

Sinice (cyanobakterie) a jejich toxiny ve vodách - příčiny a důsledky

Luděk Bláha, Blahoslav Maršálek, Pavel Babica

Centrum pro Cyanobakterie a jejich Toxiny (RECETOX, Masarykova univerzita a Botanický ústav AV ČR, Kamenice 3, 625 00 Brno), e-mail: blaha@sci.muni.cz

Úvod

Vodní květy sinic jsou v posledních letech stále častěji diskutovaným tématem a to hned z několika důvodů. Eutrofizace vod způsobená činností člověka (**tj. nadměrné uvolňování anorganických živin do prostředí** - zejména dusíku a fosforu) je hlavní příčinou zvýšené četnosti výskytu i doby trvání vodních květů v sladkovodních nádržích v mnoha zemích světa, včetně České republiky. Hlavními zdroji živin byly a jsou zejména zemědělská produkce (hnojení) a v současnosti především domácí komunální odpad (zejména v těch případech, kdy odpadní vody nejsou řádně vyčištěny moderními technikami). Významným problémem jsou sloučeniny změkčující vodu, které obsahují fosfor, a které jsou ve vysokých dávkách obsaženy např. v práscích na praní anebo v přípravcích do myček nádobí. Tato situace pak spolu s informacemi o možném negativním působení sinic na zdraví člověka nebo zvířat vyvolala zvýšenou pozornost odborníků. Během uplynulých dvaceti let se podařilo identifikovat celou řadu toxických metabolitů produkovaných sinicemi a v některých případech prokázat přímou souvislost mezi sinicovými toxiny a otravami zvířat nebo lidí (Carmichael 1997).

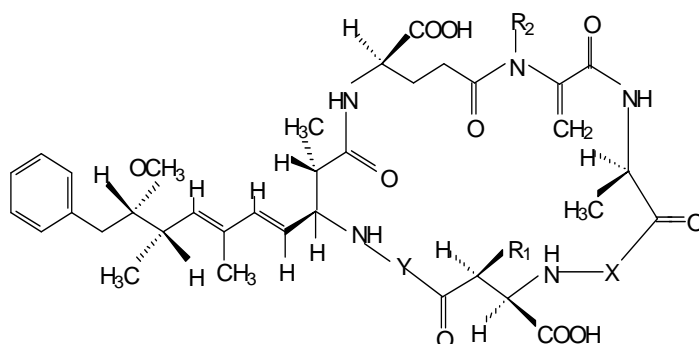
Sinice produkují celou řadu látek, z nichž mnohé jsou toxické či jinak biologicky aktivní. Přirozená úloha těchto metabolitů a jejich přínos pro cyanobaktérie jsou dosud ve většině případů nejasné. Zpravidla nebývají aktivně vylučovány a z buněk sinic se uvolňují až po jejich smrti a lyzi. Produkce toxinů (**cyanotoxinů**) je známa jen u některých rodů nebo druhů sinic, v případě sladkovodních cyanobaktérií jde asi o třetinu z přibližně 50 rodů (EPA 2001). I na druhové úrovni jsou známy populace lišící se schopností vytvářet toxiny (toxigenní a netoxigenní kmeny). Některé kmeny mohou produkovat simultánně i několik různých toxinů (Sivonen and Jones 1999). Zhruba 75% vodních květů je toxických (WHO 1998; Chorus et al. 2000). Cyanotoxiny představují rozmanitou skupinu jak z chemického, tak toxikologického hlediska. Po chemické stránce se jedná o peptidy, alkaloidy (heterocyklické látky) a lipopolysacharidy. Jejich hlavní toxický účinek bývá nejčastěji hepatotoxický, neurotoxický nebo dermatotoxický, prokázány ovšem byly i další efekty, jako např. imunomodulační, embryotoxické či nádorově promoční. Jednotlivé toxiny vykazují často smíšenou aktivitu. Základní přehled cyanotoxinů je uveden v Tabulce 1.

Kromě přímého působení cyanotoxinů však sinice mají **řadu dalších účinků na složení a funkce ekosystémů** (i na zdraví člověka). Mezi tyto důsledky patří např. **změna chemismu vody** v průběhu jejich růstu (zejm. změny pH), které omezují normální život dalších organismů ve vodách (např. konkurujících řas a zooplanktonu, který je za normálních podmínek predátorem sinic). Dalším problémem je **bakteriální rozklad biomasy sinic** (vytvořené během jediné sezony), který probíhá na konci vegetačního období. Bakteriální činnost při vede často k náhlému vyčerpání kyslíku z vody, což se následně může projevit úhyny vodních organismů (zejm. ryb).

Nejrozšířenější, v sinicích sladkých a brakických vod nejčastěji nalézanou a tedy i nejvíce studovanou skupinu cyanotoxinů představují **hepatotoxické cyklické heptapeptidy - microcystiny**. Ačkoli sinice v České republice s největší pravděpodobností produkují i jiné látky, publikovány byly dosud jen informace o microcystinech, které jsou u nás také jako jediné

cyanotoxiny rutinně stanovovány (Maršálek et al. 2001). Předpokládá se, že hrály hlavní roli při většině humánních intoxikací spojených s cyanobaktériemi a veškeré normy doporučené Světovou zdravotnickou organizací (WHO) i národní limity jednotlivých zemí (s výjimkou Austrálie) pro koncentrace cyanotoxinů ve vodách zatím existují pouze pro microcystiny ((WHO 1998; EPA 2001; Fitzgerald 2001)).

MICROCYSTINY byly izolovány ze zástupců rodů planktonních, bentických i půdních sinic rodů *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria* (*Planktothrix*), *Nostoc*, *Anabaenopsis*, *Hapalosiphon* aj. Jedná se o cyklické heptapeptidy (viz Obr. 1), jejichž obecný vzorec je: cyklo - (D-alanin¹-L-X²-D-MeAsp³-L-Y⁴-Adda⁵-D-glutamová kyselina⁶-Mdha⁷); X a Y jsou různé L-aminokyseliny, MeAsp je D-erythro-β-methylasparagová kyselina, Adda je (2S,3S,8S,9S) - 3-amino- 9-methoxy- 2,6,8-trimethyl- 10-fenyldeka- 4,6-dienová kyselina a Mdha je N-methyldehydroalanin. Je známo přes 60 strukturních variant (kongenerů, isoformů) s molekulovou hmotností 909 - 1115. Nejčastěji se liší různými aminokyselinami X a Y v pozicích 2 a 4 a také demethylací aminokyselin v pozicích 3 a 7. Strukturní varianty byly však popsány i u aminokyselin v ostatních polohách (Rinehart et al. 1994; Sivonen and Jones 1999). Ačkoli mnoho cyanobakterií produkuje souběžně několik microcystinů, v určitém kmenu obvykle dominují jen jedna nebo dvě strukturní varianty.



Obrázek 1 : Obecný vzorec microcystinů. Pro microcystin-LR je R₁ a R₂ = CH₃, X = Leu(L), Y = Arg (R)

Zřejmě nejběžnějšími isoformami jsou **microcystiny LR, YR a RR** (dvoupísmenná zkratka označuje aminokyseliny v polohách 2 a 4, v případě microcystinu LR jde o leucin – L a arginin – R). Naproti tomu některé jiné varianty se vyskytují jen vzácně a téměř vždy v nízkých koncentracích a je tedy možné, že se jedná o spoluprodukty při biosyntéze jiných microcystinů či snad artefakty vznikající při jejich izolaci a purifikaci (Lawton and Edwards 2001). Většina microcystinů je poměrně **hydrofilní**, ve vodě dobře **rozpustná** a **netěkavá**. Microcystiny jsou **velmi stabilní**, odolné vůči chemické hydrolýze i mnoha peptidázám. Jsou ale odbourávány řadou bakterií, vyskytujících se běžně ve vodách (Bourne et al. 2001; Welker et al. 2001). Microcystiny jsou **vysoce toxické**, hodnoty LD₅₀ pro myš (i.p.) se pro většinu strukturních variant pohybují v rozsahu 50 – 300 µg.kg⁻¹ ž.v. (Sivonen and Jones 1999). Mechanismus účinku microcystinů spočívá v kovalentní vazbě na katalytickou podjednotku proteinfosfatáz 1 a 2A (Yoshizawa et al. 1990; Mackintosh et al. 1995). Primárně jsou postiženy **jaterní buňky**, které aktivně přijímají microcystiny z krevního oběhu prostřednictvím transportního systému pro žlučové kyseliny (Eriksson et al. 1990). Za biologickou aktivitu microcystinů a také za charakteristické absorpční spektrum v UV oblasti s maximem při 238 nm je odpovědná část molekuly Adda - glutamová kyselina. Odštěpením Adda, změnou její optické konfigurace nebo acylací glutamátu dochází ke ztrátě biologické aktivity. Lineární microcystiny jsou zhruba stokrát méně toxické než odpovídající cyklické sloučeniny (Rinehart et al. 1994).

Látkou blízkou microcystinům je **NODULARIN** - cyklický pentapeptid, jehož produkce byla prokázána u mnoha sinic (často současně s microcystiny) a jehož nejvýznamnější mechanismus toxicity je shodný s efekty microcystinů = inhibice regulačních enzymů proteinfosfatáz.

Tab. 1: Přehled nejvýznamnějších cyanotoxinů (sestaveno podle (Carmichael 1997; Falconer 1998; Rapala 1998; Kuiper-Goodman et al. 1999; Sivonen and Jones 1999))

Název toxinu	Struktura	Strukturní varianty	Hlavní producenti	LD50* (µg.kg ⁻¹)	Toxicita	Mechanismus účinku
Microcystin	cyklické heptapeptidy	>60	<i>Anabaena, Microcystis, Oscillatoria (Planktothrix), Nostoc, Nodularia, Anabaenopsis, Hapalosiphon</i>	50-1200	hepatotoxicita, nádorově promoční aktivita, indukce oxidativního stresu aj.	inhibice proteinfosfatáz 1 a 2A
Nodularin	cyklické pentapeptidy	7	<i>Nodularia spumigena</i> aj.	50-2000	hepatotoxicita, nádorově promoční aktivita	inhibice proteinfosfatáz 1, 2A a 3
Anatoxin	alkaloidy	2	<i>Anabaena, Oscillatoria (Planktothrix), Aphanizomenon</i> atd.	200-250	neurotoxicita	agonisté v nikotinových acetylcholinových receptorech
Anatoxin-a(S)	metylfosfo-ester N-hydroxy-guaninu	1	<i>Anabaena flos-aquae, Anabaena lemmermannii</i>	20	neurotoxicita	inhibice acetylcholinesterázy
Saxitoxiny	karbamátové alkaloidy	19	<i>Aphanizomenon, Anabaena, Lyngbya</i> atd.	10	neurotoxicita	blokáce sodíkových kanálů v neuronech
Cylindrospermopsin	guanidinový alkaloid	2	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> atd.	200**	cytotoxicita, nejvíce postižena játra a ledviny	inhibice proteosyntézy a syntézy glutathionu
Aplysiatoxin		2	<i>Lyngbya, Oscillatoria, Schizotrix</i>		dermatotoxicita, nádorově promoční aktivita	aktivace protein-kinázy C
Lyngbyatoxin	modifikovaný cyklický dipeptid	1	<i>Lyngbya majuscula</i>		dermatotoxicita, nádorově promoční aktivita	aktivace protein-kinázy C
Lipopoly-sacharidy			<i>součást buněčné stěny všech cyanobakterií</i>		dráždivé účinky	

* LD50 pro myš, intraperitoneální injekce (není-li uvedeno jinak)

** LD50 po 5-6 dnech pro myš, intraperitoneální injekce

Významnými cyanotoxiny jsou také **NEUROTOXINY**. Z hlediska struktury jde o skupinu velmi heterogenních látek (alkaloidy, organofosfátové látky, látky typu karbamátového skeletu),

které navíc působí rozdílnými biochemickými mechanismy toxicity (inhibice acetylcholinesterázy, blokace Na⁺/K⁺ kanálů na povrchu neuronů). Výsledkem akutních intoxikací je však nejčastěji zadušení, chronické efekty související s působením cyanobakteriálních neurotoxinů nebyly doposud dobře prostudovány. Úhyny v souvislosti s neurotoxiny byly prokázány u mnoha druhů hospodářských i divokých zvířat z celého světa (dobytek, psi, kachny ...).

LIPOPOLYSACHARIDY (LPS) jsou běžnou součástí buněčné stěny gramnegativních bakterií a tedy i všech sinic. Sinicové lipopolysacharidy jsou pyrogenní a toxické (Weckesser and Drews 1979). Jejich toxicita je však nižší než LPS patogenních bakterií, jako např. *Salmonella* (Keleti and Sykora 1982; Raziuddin et al. 1983). Na druhou stranu se ve vodách při přemnožení sinic vyskytují ve velkých koncentracích a mohou tedy být toxikologicky významné. Zatím však pro hodnocení rizik neexistuje dostatečné množství informací o struktuře a především o efektech těchto látek, stejně jako údajů nutných pro kvantifikaci expozice.

Vedle látek uvedených v Tabulce 1 a v textu produkují cyanobaktérie **desítky dalších metabolitů** a každým rokem jsou identifikovány nové. Jde zejména o lineární a cyklické peptidy a depsipeptidy (tj. peptidy obsahující eterovou vazbu), ale i o jiné typy sloučenin. Mnohé z nich působí jako účinné inhibitory důležitých enzymů a některé jsou toxické nebo vykazují farmakologicky zajímavé vlastnosti (např. fungicidní, tumor inhibiční, protizánětlivé, antibakteriální a antivirální) (Patterson et al. 1994; Namikoshi and Rinehart 1996; Chetsumon et al. 1998; Marquez et al. 1998; Morliere et al. 1998; Romay et al. 1998; Bickel et al. 2001; Forchert et al. 2001). Podobné efekty byly pozorovány také u extraktů sinic (Gerwick et al. 1994; Borowitzka 1995; Nowotny et al. 1997; Ostensvik et al. 1998). Rovněž toxicita extraktů často nekoreluje s obsahem známých cyanotoxinů a příčinou jsou pravděpodobně dosud neznámé látky nebo možné synergické působení různých sinicových metabolitů (Kuiper-Goodman et al. 1999; Chorus 2001; Oberemm et al. 2001; Utkilen et al. 2001).

Ekologická rizika cyanotoxinů.

Z početných případů letálních otrav nejrozličnějších akvatických i terestrických živočichů a mnoha laboratorních experimentů nebo *in situ* pozorování je zřejmé, že sinice a jejich toxiny mohou kromě zdraví člověka i poškozovat jiné organismy a v některých situacích představovat ekologické riziko. Cyanotoxiny mohou mít vliv na akvatické bakterie, zooplankton, ryby a obojživelníky (přehled např. v (Sivonen and Jones 1999; Duy et al. 2000)). Jsou nebezpečné nejen z hlediska akutní, ale i chronické toxicity, embryotoxicity a vlivů na chování zvířat (Oberemm et al. 1997; Baganz et al. 1998; Oberemm 2001; Oberemm et al. 2001). Ovlivněny mohou být rovněž vodní rostliny, které jsou schopny přijímat microcystiny, a některé studie ukázaly účinky microcystinů na aktivitu rostlinných detoxikačních enzymů (Pflugmacher et al. 1998; Pflugmacher et al. 1999). Pro hodnocení ekologických rizik jsou však tyto někdy i protichůdné informace nedostatečné a jejich detailnější poznání a využití si vyžádá další studium.

Cyanotoxiny a lidské zdraví.

Svědectví o nepříznivých efektech cyanotoxinů pro lidské zdraví pocházejí ze dvou hlavních zdrojů: epidemiologické důkazy včetně otrav lidí a toxikologické studie. Jako třetí informační zdroj mohou posloužit informace o náhodných otravách zvířat (hospodářských nebo divoce žijících).

Epidemiologické důkazy jsou založeny na studiích lidských populací, u nichž se projevíly symptomy otravy nebo poškození zdraví v důsledku expozice cyanotoxiny v pitné vodě nebo jinými způsoby. Pro tento typ důkazů je nezbytná dobrá definovatelnost celého případu a charakterizace expozice. Bohužel, většina případů otrav lidí byla studována retrospektivně a kompletní epidemiologická data, zejména týkající se expozice (počty organismů, typy a koncentrace toxinů), jsou dostupná vzácně. Přesto však epidemiologické studie mají zvláštní důležitost, protože demonstrují spojitost mezi expozicí cyanotoxiny a vlivy na zdraví lidí, které nemohou být odvozeny přímo z experimentů na zvířatech. Přehled nejvýznamnějších intoxikací lidí, které byly velmi pravděpodobně způsobeny cyanotoxiny je uveden v Tabulce 2. Podle okolností a pozorovaných symptomů se předpokládá, že ve většině případů hrály hlavní roli microcystiny, případně cylindrospermopsin, lipopolysacharidy či dosud neidentifikované látky.

Případy, které vyústily v poškození lidského zdraví, byly způsobeny nejčastěji **cyanotoxiny obsaženými v pitné vodě**. Jednalo se zpravidla o situace, kdy došlo k náhlému kolapsu vodních květů (z přirozených příčin, po algicidním zásahu) a hromadnému uvolnění toxinů z mrtvých buněk. Běžné technologie úpravy a čištění vody (sedimentace, filtrace, flokulace, chlorace) nejsou schopny účinně odstraňovat např. microcystiny a ty pak mohou být přítomny v pitné vodě v koncentracích až několik $\mu\text{g.l}^{-1}$ (WHO 1998; Hrudey et al. 1999; Maršálek and Bláha 2001). Kromě akutních efektů se zvažují také vlivy dlouhodobé expozice cyanotoxiny na lidské zdraví. Podle epidemiologické studie realizované v Číně byla chronická expozice microcystiny v pitné vodě jedním z faktorů zvýšené incidence hepatocelulárního karcinomu v některých provinciích (Yu 1989, 1995).

Další skupinu událostí představují otravy v důsledku **expozice cyanotoxiny při plavání nebo vodních sportech**. Nejběžnějšími projevy byly lokální alergické nebo iritační kožní reakce a dermatitidy způsobené dermálním kontaktem se sinicemi a jejich metabolity, a dále systémové poruchy, jejichž příčinnou je zřejmě náhodné požití vody s cyanobaktériemi během plavání (Fitzgerald 2001; Chorus and Fastner 2001). Jak ukázala australská epidemiologická studie, intenzita a četnost některých efektů pozorovaných po rekreační expozici nezávisela na obsahu známých toxinů v biomase sinic, ale souvisela s délkou koupání a koncentrací cyanobakteriálních buněk ve vodě (Pilotto et al. 1997). Tyto efekty tedy zřejmě byly způsobeny jinými dosud nespecifikovanými metabolity sinic (Chorus et al. 2000). Nejčastěji se v této souvislosti uvažuje o lipopolysacharidech.

Zvláštním případem byla **intravenózní expozice** microcystiny, ke které došlo u pacientů hemodialyzního centra v brazilském Caruaru v roce 1996 a která si vyžádala více než padesát lidských životů (Jochimsen et al. 1998; Pouria et al. 1998). Jedná se o jediný dokumentovaný případ úmrtí lidí v přímé souvislosti s cyanotoxiny - na rozdíl od zvířat, kde je smrtelných otrav známo velké množství. Ndrže nebo řeky kontaminované cyanobaktériemi totiž mohou být pro zvířata často jediným dostupným zdrojem vody a jsou pak nucena konzumovat jí nesrovnatelně větší množství, nežli je náhodné požití lidmi při rekreaci (Chorus 2001). Voda z povrchových zdrojů používaná lidmi jako pitná prochází obvykle vodárenskou úpravou, kdy jsou v ideálním případě odstraněny buňky sinic obsahující většinu toxinů a koncentrace cyanotoxinů rozpuštěných v upravené vodě nebývají natolik vysoké, aby způsobily smrt lidí prostou perorální expozicí. Relativně nízký počet (vzhledem k četnosti výskytu vodních květů a v porovnání s množstvím otrav zvířat) všech, tedy i neletálních, otrav lidí může být způsoben nedostatečnou informovaností, kdy ani postižení, ani lékaři zpravidla nespojují symptomy otravy se sinicovými toxiny jako příčinnou (WHO 1998).

	Případy otrav spojené s cyanotoxiny v pitné vodě
1931	USA: masivní vodní květy <i>Microcystis</i> v řekách Ohio a Potomac způsobily onemocnění 5000 – 8000 lidí (převážně gastroenteritidami) v řadě měst zásobovaných vodou z těchto řek
1960 - 1965	Zimbabwe, Harare: v části města zásobované vodou z nádrže s vodním květem <i>Microcystis</i> každoročně v době kolapsu vodního květu docházelo k rozvoji gastroenteritid u dětí. Děti ze čtvrtí s jiným zdrojem vody nebyly ovlivněny a nebyly identifikovány žádné infekční faktory.
1975	Pensylvánie, USA: akutní gastroenteritidy u 62% z 8000 lidí, konzumace vody z nádrže se sinicí <i>Schizotrix</i>
1975	USA: endotoxický šok 23 dialyzních pacientů ve Washingtonu související s rozvojem sinic ve vodárenské nádrži
1979	Austrálie: po algicidním zásahu proti vodnímu květu <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> ve vodárenské nádrži na Palm Island onemocnělo přes 140 obyvatel (převážně dětí) těžkými hepatoenteritidami, které si vyžádaly hospitalizaci. Symptomy byly malátnost, nechutenství, zvracení, bolesti hlavy, zvětšení jater, zácpy následované krvavými průjmy, dehydratace. Rozbory moče prokázaly poškození ledvin a rozbory krve zvýšené hladiny jaterních enzymů indikující poškození jater.
1981	Austrálie, Armidale: epidemiologická studie ukázala signifikantní změny aktivity některých jaterních enzymů (zejména gama glutamyl transferázy) v krevním séru lidí během rozvoje a následné likvidace vodního květu <i>Microcystis</i> ve vodárenské nádrži
1988	Brazílie: po napuštění přehrady Itaparica v roce 1988 bylo během 42 dnů zaznamenáno na 2000 případů gastroenteritid, z nichž 88 skončilo úmrtím. Následující výzkumy potenciálních příčin této epidemie vyloučily infekční patogeny, naopak zjistily vysoké koncentrace toxických cyanobakterií (<i>Anabaena</i> a <i>Microcystis</i>) v přívodech pitné vody v postižených oblastech.
1991 - 1992	jih Austrálie: 26 případů kožních a systémových onemocnění spojených s expozicí (v některých případech konzumace) říční a dešťové vody skladované v otevřených nádržích s vodními květy <i>Anabaena</i>
1992	střední Austrálie: onemocnění „horečkou Barcoo“, nevolnosti a zvracení v souvislosti s konzumací vody obsahující hepatotoxiny
1993	Čína: podle epidemiologické studie četnost výskytu rakoviny jater souvisí mj. se zdroji pitné vody a je významně vyšší u populací používajících povrchovou vodu zamořenou sinicemi než u populací s podzemními zdroji pitné vody. Předpokládá se, že příčinnou jsou microcystiny.
1994	Švédsko, 3 vesnice poblíž Malmö: po dobu několika hodin došlo k náhodnému míchání vodárensky neupravené říční vody s pitnou vodou. V řece v té době rostla hustě sinice <i>Planktothrix agardhii</i> produkující microcystiny. 121 obyvatel (z celkových 304) onemocnělo (nevolnosti, bolesti břicha, svalů, hlavy, zvracení, průjmy, horečky). Ovlivněna byla také domácí zvířata (psi a kočky).
	Případy spojené s rekreační expozicí
1959	Kanada, Saskatchewan: navzdory úhynům dobytka a varováním před rekreačním využitím plavali lidé v jezeře zamořeném sinicemi. 13 osob onemocnělo (bolesti hlavy, nevolnost, bolesti svalů, bolestivé průjmy). V exkrementech jednoho z pacientů, který náhodně požil asi 300ml vody, byly identifikovány sinice <i>Microcystis</i> a <i>Anabaena circinalis</i> .
1980 - 1981	Pensylvánie a Nevada, USA: u více než 100 osob podráždění očí, kůže, bolest uší, symptomy „senné rýmy“, akutní gastroenteritidy aj. po plavání a vodním lyžování v jezeře s <i>Aphanizomenon</i> a <i>Anabaena</i>
1989	Anglie: po plavání a jízdě na kanoích ve vodě se silným vodním květem sinic rodu <i>Microcystis</i> trpělo 10 z 20 branců zvracením, průjmy, bolestmi břicha, otoky rtů, bolestmi v krku. U dvou z nich se rozvinul silný zápal plic (zřejmě způsobený aspirací

	cyanotoxinů), který si vyžádal hospitalizaci. Zdá se, že závažnost onemocnění souvisela s jejich schopnostmi plavat a s množstvím polknuté vody.
1995	Austrálie: epidemiologické důkazy nepříznivých zdravotních efektů po kontaktu s cyanobaktériemi při rekreaci. Studie zahrnující 852 účastníků ukázala zvýšenou frekvenci kožních vyrážek, vředů v ústech, horeček, podráždění očí, uší a kůže, průjmů, zvracení, „syndromů chřipky“ během 2 – 7 dnů po expozici při koupání. Intenzita a četnost symptomů se významně zvyšovala v závislosti na době trvání koupání a na hustotě vodního květu.
	Intoxikace jinými expozičními cestami
1996	Brazílie, Caruaru: asi 85% z cca 130 pacientů místního hemodialyzačního centra po rutinní renální dialýze trpělo poruchami zraku, nevolností, zvracením, svalovou slabostí a bolestivou hepatomegalií. U 100 z nich následně dochází akutnímu selhání jater a 56 umírá. Nejméně 44 obětí vykázalo podobné symptomy (včetně jaterní histopatologie) jako zvířata exponovaná microcystiny v laboratorních pokusech. V krevním séru exponovaných pacientů a jaterní tkáni mrtvých byly stanoveny microcystiny. V nádrži sloužící také jako zdroj vody pro dialyzační centrum, byly poté identifikovány sinice rodů <i>Aphanizomenon</i> , <i>Oscillatoria</i> a <i>Spirulina</i> .

Tab.2: Přehled humánních intoxikací (sestaveno podle (WHO 1998, 1998; Kuiper-Goodman et al. 1999; Duy et al. 2000; Chorus et al. 2000))

Jiné toxické látky produkované sinicemi. Bylo již zmiňováno, že některé efekty pozorované v laboratořích nebo přírodních podmínkách nekorelují s obsahem známých toxinů v biomase sinic. Při rekreační expozici se velmi často objevují různé symptomy (např. podráždění kůže a alergické reakce (Falconer 1998)), jejichž intenzita nezávisí na obsahu microcystinů, ale na koncentraci cyanobakteriálních buněk ve vodě (Pilotto et al. 1997). Rovněž nedávná práce (Törökne et al. 2001) ukázala, že extrakty různých vzorků vodního květu jsou středně silnými až extrémně silnými alergeny (maximalizační senzitivizační test na morčatech), zanedbatelnými až středně silnými kožními iritanty (intradermální iritační test na králících) a v některých případech očními iritanty (oční iritační test na králících). Mezi alergickými a iritačními účinky těchto extraktů nebyl patrný žádný vztah a tyto efekty také, na rozdíl od toxicity v testu na myších, nekorelovaly s koncentracemi microcystinů stanovenými v extraktech pomocí HPLC. Jsou tedy způsobeny nejspíš jinými sloučeninami. Kromě intracelulárních metabolitů sinic se v této souvislosti uvažuje o lipopolysacharidech buněčných stěn cyanobaktérií nebo dokonce o baktériích žijících v buněčných stěnách a slizovitých obalech sinic, neboť extrakty axenních cyanobakteriálních kmenů nevykazovaly žádné alergické účinky.

Shrnutí:

Lidská činnost vedla v minulosti k zvýšení přirozených koncentrací a akumulaci extrémního množství anorganických živin v prostředí včetně vodních ekosystémů (eutrofizace). Přítomnost těchto živin (zejm. fosforu) významně podporuje růst cyanobaktérií (sinic), které v posledním desetiletí dominují ve vodních ekosystémech v zemích celého světa včetně ČR. Masové rozvoje sinic mají řadu negativních důsledků jak na přirozenost složení a funkce vodních ekosystémů (zejm. změny pH vody a obsahu kyslíku vedoucí k destrukci biodiverzity nádrží, náhlým úmrtím ryb apod.), ale mohou poškozovat významně i lidské zdraví produkcí toxinů - cyanotoxinů. V příloženém příspěvku jsou detailně diskutovány dostupné informace o působení nejznámějších a nejlépe prostudovaných toxinů sinic (microcystiny), ale také o zdravotních rizicích dalších sinicových metabolitů. Sinice představují stálý problém v životním prostředí, jehož řešení vyžaduje jednak nákladné zásahy proti masivním rozvojem sinic v konkrétních postižených nádržích, ale především důslednou prevenci (tj. soustavnou minimalizaci uvolňování dalších živin - zejména fosforu) do prostředí.

Použitá literatura

- [1] BAGANZ D, STAAKS G, STEINBERG C. (1998). Impact of the cyanobacteria toxin, microcystin-LR on behaviour of zebrafish, *Danio rerio*. *Water Res* 32: 948-952.
- [2] BICKEL H, NEUMANN U, WECKESSER J (2001). Peptides and depsipeptides produced by cyanobacteria. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 281-286.
- [3] BOROWITZKA MA. (1995). Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *Journal of applied phycology* 7: 3-15.
- [4] BOURNE DG, RIDDLES P, JONES G, SMITH W, BLAKELEY RL. (2001). Characterisation of gene cluster involved in bacterial degradation of cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Environmental Toxicology* 16: 523-534.
- [5] CARMICHAEL WW. (1997). The Cyanotoxins. *Advances in Botanical Research* 27: 211-226.
- [6] DUY TN, LAM PKS, SHAW GR, CONNELL DW. (2000). Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. *Rev Environ Contam Toxicol* 163: 113-186.
- [7] EPA (2001). Meeting Summary. Creating a Cyanotoxin Target List for Unregulated Contaminant Monitoring Rule, US EPA Technical Center, Cincinnati, OH, USA.
- [8] ERIKSSON JE, GRÖNBERG L, NYGLÖRD S, SLOTTÉ JP, MERILUOTO JAO. (1990). Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR a cyclic peptide toxin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1025: 60-66.
- [9] FALCONER IR (1998). Algal Toxins and Human Health. *The Handbook of Environmental Chemistry*. J. Hrubec. Berlin, Springer-Verlag. 5: 53-82.
- [10] FALCONER IR, BURCH M, STEFFENSEN DA, CHOICE M, COVERDALE OR. (1994). Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.* 9: 131-139.
- [11] FALCONER IR, SMITH JV, JACKSON ARB, JONES A, RUNNEGAR MTC. (1988). Oral toxicity of a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* administered to mice over periods up to 1 year. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 24: 291-305.
- [12] FALCONER IR, YEUNG DSK. (1992). Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chem.-Biol. Interactions* 81: 181-196.
- [13] FAWELL JK, JAMES CP, JAMES HA (1994). Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water, pp. 1-46. Medmenham, UK, Water Research Center.
- [14] FITZGEORGE R, CLARK S, KEEVIL C (1994). Routes of intoxication. Detection methods for cyanobacterial toxins. G. A. Codd, T. M. Jefferies, C. Keevil and E. Potter, *The Royal Society of Chemistry*: 69-74.
- [15] FITZGERALD DJ (2001). Cyanotoxins and human health - overview. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 179-190.
- [16] FORCHERT A, NEUMANN U, PAPENDORF O (2001). New cyanobacterial substances with bioactive properties. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 295-315.
- [17] FUJIKI H, SUGANUMA M. (1993). Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds. *Advances in Cancer Research* 61: 143-194.
- [18] GERWICK WH, ROBERTS MA, PROTEAU PJ, CHEN JL. (1994). Screening cultured marine microalgae for anticancer-type activity. *Journal of Applied Phycology* 6: 143-149.
- [19] HITZFELD BC, HOGER SJ, DIETRICH DR. (2000). Cyanobacterial toxins: Removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental Health Perspectives* 108: 113-122.
- [20] HRUDEY S, BURCH M, DRIKAS M, GREGORY R (1999). Remedial measures. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management*. I. Chorus and J. Bartram. London, E&FN Spon: 275-312.
- [21] HUMPAGE AR, FALCONER IR. (1999). Microcystin-LR and liver tumor promotion: Effects on cytokinesis, ploidy, and apoptosis in cultured hepatocytes. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 14: 31p.
- [22] CHETSUMON A, UMEDA F, MAEDA I, YAGI K, MIZOGUCHI T, MIURA Y. (1998). Broad spectrum and mode of action of an antibiotic produced by *Scytonema* sp. TISTR 8208 in a seaweed-type bioreactor. *Appl Biochem Biotechnol* 2249-256.
- [23] CHORUS I (2001). Cyanotoxin occurrence in freshwaters - a summary of survey from different countries. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 75-82.
- [24] CHORUS I (2001). Introduction: Cyanotoxins - research for environmental safety and human health. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 1-4.
- [25] CHORUS I, FALCONER IR, SALAS HJ, BARTRAM J. (2000). Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 3: 323-347.
- [26] CHORUS I, FASTNER J (2001). Recreational exposure to cyanotoxins. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 190-199.
- [27] ITO E, KONDO F, HARADA K-I. (1997). Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin-LR. *Toxicon* 35: 231-239.

- [28] JOCHIMSEN EM, CARMICHAEL WW, AN JS, CARDO DM, COOKSON ST, HOLMES CEM, ANTUNES MBD, DEMELO DA, LYRA TM, BARRETO VST, AZEVEDO S, JARVIS WR. (1998). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N Engl J Med* 338: 873-878.
- [29] KELETI G, SYKORA JL. (1982). Production and properties of cyanobacterial endotoxins. *Applied and Environmental Microbiology* 43: 104-109.
- [30] KONDO F, MATSUMOTO H, YAMADA S, ISHIKAWA N, ITO E, NAGATA S, UENO Y, SUZUKI M, HARADA KI. (1996). Detection and identification of metabolites of microcystins formed in vivo in mouse and rat livers. *Chemical Research in Toxicology* 9: 1355-1359.
- [31] KUIPER-GOODMAN T, FALCONER IR, FITZGERALD DJ (1999). Human health aspects. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management*. I. Chorus and J. Bartram. London, E&FN Spon: 113-153.
- [32] LAWTON LA, EDWARDS C. (2001). Purification of microcystins - review. *Journal of chromatography A* 912: 191-209.
- [33] MACKINTOSH C, BEATTIE K, KLUMPP S, COHEN C, CODD GA. (1990). Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Letters* 264: 187-192.
- [34] MACKINTOSH RW, DALBY KN, CAMPBELL DG, COHEN PTW, COHEN P, MACKINTOSH C. (1995). The Cyanobacterial Toxin Microcystin Binds Covalently to Cysteine-273 on Protein Phosphatase-1. *Febs Letters* Vol 371, Iss 3: 236-240.
- [35] MARQUEZ B, VERDIERPINARD P, HAMEL E, GERWICK WH. (1998). Curacin D, an antimitotic agent from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *Phytochemistry* 49: 2387-2389.
- [36] MARŠÁLEK B, BLÁHA L (2001). Dissolved microcystins in raw and treated drinking water in the Czech Republic. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 212-217.
- [37] MARŠÁLEK B, BLÁHA L, TURÁNEK J, NEČA J (2001). Microcystin-LR and total microcystins in cyanobacterial blooms in the Czech republic 1993-1998. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 56-62.
- [38] MORLIERE P, MAZIERE JC, SANTUS R, SMITH CD, PRINSEP MR, STOBBE CC, FENNING MC, GOLBERG JL, CHAPMAN JD. (1998). Tolyporphin: A natural product from cyanobacteria with potent photosensitizing activity against tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 58: 3571-3578.
- [39] NAMIKOSHI M, RINEHART KL. (1996). Bioactive compounds produced by cyanobacteria. *Journal of Industrial Microbiology* 17: 373-384.
- [40] NOWOTNY A, MENTEL R, WEGNER U, MUNDT S, LINDEQUIST U. (1997). Antiviral activity of an aqueous extract of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Phytotherapy Research* 11: 93-96.
- [41] OBEREMM A (2001). Effects of cyanotoxins on early life stages of fish and amphibians. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 240-248.
- [42] OBEREMM A, FASTNER J, STEINBERG CEW. (1997). Effects of Microcystin-LR and Cyanobacterial Crude Extracts on Embryo-Larval Development of Zebrafish (*Danio-Rerio*). *Water Research* Vol 31, Iss 11: 2918-2921.
- [43] OBEREMM A, HEINZE R, PAPENDORF O, FASTNER J (2001). Significance of unidentified toxic compounds and approaches to their identification. *Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences*. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 286-295.
- [44] OSTENSVIK O, SKULBERG OM, UNDERDAL B, HORMAZABAL V. (1998). Antibacterial properties of extracts from selected planktonic freshwater cyanobacteria - a comparative study of bacterial bioassays. *J Appl Microbiol* 84: 1117-1124.
- [45] PATTERSON GML, LARSEN LK, MOORE RE. (1994). Bioactive natural products from blue-green algae. *Journal of Applied Phycology* 6: 151-157.
- [46] PFLUGMACHER S, CODD GA, STEINBERG CEW. (1999). Effects of the cyanobacterial toxin microcystin-LR on detoxication enzymes in aquatic plants. *Environmental Toxicology* 14: 111-115.
- [47] PFLUGMACHER S, WIEGAND C, BEATTIE KA, CODD GA, STEINBERG CEW. (1998). Uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR by aquatic macrophytes. *J Appl Bot Angew Bot* 72: 228-232.
- [48] PILOTTO LS, DOUGLAS RM, BURCH MD, CAMERON S, BEERS M, ROUGH GR, ROBINSON P, KIRK M, COWIE CT, HARDIMAN S, MOORE C, ATTEWELL RG. (1997). Health effects of recreational exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water-related activities. *Aust. N. Zealand J. Public Health* 21: 562-566.
- [49] POURIA S, DEANDRADE A, BARBOSA J, CAVALCANTI RL, BARRETO VTS, WARD CJ, PREISER W, POON GK, NEILD GH, CODD GA. (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet* 352: 21-26.
- [50] RAO PVL, BHATTACHARYA R. (1996). The Cyanobacterial Toxin Microcystin-LR Induced DNA-Damage in Mouse-Liver in-Vivo. *Toxicology* Vol 114, Iss 1: 29-36.
- [51] RAO PVL, BHATTACHARYA R, PARIDA MM, JANA AM, BHASKAR ASB. (1998). Freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UTEX 2385) induced DNA damage in vivo and in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol* 5: 1-6.

- [52] RAPALA J (1998). Toxin production by freshwater cyanobacteria: effects of environmental factors. Department of Applied Chemistry and Microbiology. Helsinki, Finland, University of Helsinki.
- [53] RAZIUDDIN S, SIEGELMAN HW, TORNABENE TG. (1983). Lipopolysaccharides of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Eur. J. Biochem. 137: 333-336.
- [54] RINEHART KL, NAMIKOSHI M, CHOI BW. (1994). Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). Journal of applied phycology 6: 159-176.
- [55] Romay C, Armesto J, Ramirez D, Gonzalez R, Ledon N, Garcia I. (1998). Antioxidant and anti-inflammatory properties of C- phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Research 47: 36-41.
- [56] Sivonen K, Jones G (1999). Cyanobacterial toxins. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management. I. Chorus and J. Bartram. London, E&FN Spon: 41-111.
- [57] Suzuki H, Watanabe MF, Wu YP, Sugita T, Kita K, Sato T, Wang XL, Tanzawa H, Sekiya S, Suzuki N. (1998). Mutagenicity of microcystin-LR in human RSa cells. Int J Mol Med 2: 109-112.
- [58] Törökne A, Palovics A, Bankine M. (2001). Allergenic (sensitization, skin and eye irritation) effects of freshwater cyanobacteria - experimental evidence. Environmental Toxicology 16: 512-516.
- [59] Utkilen H, Skulberg O, Skulberg R, Gjølme N, Underal B (2001). Toxic cyanobacterial blooms of inland waters in Southern Norway. Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 46-49.
- [60] Weckesser J, Drews G. (1979). Lipopolysaccharides of photosynthetic procaryotes. Ann. Rev. Microbiol. 33: 215-239.
- [61] Welker M, Steinberg C, Jones G (2001). Release and persistence of microcystins in natural waters. Cyanotoxins - Occurrence, Causes, Consequences. I. Chorus. Berlin, Springer-Verlag: 83-101.
- [62] WHO (1998). Guidelines for drinking-water quality. Second edition, Addendum to Volume 2, Health criteria and other supporting information. Geneva, World Health Organisation.
- [63] WHO (1998). Chapter 7: Freshwater algae and cyanobacteria. Guidelines for Safe Recreational-water Environments, Volume 1: Coastal and Freshwaters, Draft for Consultation, World Health Organization: 125-209.
- [64] Yoshida T, Makita Y, Nagata S, Tsutsumi T, Yoshida F, Sekijiima M, Tamura SI, Ueno Y. (1997). Acute oral toxicity of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in mice. Natural Toxins 5: 91-95.
- [65] Yoshizawa S, Matsushima R, Watanabe MF, Harada K-I, Ichihara A, Carmichael WW, Fujiki H. (1990). Inhibition of protein phosphatases by microcystin and nodularin associated with hepatotoxicity. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 116: 609-614.
- [66] Yu S-Z (1989). Drinking water and primary liver cancer. Primary liver cancer. Z. Y. Tang, M. C. Wu and S. S. Xia. New York, China Academic Publishers: 30-37.
- [67] Yu S-Z. (1995). Primary prevention of hepatocellular carcinoma. J. Gastroenterol. Hepatol. 10: 674-682.