądka, bóle głowy) występują u ludzi po spożyciu skażonych małży w ciągu kilku godzin. Wykazano również ich opóźnione wielokierunkowe oddziaływanie. Związki te nie są zdolne do inhibicji aktywności fosfataz białkowych, dlatego część spośród badaczy nie zalicza ich do toksyn wywołujących biegunkę. Powodują one liczne zmiany na poziomie komórkowym, m.in. zniszczenie cytoszkieletu (Twiner et al. 2005), podwyższenie cytozolicznego poziomu jonów Ca^{2+} i cAMP (Roman et al. 2004). Są one przyczyną degeneracji: nabłonka i nekroz w tkankach jelit i limfocytach (grasica, śledziona), hepatocytów, redukcji granulocytów, zniszczenia komórek T i B w grasicy (FAO/IOC/WHO 2004). Modyfikują one wewnątrzkomórkowy poziom pH. AZA-1 jest potencjalnym teratogenem dla ryb (Colman et al. 2005). Związki te podwyższają masę wątroby poprzez jej otłuszczenie oraz inicjują powstawanie nowotworów płuc (Ito et al. 2000) i hiperplazję żołądka. Indukują anoreksję, a redukcja perystaltyki jelit jest powodem akumulacji w nich gazów. Ponadto wywoływały one również objawy neurologiczne (McMahon, Silke 1996). Reakcje chorobowe obserwowano u ludzi już po spożyciu stosunkowo niewielkich dawek od 23 do 86 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała. Charakterystyczną cechą oddziaływania toksyny jest to, że po pierwszych kilku godzinach po jej spożyciu brak jest zauważalnych objawów, a następnie występuje silne osłabienie. LD_{99} dla AZA-1 wynosiła od 250 do 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm (Ito et al. 2000). Kilkakrotne przyjęcie mniejszej dawki, nawet do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm, prowadziło do śmierci w ciągu następnych kilku tygodni lub miesięcy. Koncentracja związków wyizolowanych z 1 kg hodowlanych małży szelfowych z rejonów Irlandii wynosiła w 2001 roku: AZA-1 – 1,14 mg, AZA-2 – 270 μg i AZA-3 – 60 μg (Food Safety Authority of Ireland: Risk assesment of azaspiracides (AZAs) in shellfish. February 2001).

TOKSYNY O DZIAŁANIU NEUROLOGICZNYM

BREWETOKSYNA

Brewetoksyna (BTX) jest produkowana przez planktonowe bruzdnice należące do rodzaju *Karenia*: *K. brevis* (Steidinger 1973), *K. digitata*, *K. longicanalis* (Yang et al. 1998, 2000), *K. mikimotoi* (Hansen et al. 2000) oraz gatunki występujące głównie w wodach Pacyfiku należące do *Rhaphidophyceae*: *Chattonella marina*, *Fibrocapsa japonica*, *Heterosigma akashiwo* (Khan et al. 1995, 1996, 1997). Zakwity *K. brevis* obserwowano również w słodkowodnych zbiornikach. Gatunek ten bardzo dobrze rozwija się w oligotroficznym wodach oceanicznych (Campbell, Hetland 2006). W słodkowodnych zbiornikach wykazywano szczególnie rodzaj korelacji w jego występowaniu – wzrost liczebności obserwowano po obfitych opadach deszczu, wraz z obniżeniem stężenia nutrientów (Dixon, Steidinger 2004). Masowy rozwój organizmów tworzących zakwity wystąpił w latach: 1996–2000 w wodach Zatoki Meksykańskiej, 1992–1993 w rejonie północnej Nowej Zelandii oraz w latach 70-tych XX wieku w wodach przybrzeżnych zachodniej Florydy (FAO/IOC/WHO 2004). Spowodowały one liczne neurotoksyczne zatrucia, wymieranie hodowlanych i morskich ryb (Onue et al. 1990, Ahmed et al. 1995), morskich bezkręgowców i ssaków, w tym delfinów (Gunter et al. 1948, Steidinger 1973, Geraci 1989). Zawartość od 100 do 250 tys. komórek *K. brevis*/l wody była wystarczająca do zabicia ryb (Ly et al. 2004). Historycznie najstarsze opisy czerwonych zakwitów morza, stowarzyszone z przypadkami masowej śmierci ryb, pochodzą z 1530 roku (Magaña et al. 2003). *K. brevis* posiada fotoprotekcyjny mechanizm ochraniający te organizmy przed skutkami napromieniowania UV. Polega on na włączeniu systemu umożliwiającego rozpraszanie aktywnych form tlenu (Evens et al. 2001). BTX jest cyklicznym polieterem (Ryc. 1, BTX) (Rein, Snyder 2006). Na podstawie różnic w strukturze chemicznej i biotoksyczności BTX dzieli się na

dwa podtypy związków: A (PbTx-1 i PbTx-7) i B (PbTx-2, PbTx-3 i PbTx-9) (Shimizu et al. 1974, Landsberg 2002). W środowisku naturalnym przeważa synteza podtypu B nad A. Stwierdzono, że około 60% produkowanej BTX przez *K. brevis* jest uwalniane do środowiska zewnętrznego. Wysoka zawartość tych związków w wodzie wywoływała u ludzi podrażnienia i spowolnienie oddychania w następstwie przyjmowania BTX w formie aerozolowej wraz z wodą morską (Pierce et al. 2001). Wykazano, że 1 litr wody morskiej może zawierać 3 µg PbTx-2 i 1 µg PbTx-3, natomiast w formie aerozolowej 1 m³ powietrza na plażach Florydy zawierał 2–5 ng PbTx-2 i 20 ng PbTx-3 (Pierce et al. 2005). Stężenie BTX w powietrzu może być bardzo zmienne np. w 1 m³ przy nabrzeżu Teksasu w 2001 roku wynosiło 3 ng, a w 2003 roku na plażach Florydy w okresie czerwonego zakwitu *K. brevis* 37 ng (Backer et al. 2003).

BTX jest po spożyciu łatwo absorbowana w przewodzie pokarmowym i rozprowadzana do tkanek w całym organizmie. Jej akumulację stwierdzono w mięśniach szkieletowych, wątrobie i jelitach, a nieco później w płucach, nerkach i innych organach (Poli et al. 1990, Cattet, Geraci 1993). Toksyna ta wiąże się z α -podjednostką Na⁺-kanałów jonowych zależnych od napięcia, co powoduje napływ Na⁺ do neuronów (Baden, Trainer 1993) i depolaryzację ich błon (Radwan, Ramsdell 2006). Pierwsze objawy zatrucia są nietypowe, wywołują początkowo nudności, biegunki i bóle brzucha, a dopiero w następnym stadium choroby pojawiają się reakcje neurologiczne, takie jak: nadwrażliwość, zawroty głowy i brak koordynacji ruchu. Objawy te występują w czasie od kilku minut do kilku godzin po spożyciu BTX (Templeton et al. 1989). Toksyna ta oddziałuje na sympatyczny i parasympatyczny układ nerwowy. Proces oddychania hamowany jest przez działanie na autonomiczne dośrodkowe zwoje, regulujące śródmózgowe centrum oddechowe. W dalszej kolejności wpływ na śródmózgowie i/lub na blokowanie przewodnictwa nerwowego (Ramsdell 2007).

W przypadku brewetoksyny LD₅₀ po przyjęciu doustnym wynosiła na 1 kg mcm: 6,6 mg PbTx-2 i 0,52 mg PbTx-3, a po iniekcji dootrzewnowej odpowiednio 200 µg PbTx-2 i 170 µg PbTx-3 (Aune et al. 2007).

MAKROCYKLICZNE IMINY

Makrocykliczne iminy są heterogenną grupą toksyn produkowanych przez bentosowe i planktonowe morskie bruzdnice. Posiadają one w strukturze chemicznej funkcjonalną cykliczną grupę iminową z podwójnym wiązaniem zlokalizowanym pomiędzy atomami węgla i azotu, co warunkuje ich aktywność biologiczną (Hu et al. 1996a). Do tej klasy związków zaliczane są: spirolidy (Hu et al. 1995, 2001), gymnodiminy (Seki et al. 1995), pinnatoksyny (Umehuar et al. 1995, Takada et al. 2001b), pteriatoksyny (Takada et al. 2001a), prorocentrolidy (Hu et al. 1996b, Torigoe et al. 1998) i spiro-prorocentriminy (Lu et al. 2001). Każda z tych toksyn posiada od kilku do kilkunastu analogów wykazujących nieznaczne różnice w budowie chemicznej, zmieniające jednak stopień ich toksyczności. Porównanie szkieletu cyklicznych imin wykazuje wysokie strukturalne podobieństwo (np. aż około 70% homologii pomiędzy pinnatoksynami i spirolidami). Makrocykliczne iminy wykazują kilka wspólnych cech – charakteryzuje je sześć- lub siedmioczłonowy iminopierścień połączony spiro-wiązaniem z cykloheksenyłowym pierścieniem (wyjątek stanowią prorocentrolidy z kondensującym pierścieniem) zawierającym podstawnik w położeniu para. Obydwa pierścienie powiązane są z makropierścieniem zawierającym 16–27 atomów węgla oraz pięcio- lub sześcioczłonowe cykloetery. Prorocentrolidy i spiro-prorocentriminy są makrocyklicznymi laktunami. Pierścień laktonowy ulega łatwo otwarciu w niskim pH, podobny proces zachodzi po spożyciu podczas enzymatycznej hydrolizy tego związku w żołądku. Dlatego też toksyny z tej klasy są po konsumpcji mniej toksyczne aniżeli po i.d. (Hu et al. 2001). Substancje te wykazują silne powinowactwo do muskarynowych acetylocholinowych receptorów zlokalizowanych

w błonach neuronów, tym tłumaczy się szybkie działanie toksyn (Richard et al. 2001). Opisana wyżej reakcja jest zależna od ich stężenia, podlega równocześnie regule wartości bodźca „wszystko albo nic”.

Spirolidy (Ryc. 1, SP) są produkowane przez powszechnie występującą w wielu akwenach morskich bruzdnicę *Alexandrium ostenfeldii* (Cembella et al. 1999, 2000, 2001). Do rozwoju wymaga ona wysokiego stężenia nieorganicznych związków azotu, wysokiego stopnia zasolenia (~ 30 psu) oraz natężenia promieniowania fotosyntetycznie aktywnego (PAR) o wartości około 100 µmol · m⁻² · s⁻¹. Zawartość spirolidów w komórce bruzdnicy wahała się od 0 do 282 fmoI. Do objawów zatrucia powodowanego przez spirolidy należą: biegunka, zaniki równowagi, nadaktywność ruchowa, płacz, konwulsje, wytrzeszcz oczu i zaburzenia procesu oddychania. Po zastosowaniu LD₉₉ śmierć następowała po upływie od 3 do 20 min. Obecnie znanych jest siedem głównych analogów spirolidów (A–G), a wśród nich dodatkowo występują liczne formy różniące się nieznacznie budową chemiczną (Hu et al. 1995, 1996a). Najbardziej toksycznym związkiem z tej grupy jest demetylowany spirolid C, dla którego LD₅₀ wynosiła w µg/kg mcm: od 5 do 8 po i.d., w przypadku karmienia sondą – 160 i 500 w wyniku karmienia doustnego.

Gymnodimina (Ryc. 1, GM) należy do lipofilnych toksyn i jest produkowana przez bruzdnicę *Gymnodinium* sp. (Umehuar et al. 1995, McKenzie et al. 1996) i przez *G. mikimotoi*. Obydwa gatunki występują w wodach Pacyfiku i otaczających Europę. Do wywoływanych przez nią objawów zatruc należą: nerwowość, paraliż, konwulsje, upośledzenie procesu oddychania, wytrzeszcz oczu i śmierć (Miles et al. 2000, Munday et al. 2004). Gymnodimina aktywuje Na⁺-kanały jonowe w błonach neuronów, działa jednak słabiej niż brewetoksyna (Hu et al. 1996a). Jest ona krótkotrwale działającym inhibitorem cholinesterazy. LD₅₀ wynosiła w jej przypadku około 100 µg/kg mcm po i.d. (Munday et al. 2004), a po doustnym dawkowaniu 775 µg/kg mcm (Stewart et al. 1997). Po

zastosowaniu dawki LD₉₉ po i.d. już po 1 min. następował całkowity paraliż badanych organizmów. Neo- i fyzostymina ochraniały myszy przed efektami wywieranymi przez tę toksynę (Munday et al. 2004).

Pinnatoksyna (Ryc. 1, PNT) została wyizolowana z małży *Pinna muricata* i innych gatunków należących do tego rodzaju, zamieszkujących wody różnych regionów świata. Jak wykazano toksyna ta jest syntetyzowana przez bruzdnice (Hu et al. 1996a, Cembella et al. 1999, 2001). Jest ona aktywatorem Ca²⁺-kanałów jonowych. LD₉₉ wynosiła dla niej od 135 do 180 µg/kg mcm po i.d. W dostępnej dotychczas literaturze brak jest informacji o wywoływanych przez nią symptomach zatruc.

Pteriatoksyna (A–C, Ryc. 1, PT) bruzdnicowego pochodzenia została wykryta u małży *Pteria penguin*, występującego powszechnie w różnych regionach geograficznych (Rühl 2001). LD₅₀ po i.d. wynosiła dla pteriatoksyny A 100 µg/kg mcm, a dla pteriatoksyny B + C (mieszaniny obydwu w równych ilościach) 8 µg/kg mcm.

Prorocentrolid (Ryc. 1, PL) produkowany jest przez gatunki bruzdnic z rodzaju *Prorocentrum*: *P. lima* (Torigoe et al. 1998, Verschinin et al. 2006) i *P. maculatum* (Hu et al. 1996b, Verschinin et al. 2006), występujących w rejonach Japonii i Tajwanu. Produkcja tych toksyn ograniczona jest do bentosowych i epifitycznych gatunków, które nie wykazują tendencji do tworzenia zakwitów (Hu et al. 1996b, Torigoe et al. 1998, Lu et al. 2001). Toksyne tej grupy charakteryzuje niezwykle szybkie działanie i niski próg toksyczności.

Spiro-prorocentrimina (Ryc. 1, S-PI) produkowana jest przez symbiotyczne i niesymbiotyczne gatunki z rodzajów *Prorocentrum* i *Symbiodinium*, występujące w rejonie Tajwanu i Japonii (Kita et al. 2005). Dotychczas nie przeprowadzono systematycznych badań nad jej działaniem i właściwościami fizykochemicznymi. Torigoe i współautorzy (1998) określili LD₉₉ na poziomie 400 µg/kg mcm po i.d., a śmierć spowodowana tą toksyną następowała już po kilku minutach.

TOKSYNY O DZIAŁANIU DERMATOLOGICZNYM I HEMOLITYCZNYM

Zakwity powodowane przez kilka gatunków bruzdnic, m.in. *Pfiesteria piscicida* (Burkholder et al. 1992), *Karlodinium veneficum*, *K. micrum* (Daugbjerg et al. 2000), *Amphidinium carterae* (Echigoya 2005), powodowały masową śmierć ryb i innych zwierząt morskich oraz były przyczyną licznych zatruc ludzi. Przypadki takie odnotowano w 1997 roku w stanie Maryland (USA) spowodowane przez *P. piscicida*, a w latach 2005–2006 w Corsica River przez *K. veneficum*. Stwierdzono, że gatunki te często występują wspólnie. Efektem oddziaływania toksyn produkowanych przez te gatunki bruzdnic jest na początkowym etapie uszkodzenie komórek nabłonka i skóry poprzez tworzenie porów w ich błonach, a następnie proliferacja w innych typach komórek. Brak osmotycznej równowagi powodował hemolizę rybich erytrocytów i niezdolność do wydajnej absorpcji tlenu (Deeds et al. 2002). Ponadto toksyny te są przyczyną zaniku funkcji neurologicznych, a indukowane objawy są podobne do ujawnianych podczas choroby Alzheimera i ostatecznie prowadzą do śmierci organizmów (Burkholder et al. 1992, Steidinger et al. 1996, Burkholder, Glasgow 1997). Innymi symptomami mogą być astma, bóle mięśni i skurcze żołądka. Przywrócenie normalnych funkcji fizjologicznych organizmu wymaga dni lub miesięcy. Toksyne te, oprócz przypadków spożycia skażonych ryb, dostają się do organizmu człowieka także poprzez wdychanie w formie wodnych aerozoli z otaczającej atmosfery lub na skutek irygacji oraz bezpośredniego kontaktu ze skórą.

P. piscicida produkuje jedną lub więcej toksyn, ale do chwili obecnej nie udało się uzyskać tych związków w formie czystej. Mają one charakter lipofilny. W ich skład wchodzi kompleks Cu²⁺ z ligandem o różnej budowie. Masa molekularna toksyny jest wyższa od 10 kDa (McClellan-Green 1998). Bruzdnica ta może być mikro- lub heterotrofem, a w odróżnieniu od innych glonów nie daje barwnych zakwitów

(z powodu braku lub nieznacznej zawartości chlorofilu) nawet przy dużym zagęszczeniu komórek (Feinstein et al. 2002). Posiada ona wakuole odżywcze i pobiera pokarm przez fagocytozę. Wykazuje ona skomplikowany cykl życiowy złożony z 24 stadiów rozwojowych, charakteryzujących się między innymi występowaniem form posiadających wici, ameboidalnych lub cyst (Litaker et al. 2002). Poszczególne stadia rozwojowe charakteryzuje zróżnicowanie stopnia toksyczności: od całkowicie nietoksycznych (Marshall et al. 2000), poprzez pośrednie, aż do silnie toksycznych. Ryby lub pochodząca z nich materia stanowi dla *Pfiesteria* sp. swoisty atraktant wykorzystywany w reakcji chemotaktycznej. Usunięcie go ze środowiska zakłóca również cykl rozmnażania płciowego tego gatunku, a zoospory podlegają w takich warunkach przemianie do bentosowych stadiów ameboidalnych (Burkholder, Glasgow 1997, Cancellieri et al. 2001).

K. veneficum jest powszechnie występującą bruzdnicą, obecną w akwenach morskich w różnych częściach świata, produkującą karlotoksynę (Ryc. 1, KmTx). KmTx odkryto już w latach 50-tych XX wieku (Ballantine 1956). Podobnie jak amfidinol, KmTx jest poliketonem o masie molekularnej 1322–1344 Da, dobrze rozpuszczalnym w wodzie i silnie przyzepiającym się do podłoża (w kulturach *in vitro* np. do szkła, plastiku, teflonu). Stężenie KmTx w czasie zakwitów *K. veneficum* może dochodzić nawet do 1,8 mg/l wody. Zakwity występują w wodach eutroficznych charakteryzujących się wysoką temperaturą i zasoleniem (> 25 ppt) oraz dużą zawartością nieorganicznych form azotu i fosforu (>1 mM) (Thompson, Hosja 1996).

GRUPA TOKSYN POWODUJĄCYCH CIGUATERĘ

Ciguatera jest chorobą prowadzącą do masowej śmierci ryb w wodach Pacyfiku pomiędzy 35°N i 35°S szerokości geograficznej (Lewis 2001, 2006). Nazwa pochodzi od węża określanego w języku ludności tubylczej „cigua” (Hashimoto 1979). U ludzi choroba jest

następstwem konsumpcji skażonych ryb. Choroba ta, powszechnie występująca w regionach tropikalnych, była opisywana już od około 1500 roku. Rocznie ulega zatruciu od 50 do 500 tys. osób (Fleming et al. 1998). Ciguatera jest wywołana przez kilka rodzajów toksyn, często o odmiennych mechanizmach działania i powodujących występowanie różnych symptomów: gastrycznych – nudności, wymiotów, biegunki, bólu brzucha, które ustępują po 12–24 godz. po spożyciu ryb (Hokama 1988), neurologicznych – zaniku pamięci, mentalnej niewydolności, niepokoju (Karalis et al. 2000, Arena et al. 2004)], kardiologicznych – hipotensji, brachykardii, szybkiego oddechu, a następnie jego zahamowania (Lange 1987, DeFusco et al. 1993, Habermehl et al. 1994) i innych – ogólnego osłabienia, wahania temperatury, bólów nóg, obłuznienia zębów (Poon-King et al. 2004). Pacjenci po przejściu choroby odczuwali zmęczenie trwające przez miesiące, a nawet lata (Gillespie et al. 1986). Ciguatoksyna (Ryc. 1, CTX) jest lipofilnym polieterem i obecnie poznano 29 jej analogów (Yasumoto 2001). Produkowana jest przez bruzdnicę *Gambierdiscus toxicus* (Adachi, Fukuyo 1979) i epifityczny krasnorost *Jania* sp. (Yasumoto et al. 1977). CTX jest agonistą Na⁺-kanałów jonowych. Powoduje ona ekstremalną letalność, a LD₉₉ wynosiła 0,25 µg/kg mcm przez i.d. (Murata et al. 1990).

Maitoksyna (Ryc. 1, MTX) jest policyklicznym eterem zawierającym w cząsteczce połączone 32 wysyczone pierścienie eterowe, 28 grup hydroksylowych, a na obydwu końcach cząsteczki znajdują się łańcuchy węglowodorowe (Gallimore, Spencer 2006). Stwierdzono występowanie trzech analogów tej toksyny. Jest dobrze rozpuszczalna w wodzie i stabilna w alkalicznym pH. Nazwa jej pochodzi od ryby z rodzaju pokolec (*Ctenochaetus striatus*), w języku Taiów „maito”. MTX wywołuje objawy gastryczne, a nie neurologiczne, co odróżnia ją od CTX. W ciągu roku około 20 tys. osób ulega zatruciu wywołanym przez tę toksynę. LD₉₉ po i.d. wynosiła 50 ng/kg mcm, co sprawia, że jest zaliczana do bardzo silnych toksyn. Jest ona akumulowana w wątrobie ryb. Producentem

MTX jest *Gambierdiscus toxicus* (Holmes et al. 1990). MTX jest niespecyficznym aktywatorem Ca^{2+} -kanałów jonowych zależnych od napięcia, modyfikuje zmiany w stężeniu jonów Ca^{2+} i Na^{+} w komórkach, powodując silną depolaryzację ich błon. Aktywuje fosfolipazę C, powodując wzrost poziomu fosfatydyloinozytoli (szczególnie IP_3) (Gusovsky et al. 1989). Jest to przyczyną dodatkowego wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} w cytoplazmie (uwalnianego z wewnątrzkomórkowych magazynów).

Gambierol (Ryc. 1, GA) jest lipofilnym politerem produkowanym przez bruzdnicę *Gambierdiscus toxicus* (Satake et al. 1993). Wywołuje on efekty letalne, a LD_{99} wynosiła 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm po i.d. Oddziałuje on na Na^{+} - (Louzao et al. 2006) i K^{+} -kanały jonowe (Ghiaroni et al. 2005) zależne od napięcia. Toksyna ta wiąże się ze specyficznymi miejscami α -podjednostki receptora w kanałach jonowych, prowadząc do ich otwarcia oraz zapobiega zamykaniu już otwartych kanałów, co skutkuje ich nieprzerwaną aktywnością. GA wywołuje efekty destruktywne w różnych organach człowieka (wątroba, nerki, płuca, serce) bez objawów biegunki.

Objawy podobne do ciguateru wywołuje polikawernozyd (Ryc. 1, PA). Jest on syntetyzowany przez krasnorost *Polycavernosa tsudai* (syn. *Gracilaria edulis*) (Yotsu-Yamashita et al. 1993). Związek ten jest makrolidowym pięcioczłonowym cyklohemiacetylowym aglikonem z grupą ketonową przy C_9 , łańcuchem węglowodorowym przy C_{15} oraz dołączoną do C_5 *O*-metylowaną lub *O*-acetylowaną L-fukozylo-D-ksylozo podjednostką cukrową. PA jest częstą przyczyną zatrucia na Wyspie Guam. LD_{50} wynosiła od 200 do 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm po i.d. Wywoływane jej działaniem zatrucia objawiają się symptomami gastrycznymi (biegunka, sinica), neurologicznymi (ślinienie, płacz) i związanymi z oddziaływaniem na parasympatyczny układ nerwowy.

Oprócz powyżej opisanych, stwierdzono również występowanie innych toksyn wywołujących ciguaterę. Nie udało się jednak dokładniej scharakteryzować ich właściwości fizykochemicznych. Są one produkowane przez

epifityczne i bentosowe gatunki bruzdnic. Należą do tej grupy: prorocentrolid (produkowany przez *Prorocentrum* spp.) (Hu et al. 1996b), cooliatoksyna (produkowana przez *Coolia monotis*) (Holmes et al. 1995), palytoksyna (syntetyzowana przez *Ostreoisia siamensis*) (Usami et al. 1995) i amfidinol (Ryc. 1, AD) (produkowana przez *Amphidinium* spp.) (Paul et al. 1996).

TOKSYNY POWODUJĄCE INNE EFEKTY CHOROBY

Pektenotoksyna (Ryc. 1, PTX) jest lipofilnym makrocyklicznym laktonem produkowanym przez niektóre gatunki należące do rodzajów *Dinophysis* i *Prorocentrum* (Draisci et al. 1996). Obecnie znanych jest 15 analogów PTX. Do najbardziej toksycznych należy PTX-2, dla której LD_{50} wynosiła 230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mcm po i.d. (Hamano et al. 1985). Dawka wywołująca podobny efekt po spożyciu wynosiła około 5 mg/kg, co wskazuje, że jest to związek słabo toksyczny. PTX jest hepatotoksyną powodującą powstawanie nekroz hepatocytów w peryferycznych częściach wątroby (Terao et al. 1986), redukcję jej wagi i podwyższenie aktywności aminotransferaz (Yoon, Kim 1997). Stymuluje ona depolimeryzację aktyny i mikrotubul cytoszkieletu (Zhou et al. 1994) bez równoczesnej zmiany aktywności fosfataz białkowych.

Yessotoksyna (Ryc. 1, YTX) jest policyklicznym eterem złożonym z ponad 10 przylegających do siebie pierścieni eterowych (Murata et al. 1987). Budową jest ona zbliżona do brewetoksyny i ciguatoksyny (Draisci et al. 2000). Znanych jest 30 analogów tego związku. Produkowana jest przez bruzdnicę *Patinopecten yessoensis* oraz gatunki należące do rodzaju *Prorocentrum* (*P. reticulatum*, *P. canaliculus*) oraz *Gonyaulax* (*G. spinifera*, *G. membranacea*, *G. digitale*) (Rhodes et al. 2006). YTX powoduje zniszczenie mięśnia sercowego poprzez jego wakuolizację, opuchnięcie i obrzęk wewnątrzkomórkowy. Ponadto wywołuje: opuchnięcie wątroby, jej żółte zabarwienie (już w ciągu godziny po podaniu) (Terao et al. 1990), wzrost poziomu tłuszczu, peroksydację lipidów

w błonach hepatocytów, zmiany strukturalne w nerkach i trzustce oraz depolimeryzację filamentów aktyny (Franchini et al. 2004). Jest ona związkiem słabo toksycznym. LD₅₀ wynosiła 100 µg/kg mcm po i.d. oraz 2,5–10 mg/kg mcm po spożyciu (Ogino et al. 1997). YTX podwyższa poziom Ca²⁺ w cytoplazmie, pochodzącego zarówno z zewnątrz- jak i wewnątrzkomórkowych magazynów (Rosa et al. 2001). Stan taki stymuluje podwyższenie aktywności fosfodiesterazy i cykazy adenylowej (Malagoli, Ottaviani 2004).

UWAGI KOŃCOWE

Intensywne studia, prowadzone głównie w drugiej połowie XX wieku i obecnie, pozwoliły na poznanie struktury chemicznej i mechanizmu działania wielu toksyn produkowanych przez morskie organizmy. Poprzez zastosowanie coraz bardziej czułych technik analitycznych liczba odkrywanych związków toksycznych systematycznie wzrasta. Można też oczekiwać w najbliższym czasie poznania wielu nowych metabolitów wtórnych, o bioaktywnym potencjale, produkowanych przez morskie glony. Z uwagi na znaczne poszerzenie wiedzy o ich potencjalnych zagrożeniach, wydaje się koniecznym wdrażanie programów monitorowania zakwitów wód morskich, powodowanych przez masowy rozwój glonów w strefie szelfowej, w celu ochrony zdrowia publicznego i ograniczenia strat ekonomicznych (włączając monitoring: oceanograficzny, warunków środowiska, toksyczności fitoplanktonu i obecności toksyn w żywności pochodzenia morskiego). Lepsza znajomość gatunków glonów syntetyzujących toksyny, ich biologii oraz wprowadzanie metod ograniczających rozwój zakwitów mogłyby w przyszłości pozwolić na zmniejszenie efektów chorobowych oraz częstotliwości występowania zatruć zwierząt morskich i ludzi.

LITERATURA

- ADACHI R., FUKUYO Y. 1979. The thecal structure of marine toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et. spp. nov. collected in a ciguatera-endemic area. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **45**: 67–71.
- AHMED M. D. S., ARAKAWA O., ONOUE Y. 1995. Toxicity of cultured *Chattonella marina*. W: P. LASSUS, G. ARZUL, E. ERARD, P. GENTIEN, C. MARCAILLOU (red.), Harmful marine algal blooms. Lavosier Intercept Ltd. Pub., Paris, s. 499–504.
- AONUMA S., USHIJIMA T., NAKAYASU M., SHIMA H., SUGIMURA T., NAGAO M. 1991. Mutation induction by okadaic acid, a protein phosphatase inhibitor in CHL cells, but not in *S. typhimurium*. *Mutation Research* **250**: 375–381.
- ARENA P., LEVIN B., FLEMING L. E., FRIEDMAN M. A., BLYTHE D. 2004. A pilot study of the cognitive and psychological correlates of chronic ciguatera poisoning. *Harmful Algae* **3**: 51–61.
- AUNE T., YNDESTAD M. 1993. Diarrhetic shellfish poisoning. W: J. R. FALCONER (red.), Algal toxins in seafood and drinking water. Academic Press, London, s. 87–104.
- AUNE T., LARSEN S., AASEN J. A. B., REHMANN N., SATAKE M., HESS P. 2007. Relative toxicity of dinophysistoxin-2 (DTX-2) compared with okadaic acid, based on acute intraperitoneal toxicity in mice. *Toxicon* **49**: 1–7.
- AUNE T., TORGENSEN T., AASEN J., CASTBERG T., NAUSTVOLL L. J., WOLL A. 2004. Risk assesment of DSP toxins in brown crabs (*Cancer pagurus*). W: K. HENSHILWOOD, B. DEEGAN, T. MCMAHON, C. CUSACK, S. KENAENEY, J. SILKE, M. O'CONNOR, D. LYONS, P. HESS (red.), Molluscan shellfish safety. Proceedings of the 5th International Conference of Molluscan Shellfish Safety, Galway, Ireland, June 14–18. National University of Ireland, Galway, s. 464–468.
- BACKER L. C., FLEMING L. E., ROWAN A. 2003. Recreational exposure to aerosolized brevetoxins during Florida red tide events. *Harmful Algae* **2**: 19.
- BADEN D. G., TRAINER V. L. 1993. The mode of action of toxins and seafood poisoning. W: J. R. FALCONER (red.), Algal toxins in seafood and drinking water. Academic Press, London, s. 49–74.
- BALLANTINE D. 1956. Two new marine species of *Gymnodinium* isolated from the Plymouth area. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **35**: 467–470.
- BATES S. S. 1989. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**: 1203–1215.
- BIALOJAN C., TAKAI A. 1988. Inhibitory effect on marine sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. *Biochemical Journal* **256**: 283–290.
- BIBLIA 1975. Druga Księga Mojżeszowa, 7 werset, wiersz 20–21. Brytyjskie i Zagraniczne Towarzystwo Biblijne, Warszawa, s. 69.

- BURKHOLDER J. M., GLASGOW H. B. 1997. *Pfiesteria piscicida* and other *Pfiesteria*-like dinoflagellates: behavior, impacts, and environmental controls. *Limnology and Oceanography* **42**: 1052–1058.
- BURKHOLDER J. M., MASON K. M., GLASGOW H. B. 1992. New 'phantom' dinoflagellate is the causative agent of major estuarine fish kill. *Nature* **358**: 407–410.
- CAMPBELL L., HETLAND R. D. 2006. Convergent blooms of *Karenia brevis* along the Texas coast. W: L. CAMPBELL (red.), Proceedings of the 12th International Conference on Harmful Algae, Copenhagen, Denmark, September 4–6, 2006. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 7–10.
- CANCELLIERI P. J., BURKHOLDER J. M., DEAMER-MELIA N. J., GLASCROW H. B. 2001. Chemosensory attraction of zoospores of the estuarine dinoflagellates, *Pfiesteria piscicida* and *P. shumwayae*, to fish mucus and excreta. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **264**: 29–45.
- CATTET M., GERACI J. R. 1993. Distribution and elimination of ingested brevetoxin (PbTx-3) in rats. *Toxicol* **31**: 1483–1486.
- CEMBELLA A. D., LEWIS N. J., QUILLIAM M. A. 1999. Spirolide composition of micro-extracted pooled cells isolated from natural plankton assemblages and from cultures of the dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. *Natural Toxins* **7**: 197–206.
- CEMBELLA A. D., LEWIS N. J., QUILLIAM M. A. 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. *Phycologia* **39**: 67–74.
- CEMBELLA A. D., LEWIS N. J., QUILLIAM M. A. 2001. Association of the gonyaulacoid dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* with spirolide toxins in size-fractionated plankton. *Journal of Plankton Research* **23**: 1413–1419.
- CHEVALIER A., DUCHESNE E. A. 1851. Memoire sur les empoisonnements par les huîtres, les moules, les crabes, et par certains poissons de mer et de riviere. *Annales d'hygiène publique et de médecine légale (Paris)* **45**: 108–147, 387–437.
- COLMAN J. R., TWINER M. J., HESS P., MCMAHON T., SATAKE M., YASUMOTO T., DOUCETTE G. J., RAMSDALL J. S. 2005. Teratogenic effects of azaspiracid-1 identified by microinjection of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryos. *Toxicol* **45**: 881–890.
- DAUGBJERG N., HANSEN G., LARSEN J., MOESTRUP O. 2000. Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSD rDNA sequence data, including the erection of tree new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* **39**: 302–317.
- DEEDS J. R., TERLIZZI D. E., ADOLF J. E., STOECKER D. K., PLACE A. R. 2002. Hemolytic and ichthyotoxic activity from cultures of *Karlodinium micrum* (Dinophyceae) associated with fish mortalities in an estuarine aquaculture facility. *Harmful Algae* **1**: 169–189.
- DEFUSCO D. J., O'DOWD P., HOKAMA Y., OTT B. R. 1993. Coma due to ciguatera fish poisoning in Rhode Island. *American Journal of Medicine* **95**: 240–243.
- DIXON L. K., STEIDINGER K. A. 2004. Correlation of *Karenia brevis* presence in the eastern Gulf of Mexico with rainfall and riverine flow. W: K. A. STEINGER, J. H. LANDSBERG, C. R. TOMAS, G. A. VARGO (red.), Harmful algae 2002. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography, and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 29–31.
- DOUNAY A. B., FORSYTH C. J. 2002. Okadaic acid: The archetypal serine/tryptone protein phosphatase inhibitor. *Current Medicinal Chemistry* **9**: 1939–1950.
- DRAISCI R., LUCENTINI L., MASCIONI A. 2000. Pectenotoxins and yessotoxins: chemistry, toxicology, pharmacology, and analysis. W: L. M. BOTANA (red.), Seafood and Freshwater Toxins: pharmacology, physiology and detection. Food, Science and Technology, 103. Marcel Dekker Inc., New York, s. 289–300.
- DRAISCI R., LUCENTINI L., GIANETTI L., BORJA P., POLETTI R. 1996. First report of pectenotoxin-2 (PTX-2) in algae (*Dinophysis fortii*) related to seafood poisoning in Europe. *Toxicol* **34**: 923–935.
- ECHIGOYA R. 2005. The structure of live new antifungal and hemolytic amphidinol analogs from *Amphidinium carterae* collected in New Zealand. *Harmful Algae* **4**: 383–389.
- EGMOND H. P. VAN, AUNE T., LASSUS P., SPEIJERS G. J., WALDOK M. 1993. Paralytic and diarrhetic shellfish poisons: occurrence in Europe, toxicity, analysis and regulation. *Journal of Natural Toxins* **2**: 41–79.
- EVENS T. J., KIRKPATRICK G. J., MILLIE D. F., CHAPMAN D. J., SCHOFIELD O. M. E. 2001. Photophysiological responses of the toxic red-tide dinoflagellate *Gymnodinium breve* (Dinophyceae) under natural sunlight. *Journal of Plankton Research* **23**: 1177–1194.
- FAO/IOC/WHO 2004. Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. Oslo, Norway, September 26–30, 2004. http://www.fao.org/org/food/risk_biotoxin_en.stm/28.12.2009.
- FEINSTEIN T. N., TRASLAVINA R., SUN M. Y., LIN S. 2002. Effects of light on photosynthesis, grazing and population dynamics of the heterotrophic dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* (Dinophyceae). *Journal of Phycology* **38**: 659–669.
- FERNÁNDEZ J. J., CANDENAS M. L., SOUTO M. L., TRUJILLO M. M., NORTE M. 2002. Okadaic acid, useful tool for studying cellular processes. *Current Medicinal Chemistry* **9**: 229–262.

- FIorentini C., Matarrese P., Fattorossi A., Donelli G. 1996. Okadaic acid induces changes in the organization of F-actin in intestinal cells. *Toxicon* **34**: 937–945.
- FLEMING L. E., BADEN D. G., BEAN J. A., WEISMAN R., BLYTHE D. G. 1998. Seafood toxin diseases: Issues in epidemiology and community outreach. W: B. REGUERA, J. BLANCO, M. L. FERNANDEZ, T. WYATT (red.), Harmful algae. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 245–248.
- FRANCHINI A., MARCHESINI E., POLETTI R., OTTAVIANI E. 2004. Lethal and sub-lethal yessotoxin dose-induced morpho-functional alterations in intraperitoneal injected Swiss CD₁ mice. *Toxicon* **44**: 83–90.
- FUJIKI M., SUGANUMA M., SUGURI H., YOSHIZAWA S., TAKAGI K., SASSA T., UDA N., WAKAMATSU K., YAMADA K., YASUMOTO T., KATO Y., FUSEKARI K., HASHIMOTO K., SAGIMURA T. 1988. Diarrhetic shellfish toxin, dinophysistoxin-1, is a potent tumor promoter on mouse skin. *Japanese Journal of Cancer Research* **79**: 1089–1093.
- GALLIMORE A. R., SPENCER J. B. 2006. Stereochemical uniformity in marine polyether ladders – implications for the biosynthesis and structure of maitotoxin. *Angewandte Chemie International Edition in English* **45**: 4406–4413.
- GARRISON D. L., CONRAD S. M., EICERS P. P., WALDRON E. M. 1992. Confirmation of domoic acid production by *Pseudonitzschia australis* (Bacillariophyceae) cultures. *J. Phycol.* **28**: 604–607.
- GERACI J. R. 1989. Clinical investigation of the 1987–1988 mass mortality of bottlenose dolphins along the U.S. central and south Atlantic coast. Final report to National Marine Fisheries Service and U.S. Navy, Office of Naval Research and Marine Mammal Commission, Washington DC.
- GHIARONI V., SASAKI M., FUWA H., ROSSINI G. P., SCALERA G., YASUMOTO T., PIETRA P., BIGIANI A. 2005. Inhibition of voltage-gated potassium currents by gambierol in mouse taste cells. *Toxicological Sciences* **85**: 657–665.
- GILLESPIE N. C., LEWIS R. J., PEARN J. H., BOURKE A. T. C., HOLMES M. J., BOURKE J. B. 1986. Ciguatera in Australia: occurrence, clinical features, pathophysiology and management. *The Medical Journal of Australia* **145**: 584–590.
- GUNTER G., SMITH F. G. W., WILLIAMS R. H. 1948. Mass mortality of marine animals on the lower west coast of Florida. November 1946 – January 1947. *Science* **105**: 256–257.
- GUSOVSKY F., YASUMOTO T., DALY J. W. 1989. Maitotoxin, a potent, general activator of phosphoinositide breakdown. *FEBS Letters* **243**: 307–312.
- HABERMEHL G. G., KREBS H. C., RASOANAIVO P., RAMIALI-HARISOA A. 1994. Severe ciguatera poisoning in Madagascar: a case report. *Toxicon* **32**: 1539–1542.
- HALL S., STRICHARTZ G., MOCZYDŁOWSKI E., RAVINDRAN A., REICHARDT P. B. 1990. The saxitoxins: sources, chemistry, and pharmacology. W: S. HALL, G. STRICHARTZ (red.), Marine toxins: origin, structure and molecular pharmacology. American Chemical Society Symposium Series 418. American Chemical Society, Washington DC, s. 29–65.
- HALSTEAD B. N., COURVILLE D. A., JONES M. L., MANNING R. B., PAWSON D. L., ROSEWATER J., RUTZLER K. 1965. Poisonous and venomous marine animals of the world. Vol. 1. Invertebrates. Government Printing Office, Washington.
- HAMANO Y., KIMOSHITYA Y., YASUMOTO T. 1985. Suckling mice assay for diarrhetic shellfish toxins. W: D. M. ANDERSON, A. W. WHITE, G. D. BADEN (red.), Toxic dinoflagellates. Elsevier, New York, s. 383–398.
- HAMANO Y., KINOSHITYA Y., YASUMOTO T. 1986. Enteropathogenicity of diarrhetic shellfish toxins in intestinal models. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* **27**: 375–379.
- HAMPSON D. R., HUANG X. P., WELLS J. W., WALTER J. A., WRIGHT J. L. C. 1992. Interaction of domoic acid and several derivatives with kainic acid and AMPA binding sites in rat brain. *European Journal of Pharmacology* **218**: 1–8.
- HANSEN G., DAUGBJERG N., HENRIKSEN P. 2000. Comparative study of *Gymnodinium mikimotoi* and *Gymnodinium aureolum*, comb. nov. (= *Gyrodinium aureolum*) based on morphology, pigment composition and molecular data. *Journal of Phycology* **36**: 394–410.
- HASHIMOTO Y. 1979. Marine organisms which cause food poisoning. W: Y. HASHIMOTO (red.), Marine toxins and other bioactive marine metabolites. Japan Science Society Press, Tokyo, s. 91–105.
- HOKAMA Y. 1988. Ciguatera fish poisoning. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **2**: 44–50.
- HOKAMA Y., SCHEUER P. J., YASUMOTO T. 1989. Effect of marine toxin on human peripheral blood monocytes. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **3**: 215–221.
- HOLLAND P. T., SELWOOD A. I., MOUNTFORT D. O., WILKINS A. L. 2005. Isodomoic acid C, an unusual amnesic shellfish poisoning toxin from *Pseudo-nitzschia australis*. *Chemical Research in Toxicology* **18**: 814–816.
- HOLMES M. J., LEWIS R. J., GILLESPIE N. C. 1990. Toxicity of Australian and French Polynesian strains of *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) grown in culture: characterization of a new type maitotoxin. *Toxicon* **28**: 1159–1172.
- HOLMES M. J., LEWIS J. L., JONES A., WONG HOY A. W. 1995. Cooliatoxin, the first toxin from *Coolia monotis* (Dinophyceae). *Natural Toxins* **3**: 355–362.

- HU T., CURTIS J. M., WALTER J. A., WRIGHT J. L. C. 1996a. Characterization of biologically inactive spirolides E and F: identification of the spirolide pharmacophore. *Tetrahedron Letters* **37**: 7671–7674.
- HU T., DE FREITAS A. S. W., CURTIS J. M., OSHIMA Y., WALTER J. A., WRIGHT J. L. C. 1996b. Isolation and structure of prorocentrolide B, a fast acting toxin from *Prorocentrum maculosum*. *Journal of Natural Products* **59**: 1010–1014.
- HU T., BURTON I. W., CEMBELLA A. D., CURTIS J. M., QUILLIAM M., WALTER J. A., WRIGHT J. L. C. 2001. Characterization of spirolides A, C and 13-des-methyl C, a new marine toxin isolated from plankton and contaminated shellfish. *Journal of Natural Products* **64**: 308–312.
- HU T., CURTIS J. M., OSHIMA Y., QUILLIAM M. A., WALTER J. A., WATSON-WRIGHT W. M., WRIGHT J. L. C. 1995. Spirolides B and D, two novel macrocycles isolated from digestive glands of shellfish. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication*, 1995: 2159–2161.
- HU T., DOYLE J., JACKSON D., MARR J., NIXON E., PLEASANCE S., QUILLIAM M. A., WALTER J. A., WRIGHT J. L. C. 1992. Isolation of a new diarrhetic shellfish poison from Irish mussels. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication*, 1992: 39–41.
- ITO E., SATAKE M., OFUJI K., KURITA N., MCMAHON T., JAMES K. J., YASUMOTO T. 2000. Multiple organ damage caused by a new toxin azaspiracid, isolated from mussels produced in Ireland. *Toxicon* **38**: 917–930.
- JESÚS J., OTERO G. 2008. Epidemiological impact of diarrhetic toxins. W: L. M. BOTANA (red.), *Seafood and freshwater toxins: pharmacology, physiology and detection*. CRC Press, London – New York, s. 53–75.
- KAO C. Y. 1993. Paralytic shellfish poisoning. W: J. R. FALCONER (red.), *Algal toxins in seafood and drinking water*. Academic Press Ltd., London, s. 75–86.
- KAO C. Y. 1996. Tetrodotoxin, saxitoxin and their significance in the study of excitation phenomena. *Pharmacological Reviews* **18**: 997–1049.
- KARALIS T. L., GUPTA L., CHU M., CAMPBELL B. A., CAPRA M. A., MAYWOOD P. A. 2000. Three clusters of ciguatera poisoning: clinical manifestations and public health implications. *The Medical Journal of Australia* **172**: 160–162.
- KAT M. 1979. The occurred of *Prorocentrum* species and coincidental gastrointestinal illness of mussel consumers. W: D. TAYLOR, H. H. SELIGER (red.), *Toxic dinoflagellate blooms*. Elsevier, North Holland, Amsterdam, s. 215–220.
- KAT M. 1985. *Dinophysis acuminata* blooms, the distinct cause Dutch mussel poisoning. W: D. M. ANDERSON, A. W. WHITE, D. G. BADEN (red.), *Toxic dinoflagellates*. Elsevier, Amsterdam, s. 73–77.
- KHAN S., AHMED M. S., ARAKAWA O. 1995. Properties of neurotoxins separated from a harmful red tide organism *Chattonella marina*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* **47**: 137–141.
- KHAN S., ARAKAWA O., ONOUE Y. 1996. Neurotoxin production by a chloromonad *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae). *Journal of the World Aquaculture Society* **27**: 254–263.
- KHAN S., ARAKAWA O., ONOUE Y. 1997. Neurotoxin in a toxic red tide of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) in Kagoshima Bay, Japan. *Aquaculture Research* **28**: 9–14.
- KITA M., OHISHI N., WASHIDA K., KONDO M., KOYAMA T., YAMADA K., UEMURA D. 2005. Symbioimine and neosymbioimine, amphoteric iminium metabolites from the symbiotic marine dinoflagellate *Symbiodinium* spp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **13**: 5253–5258.
- KOTAKI Y., KOIKE K., YOSHIDA M., CHU V. T. 2000. Domoic acid production in *Nitzschia* spp. (Bacillariophyceae) isolated from a shrimp-culture pond in Do Son, Vietnam. *Journal of Phycology* **36**: 1057–1060.
- KVITEK R. G., DEGANGE A. R., BEITLER M. K. 1991. Paralytic shellfish poisoning toxins mediate feeding behavior of sea otters. *Limnology and Oceanography* **36**: 393–404.
- LANDSBERG J. H. 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Reviews in Fisheries Science* **10**: 113–390.
- LANGE W. R. 1987. Ciguatera toxicity. *American Family Physician* **35**: 177–182.
- LARSEN K., PETERSEN D., WILKINS A. L., SAMDAL I. A., SANDVIK M., RUNDBERGET T., GOLDSTONE D. 2007. Clarification of the C-35 stereochemistries of dinophysistoxin-1 and dinophysistoxin-2 and its consequence for binding to protein phosphatase. *Chemical Research in Toxicology* **20**: 868–875.
- LEWIS R. J. 2001. The changing face of ciguatera. *Toxicon* **39**: 97–106.
- LEWIS R. J. 2006. Ciguatera: Australian perspectives on a global problem. *Toxicon* **48**: 799–809.
- LITAKER R. W., VANDERSEA M. W., KIBLER S. R., MADDEN V. J., NOGA E. J., TESTER P. A. 2002. Life cycle of the heterotrophic dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* (Dinophyceae). *Journal of Phycology* **38**: 442–463.
- LOUZAO M. C., CAGIDE E., VIEYTES N. R., SASAKI M., FUWA H. 2006. The sodium channel excitable cells in a target for gambierol. *Cellular Physiology and Biochemistry* **17**: 257–268.
- LU C. K., LEE G. H., HUANG R., CHOU H. N. 2001. Spiroprorocentrimine, a novel macrocycle lactone from a benthic *Prorocentrum* spp. of Taiwan. *Tetrahedron Letters* **42**: 1713–1716.
- LUNDHOLM N., MOESTRUP O. 2000. Morphology of the

- marine diatom *Nitzschia navis-varingica*, spp. nov. (Bacillariophyceae), another producer of the neurotoxin domoic acid. *Journal of Phycology* **36**: 1162–1174.
- LUNDHOLM N., SKOV J., POCKLINGTON R., MOESTRUP O. 1994. Domoic acid, the toxic imine acid responsible for amnesic shellfish poisoning, new in *Pseudonitzschia seriata* (Bacillariophyceae) in Europe. *Phycologia* **33**: 475–478.
- LY L., AIKMAN F., STUMPF R., GROSS T. 2004. Preliminary modeling of cross shelf transport in support of monitoring and forecasting of harmful algal blooms along the west Florida coast. W: K. A. STEIDINGER, J. H. LANDSBERG, C. R. TOMAS, G. A. VARGO (red.), *Harmful Algae 2002*. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography, and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 534–536.
- MAEDA M. 1986. Structures of izodomoic acids A, B and C, novel insecticidal amino acids from the red alga *Chondria armata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **34**: 4892–4895.
- MAEDA M., KODAMA T., TANAKA T., YOSHIZUMI H. 1987. Structure of domoic acid A and B, novel amino acids from the red alga *Chondria armata*. *Tetrahedron Letters* **28**: 633–636.
- MAGAÑA H. A., CONTRERAS C., VILLAREAL T. A. 2003. A historical assessment of *Karenia brevis* in the western Gulf of Mexico. *Harmful Algae* **2**: 163–171.
- MALAGOLI D., OTTAVIANI E. 2004. Yessotoxin affects fMLP-induced cell shape changes in *Mytilus galloprovincialis* immunocytes. *Cell Biology International* **28**: 57–61.
- MARSHALL H. G., GORDON A. S., SEABORN D. W., DYER B. 2000. Comparative culture and toxicity studies between the toxic dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* and a morphologically similar cryptoperidiniopsis dinoflagellate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **225**: 51–74.
- MCCLELLAN-GREEN P. B. 1998. Consumer health risk due to incidental exposure of fish to *Pfiesteria piscicida*. W: P. B. MCCLELLAN-GREEN (red.), *Research on toxic algae: Pfiesteria-like organisms*. Sea Grant North Carolina, Raleigh, North Carolina, USA, s. 55–67.
- MCKENZIE L., HAYWOOD A., ADAMSON J., TRUMAN P., TILL D., SEKI T., SATAKE M., YASUMOTO T. 1996. Gymnodimine contamination of shellfish in New Zealand. W: T. YASUMOTO, Y. OSHIMA, Y. FUKUYO (red.), *Harmful and toxic algal blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 97–100.
- MCMAHON T., SILKE J. 1996. Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News* **16**: 2–10.
- MILES C. O., WILKINS A. L., STIRLING D. J., MCKENZIE A. L. 2000. New analogue of gymnodimine from a *Gymnodinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 1373–1376.
- MUNDAY R., TOWERS N. R., MCKENZIE L., BEUZEUBERG V., HALLAND P. T., MILES C. O. 2004. Acute toxicity of gymnodimine to mice. *Toxicol* **44**: 173–178.
- MURATA M., KUMAGA M., LEE J. S., YASUMOTO T. 1987. Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Letters* **28**: 5869–5872.
- MURATA M., LEGRAND A. M., ISHIBASHI Y., FUKUI M., YASUMOTO T. 1990. Structures and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus* and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *Journal of the American Chemical Society* **112**: 4380–4386.
- MURATA M., SHIMATANI M., SUGITANI H., OSHIMA Y., YASUMOTO T. 1982. Isolation and structural elucidation of the causative toxin of the diarrhetic shellfish poisoning. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **48**: 549–552.
- NISHIWAKI S., FUJIKI H., SUGANUMA M., FURYA-SUGURI H., MATSUSHIMA R., IIDA Y., OJIKI M. 1990. Structure activity relationship within a series of ocaidic acid derivatives. *Carcinogenesis* **11**: 1837–1841.
- OGINO H., KUMAGAI M., YASUMOTO T. 1997. Toxicologic evaluation of yessotoxin. *Natural Toxins* **5**: 255–259.
- OKADA T., NAKAI A., MATSUNAGA S., FUZETANI N., SHIMIZU M. 2000. Assessment of the marine toxins by monitoring the integrity of human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Toxicology in Vitro* **14**: 219–226.
- ONOUÉ Y., HAG M. S., NOZAWA K. 1990. Separation of neurotoxins from *Chattonella marina*. *Nippon Suisan Gakkaishi* **56**: 695–705.
- OSHIMA Y., BUCKLEY L. J., ALAM M., SHIMIZU Y. 1977. Heterogeneity of paralytic shellfish poisons. Three new toxins from cultured *Gonyaulax tamarensis* cells, *Mya arenaria*, and *Saxidomus giganteus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* **576**: 31–34.
- PAUL G. K., MATSUMORI N., KONOKI K., SASAKI M., MURATA M., TACHBANA S. 1996. Structure of amphidinol-3 and its cholesterol-dependent membrane perturbation: strong antifungal metabolites produced by dinoflagellate *Amphidinium klebsii*. W: T. YASUMOTO, Y. OSHIMA, Y. FUKUYO (red.), *Harmful of toxic algal blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 503–506.
- PERL T. M., BEDARD L., KOSATSKY T., HOCKIN J. C., TODD E. C. D., REMIS R. S. 1990. An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contaminated with domoic acid. *The New England Journal of Medicine* **322**: 1775–1780.
- PIERCE R., HENRY M., BLUM P. C., PAYNE S. 2001. *Gymnodinium breve* toxins without cells: intracellular and extra-

- cellular toxins. W: G. HALLEGRAEF, S. I. BLACKBURN, C. J. BOLCH, R. J. LEWIS (red.), Harmful algal blooms 2000. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 421–424.
- PIERCE R. H., HENRY M. S., BLUM P. C., HAMEL S. L., KIRKPATRICK B., CHENG Y. S., ZHON Y. 2005. Brevetoxin composition in water and marine aerosol along a Florida beach: assessing potential human exposure to marine biotoxins. *Harmful Algae* **4**: 965–972.
- POLI M. A., TEMPLETON C. B., THOMPSON W. L., HEWETSON J. F. 1990. Distribution and elimination of brevetoxin PbTx-3 in rats. *Toxicol* **28**: 903–910.
- POON-KING C. M., CHEN A., POON-KING T. 2004. Ciguatera fish poisoning in industrial ship crewmembers: a retrospective study in a seaport general practice in Trinidad and Tobago. *West Indian Medical Journal* **53**: 220–226.
- PRAKASH A., MEDCOF J. C., TENNAUT A. D. 1971. Paralytic shellfish poisoning in eastern Canada. 177. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, Bulletin.
- RADWAN F. F., RAMSDELL J. S. 2006. Characterization of *in vitro* oxidative and conjugative metabolic pathway for brevetoxin (PbTx-2). *Toxicological Sciences* **89**: 57–65.
- RAMSDELL J. S. 2007. The molecular and integrative basis to mammalian brevetoxin toxicity. W: L. BOTANA, Y. H. HUI (red.), Phycotoxins: chemistry and biochemistry. Blackwell Publishing, Ames, I. A., s. 400–410.
- REIN K. S., SNYDER R. V. 2006. The biosynthesis of polyketide metabolites by dinoflagellates. *Advances in Applied Microbiology* **59**: 93–125.
- RHODES L., McNABB P., DESALAS M., BRIGGS L., BEUZENBERG V., GLADSTONE M. 2006. Yessotoxin production by *Gonyaulax spinifera*. *Harmful Algae* **5**: 148–155.
- RICHARD D., ARSENAULT E., CEMBELLA A., QUILLIAM M. 2001. Investigations into the toxicology and pharmacology of spirolides, a novel group of shellfish toxins. W: G. M. HALLEGRAEF, S. J. BLACKBURN, C. J. BOLCH, R. J. LEWIS (red.), Harmful algal blooms 2000. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, s. 383–386.
- ROMAN Y., ALFONSO A., VIEYTES M. R., OFUJI K., SATAKE M., YASUMOTO T., BOTANA L. M. 2004. Effects of azaspiracids 2 and 3 on intracellular cAMP, $[Ca^{2+}]_i$, and pH. *Chemical Research in Toxicology* **17**: 1338–1349.
- ROSA L. A. DE LA, ALFONSO A., VILARINO N., VIEYTES M. R., BOTANA L. M. 2001. Modulation of cytosolic calcium levels of human lymphocytes by yessotoxin, a novel marine phycotoxin. *Biochemical Pharmacology* **61**: 827–833.
- RÜHL A., HUMMERT C., REINHARDT K., GREDTS G., LUCAS B. 2001. Determination of new algal neurotoxins (spirolides) near the scotish east coast. W: A. RÜHL. International Council for the Exploration of the Sea. Copenhagen, Denmark, s. 09.
- SATAKE M., MURATA M., YASUMOTO T. 1993. Gambierol: a new toxic polyether compounds isolated from the marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *Journal of the American Chemical Society* **115**: 361–362.
- SATAKE M., OFUJI K., NAOKI H., JAMES K. J., FUREY A., MCMAHON T., SILKE J., YASUMOTO T. 1998. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels. *Journal of the American Chemical Society* **120**: 9967–9968.
- SCHOLIN C. A. 2000. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature* **403**: 80–84.
- SEKI T., SATAKE M., MACKENZIE L., KASPAR H. F., YASUMOTO T. 1995. Gymnodimine, a new marine toxin of unprecedented structure isolated from New Zeland oysters and the dinoflagellate *Gymnodinium* spp. *Tetrahedron Letters* **36**: 7093–7096.
- SHIMIZU Y. 2000. Chemistry and mechanism of action. W: L. M. BOTANA (red.), Seafood and Freshwater Toxins: pharmacology, physiology and detection. Food, Science and Technology, 103. Marcel Dekker, Basel, s. 151–172.
- SHIMIZU Y., ALAM M., FALLON W. E. 1974. Red tide toxins. W: H. H. WEBER, G. D. RUGGIERI (red.), Food and drugs from the sea. Proceedings of the Marine Technology Society, Washington, DC, s. 238–251.
- SHIMIZU Y., GUPTA S., MASUDA K., MARANDA L. 1989. Dinoflagellate and microalgal toxins: chemistry and biochemistry. *Pure and Applied Chemistry* **61**: 513–516.
- STABELL O. B., STEFFENAK I., PEDERSEN K., UNDERDAL B. 1991. Diversity of shellfish toxins of diarrhetic type revealed by biological and chemical assays. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **33**: 273–278.
- STEIDINGER K. A. 1973. The effects of *Gymnodinium breve* toxin on estuarine animals. W: D. F. MARTIN, G. M. PADDILLA (red.), Marine pharmacognosy. Academic Press, New York, s. 179–202.
- STEIDINGER K. A., BURKHOLDER J. M., GLASGOW H. B., HOBBS C. W. 1996. *Pfiesteria piscicida* gen. et spp. nov. (*Pfiesteriaceae* fam. nov.), a new toxic dinoflagellate with complex life cycle and behaviour. *Journal of Phycology* **32**: 157–164.
- STEWART M., BLUNT J. W., MUNDRO M. H. G., ROBINSON W. T. 1997. The absolute stereochemistry of the New Zeland shellfish toxin gymnodimine. *Tetrahedron Letters* **38**: 4889–4890.
- SUZUKI C. A., HIERLIHY S. L. 1993. Renal clearance of domoic acid in the rat. *Food and Chemical Toxicology* **31**: 578–580.

- SUZUKI T., BEUZENBURG V., MACKENZIE L., QUILLIAM M. A. 2004. Discovery of ocaidaic acid esters in the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* from New Zealand using liquid chromatography – mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **18**: 1131–1138.
- TAKADA N., UMEMURA N., SUENAGA K., UEMURA D. 2001a. Structural determination of pteriatoxins A, B and C, extremely potent toxins from bivalve *Pteria penguin*. *Tetrahedron Letters* **42**: 3495–3497.
- TAKADA N., UMEMURA N., SUENAGA K., CHOU T., NAGATSU A., HAIMO T., YAMADA K., UEMURA D. 2001b. Pinnatotoxins B and C, the most toxic compounds in the pinnatotoxin series from the Okinawa bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Letters* **42**: 3491–3494.
- TAKAI A., MURATA M., TORIGOE K., ISOBE M., MIEKES G., YASUMOTO T. 1992. Inhibitory effect of okadaic acid and derivatives on protein phosphatases – a structure – affinity relationship. *Biochemical Journal* **284**: 539–544.
- TAKEMOTO T., DAIGO K. 1958. Constituents of *Chondria armata*. *Chem. Pharm. Bull.* **6**: 578–580.
- TEMPLETON C. B., POLI M. A., LECLAIRE R. D. 1989. Cardio-respiratory effects of brevetoxin (PbTx-2) in conscious tethered rats. *Toxicon* **27**: 1043–1049.
- TERAO K., ITO E., YANAGI T., YASUMOTO T. 1986. Histopathological studies of experimental marine toxin poisoning: Ultrastructural changes in the small intestine and liver of suckling mice induced by dinophysistoxin and pectenotoxin-1. *Toxicon* **24**: 1141–1151.
- TERAO K., ITO E., OARADA M., MURATA M., YASUMOTO T. 1990. Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning-5. The effects in mice yessotoxin isolated from *Patinopecten yessoensis* and of a desulfated derivative. *Toxicon* **28**: 1095–1104.
- THOMPSON P. A., HOSJA T. W. 1996. Nutrient limitation of phytoplankton in the upper Swan River estuary, Western Australia. *Marine and Freshwater Research* **47**: 659–667.
- TODD E. C. D. 1993. Domoic acid and amnesic shellfish poisoning – a review. *Journal of Food Protection* **56**: 69–83.
- TORIGOE K., MURATA M., YASUMOTO Y., IWASHITA T. 1998. Procentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Journal of the American Chemical Society* **110**: 7876–7877.
- TRUELOVE J., MUELLER R., PULIDO O., MARTIN L., FERNIE S., IVERSON F. 1997. 30-day oral toxicity study of domoic acid in cynomolgus monkeys: lack of overt toxicity at doses approaching the acute toxic dose. *Natural Toxins* **5**: 111–114.
- TWINER M. J., HESS P., DECHRAONI M. Y., MCMAHON T., SAMSONS M. S., SATAKE M., YASUMOTO T., RAMSDALL J. S., DOUCETTE G. J. 2005. Cytotoxic and cytoskeletal effects of azaspiracid-1 on mammalian cell lines. *Toxicon* **45**: 891–900.
- UMEMUAR D., CHON T., HAINO T., NAGATSU A., FUZUZAWA S., ZHENG S., CHEN H. 1995. Pinnatotoxin A: a toxic amphiprotic macrocycle from the Okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Journal of the American Chemical Society* **117**: 1155–1156.
- USAMI M., SATAKE M., ISHIDU S., INOUE A., KAN Y., YASUMOTO T. 1995. Palytoxin analogs from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. *Journal of the American Chemical Society* **117**: 5389–5390.
- VALE P. 2006. Differential dynamics of dinophysistoxin and pectenotoxins, part II: Offshore bivalve species. *Toxicon* **47**: 163–173.
- VALE P., SAMPAYO M. A. D. M. 2002. First confirmation of diarrhoeic poisonings by okadaic acid esters after ingestion of razor crabs (*Solen marginatus*) and green crabs (*Carcinus maenas*) in Aveiro lagoon, Portugal and detection of okadaic acid esters in phytoplankton. *Toxicon* **40**: 989–996.
- VANCOUVER G. 1801. A voyage of discovery to the North Pacific Ocean and round the world, 4. John Stockdale, London, s. 44–47.
- VERSHININ A., MORUCHKOV A., MORTON S. L., LEIGHFIELD T. A. 2006. Phytoplankton composition of the Kandalaksha Gulf, Russian White Sea: Dinophysis and lipophilic toxins in the blue mussel (*Mytilus edulis*). *Harmful Algae* **5**: 558–564.
- WIBERG G. S., STEPHENSON N. R. 1960. Toxicological studies on paralytic shellfish poison. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2**: 607–615.
- WORK T. M. 1993. Domoic acid intoxication of brown pelicans and cormorants in Santa Cruz, California. W: T. J. SAMAYOLA, S. SHIMIZU (red.), Phytoplankton blooms in the sea. Elsevier, Amsterdam, s. 643–649.
- WRIGHT J. L. C., FALK M., MCINNES A. G., WALTER J. A. 1990. Identification of isodomoic acid D and two new geometrical isomers of domoic acid in toxic mussels. *Canadian Journal of Chemistry* **68**: 22–25.
- YANG Z. B., HODGKISS I. J., HANSEN G. 1998. *Karenia longicanalis* spp. nov. (Dinophyceae): a new bloom-forming species isolated from Hong Kong, May 1998. *Botanica Marina* **44**: 67–74.
- YANG Z. B., TOKAYAMA H., MATSUOKU K., HODGKISS I. J. 2000. *Karenia digitata* spp. nov. (Gymnodiales, Dinophyceae), a new harmful algal bloom species from the coastal water of west Japan and Hong Kong. *Phycologia* **39**: 463–470.
- YASUMOTO T. 1985. Recent progress in the chemistry of dinoflagellate toxins. W: D. M. ANDERSON, A. W. WHITE, D. G. BADEN (red.), Toxic dinoflagellates. Proceedings of the Third International Conference. Elsevier/North Holland, New York – Amsterdam – Oxford, s. 259–270.

- YASUMOTO T. 2001. The chemistry and biological function of natural marine toxins. *Chemical Record* **1**: 228–242.
- YASUMOTO T., OSHIMA Y., YAMAGUHI M. 1978. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **44**: 1249–1255.
- YASUMOTO T., NASKAJIMA J., BAGNIS R., ACACHI R. 1977. Finding a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **43**: 1021–1026.
- YOON M., KIM Y. Z. 1997. Acute toxicity of pectenotoxin 2 and its effects on hepatic metabolizing enzyme system in mice. *Korean Journal of Toxicology* **13**: 183–186.
- YOTSU-YAMASHITA M., HADDOCK R. L., YASUMOTO T. 1993. Polycavernoside A: A novel glycosidic macrolide from the red alga *Polycavernosa tsudai* (*Gracilaria edulis*). *Journal of the American Chemical Society* **115**: 1147–1148.
- ZHOU Z. H., KOMIYAMA M., TERAOKA K., SHIMADA Y. 1994. Effects of pectenotoxin-1 on liver cells *in vitro*. *Natural Toxins* **2**: 132–135.