



CIANOBAKTERIJE IN NJIHOVI TOKSINI

Modrozeleni cvet s 'trni'

► Alja Štraser

🔗 **Cianobakterije** so med najstarejšimi organizmi, ki jih najdemo v fosilnem zapisu, saj so živele že pred približno 3 milijardami leti. (Risba: Alja Štraser)

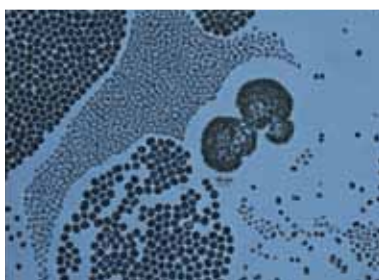
Cianobakterije, do nedavnega znane pod imenom modrozelenne alge, so ena od najstarejših življenjskih oblik na Zemlji in so tudi najzaslužnejše za nastanek življenja, kot ga poznamo danes. So izredno raznovrstne, tako fiziološko kot morfološko, in naseljujejo najrazličnejše ekosisteme, v katerih imajo pomembno vlogo. Sintetizirajo številne biološko aktivne snovi, ki so potencialno koristne v medicini, ter tudi take, ki so lahko škodljive za ljudi in živali (cianotoksini). Slednje pomenijo vse resnejše tveganje za zdravje ljudi, saj se cianobakterije z onesnaževanjem voda in s podnebnimi spremembami vse pogosteje množično pojavljajo v obliki cianobakterijskih cvetenj.

CIANOBAKTERIJE PREDSTAVLJAJO ENO OD GLAVNIH KRALJESTEV V DOMENI BAKTERIJ. Morfološko so zelo raznovrstne, saj jih najdemo v enocelični obliki, v skupkih ali filamentih, pri čemer je premer posamezne celice lahko od manj kot 2 do več kot 40 µm. Prisotne so v skoraj vseh mogočih habitatih, vključno z ekstremnimi okolji, kot so antarktična jezera, vroči vreli, puščave, slana je-

zera in tropska kislata tla. Živijo lahko kot simbiotični gliv, spužev, rastlin ali drugih organizmov, predvsem pa so znane kot sestavni del planktona v morjih in sladkovodnih ekosistemih.

Pojavile naj bi se pred približno 3 milijardami let in z razvojem oksigene fotosinteze začele oblikovati Zemljino atmosfero, kot jo poznamo danes. Kopičenje kisika v njej je sprožilo razvoj aerobnega dihanja z

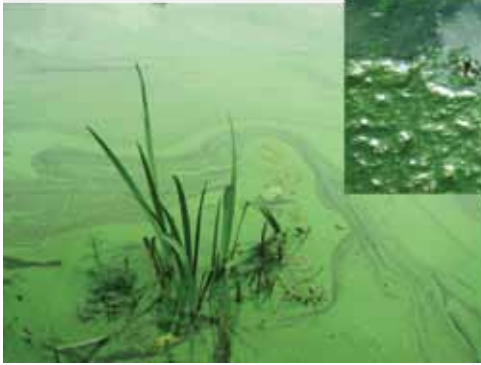
↻ Cianobakterije iz okoljskih vzorcev pod svetlobnim mikroskopom: na zgornji sliki je združba različnih vrst cianobakterij, na spodnji pa vidimo cianobakterije iz rodu *Microcystis*. (Foto: Gorazd Kosi)



nadvse učinkovito elektronsko transportno verigo, ki je bila zelo pomembna za nastanek kompleksnih evkariotskih organizmov. Oksigenacija atmosfere je omogočila tudi nastanek ozonske plasti ter s tem pripomogla k razširitvi življenja iz vode na kopno. Po endosimbiontski teoriji so ti majhni organizmi zaslužni tudi za razvoj rastlin, saj naj bi se razvili v rastlinske kloroplaste, celične organele, v katerih rastline izvajajo fotosintezo. Fotosinteza je osnovni proces v živem svetu, ki pretvarja sončno energijo v hrano in kisik. Cianobakterije danes skupaj s fitoplanktonom proizvedejo okoli 70 % prostega kisika na Zemlji. Ker večino zemeljske površine pokrivajo oceani, deževni gozdovi z vso svojo rastlinsko pestrostjo tem avtotrofnim planktonskim bitjem po proizvodnji kisika ne sežejo niti do pet. Tako smo tem majhnim organizmom lahko še kako hvaležni, saj bi brez njih verjetno še zmeraj plavali po primarni juhi in izvajali neko vrsto anoksigenega dihanja.

Cianobakterije so vpletene tudi v kroženje dušika na Zemlji. Številne vrste namreč v specializiranih cistah (heterocistah) izvajajo fiksacijo atmosferskega dušika (N_2). Ta je večini organizmov nedostopen in ker je dušika v prsti malo, je pogosto omejujoč dejavnik za rast rastlin. Bakterije pretvorijo N_2 v druge anorganske oblike dušika, kot sta nitrat in nitrit. Te rastline vgradijo v proteine in nukleinske kisline, tj. organske molekule, ki predstavljajo vir dušika, ki lahko potem vstopa v prehranjevalne verige.

Cianobakterije bi v prihodnosti lahko bile koristne tudi v medicini. Postale so priljubljen vir za odkrivanje novih razredov farmacevtsko aktivnih spojin, ki kažejo biološke aktivnosti, ki segajo od antibiotičnih, imunosupresivnih, protivirusnih in protivnetnih do protitumorskih. Prav tako so svoje mesto dobile v raziskavah proizvodnje biogoriv. A tako, kot velja za vse drugo, tudi za cianobakterije lahko rečemo, da preveč dobrega ni več dobro. Z vse močnejšim onesnaževanjem voda in podnebnimi spremembami se namreč v površinskih vodah po vsem svetu vse pogosteje pojavljajo t. i. cianobakterijska cvetenja. Ko se cianobakterije zaradi ugodnih življenjskih razmer, npr. velikega vnosa organskih snovi v vodo, preveč namnožijo, na vodni gladini tvorijo gošče in preproge. V razmerah pribitka hranil začne populacija tvoriti številne različne snovi – sekundarne metabolite, ki so lahko tudi škodljivi za ljudi in živali. Najverjetneje veliko teh snovi še ne poznamo, za druge pa lahko le ugibamo o njihovih bioloških aktivnostih in ekološki vlogi. Glavna težava nastane, ko začnejo celice ob koncu cvetenja



📍 Cvetenje cianobakterij v vodnih zajetjih v Podgradu pri Šentjurju in v Hotinji Vasi pri Mariboru (Foto: Anja Bubik)

propadati in se vse te snovi izločajo v vodo, kjer lahko ostanejo različno dolgo, prek nje pa lahko pridemo v stik z njimi tudi ljudje.

► GENOTOKSIČNI CIANOTOKSINI

Cianobakterijske sekundarne metabolite, ki so škodljivi za ljudi in živali, označujemo kot cianobakterijske strupe oz. toksine (cianotoksine). Glede na glavni cilj njihovega delovanja jih uvrščamo med hepatotoksine (jetra), nevrotoksine (živčni sistem) in dermatotoksine (koža). Hepatotoksini, mikrocistini, nodularini in cilindrospermopsini lahko povzročajo različne bolezenske znake, kot sta slabost in bruhanje, ter bolezenska stanja, ki segajo od vnetja jeter, želodca in prebavil do pljučnice. Nevrotoksini, kot so anatoksin-a in anatoksin-a(s) ter eden izmed najmočnejših naravnih strupov, saksitoksin, pa delujejo na živčne celice, preprečujejo prenos signalov med njimi in mišičnimi celicami, povzročajo ohromelost, v najhujšem primeru pa lahko pride tudi do zadušitve.

Po svetu so znani številni primeri zastrupitev in poginov živali, medtem ko je dobro dokumentiranih primerov zastrupitev ljudi s cianotoksini le malo. Razlog za to je verjetno v tem, da ljudje v večini primerov pridejo v stik z nizkimi koncentracijami, ki ne povzročijo dovolj opaznih simptomov, ki bi jih lahko povezali s cianotoksini. Prav nizke (nestrupene) koncentracije in dolgotrajna izpostavljenost pa so lahko celo bolj nevarne, saj znanstveniki zadnje čase potrjujejo tudi druge lastnosti teh strupov, in sicer njihovo škodljivo delovanje na DNK, kjer povzročajo poškodbe (genotoksičnost), ter njihovo možno rakotvorno delovanje.

Na področju genetske toksikologije se je v preteklosti veliko pozornosti posvečalo predvsem hepatotoksinom, mikrocistinom, cikličnim heptapeptidom, ki so najpogostejši cianotoksini in se v okolju pojavljajo v razmeroma visokih koncentracijah. Mikrocistini so tudi največja in najbolj raznovrstna skupina cianotoksinov. Proizvajajo jih številne vrste cianobakterij iz rodu *Microcystis*,

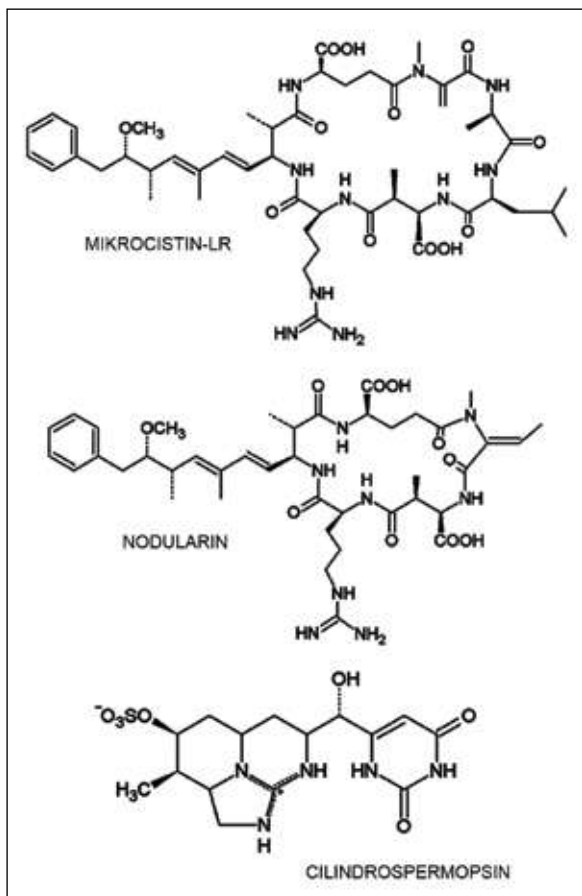
Anabaena, *Oscillatoria* in mnoge druge. Poznamo več kot 70 različnih kemijskih oblik, med katerimi je mikrocistin-LR najpogostejša. Po strukturi so jim zelo podobni hepatotoksični ciklični pentapeptidi, nodularini. Za zdaj je znanih le 6 različnih nodularinov iz cianobakterije *Nodularia spumigena* in eden iz spužve, ki je verjetno produkt mikrobnega simbionta. Mikrocistini in nodularini so zaviralci encimov – proteinskih fosfatov, ki so zadolženi za defosforilacijo različnih celičnih komponent. Zaviranje njihovega delovanja povzroči čezmerno fosforilacijo proteinov citoskeleta, spremembo in preureditev citoske-

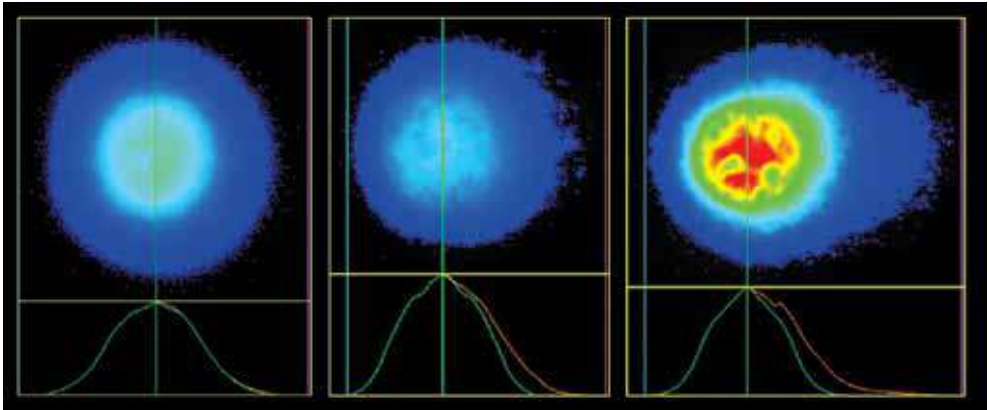
leta, izgubo delovanja medceličnih stikov ter s tem motnje v številnih celičnih procesih, propad hepatocitov in na koncu jeter.

Vse pogosteje v površinskih vodah po vsem svetu opažajo tudi prisotnost hepatotoksina cilindrospermopsin. Gre za razmeroma majhen alkaloid, ki ga proizvajajo nekatere vrste cianobakterij iz rodov *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Umezakia*, *Raphidiopsis* in *Lyngbia*. Mehanizem delovanja cilindrospermopsina je drugačen kot pri mikrocistinih in nodularinu. Zavira namreč proteinsko sintezo na ravni prepisovanja mRNK v aminokislinsko zaporedje, vendar pa večino njegovih toksičnih in genotoksičnih učinkov pripisujejo predvsem metabolitom, ki nastanejo pri razgradnji cilindrospermopsina z metabolnimi encimi.

V Sloveniji je bilo doslej najdenih vsaj 12 potencialno strupenih vrst cianobakterij. Tako se s proučevanjem genotoksičnih učinkov cianotoksinov ukvarjamo tudi na Nacionalnem inštitutu za biologijo v Ljubljani. Strupeni cveti cianobakterij se precej pogosto pojavljajo v jezerih in zadrževalnikih po Sloveniji. Množično se pojavljata predvsem vrsti *Microcystis aeruginosa* in *Planktothrix rubescens*. Vsako leto opažamo prisotnost različnih rodov cianobakterij, ki so potencialni izdelovalci mikrocistina, nodularina in cilindrospermopsina. S tem v zvezi v površinskih vodah, med drugim tudi v Blejskem jezeru, redno zaznavamo mikrocistine. Kljub temu pa (razen v kopalnih vodah, ki so pod nadzorom Agencije Republike Slovenije za okolje – ARSO) rasti cianobakterij in koncentracij strupov v slovenskih vodah ne spremljamo.

☞ Kemijska struktura mikrocistina-LR, nodularina in cilindrospermopsina (Risba: Alja Štraser)



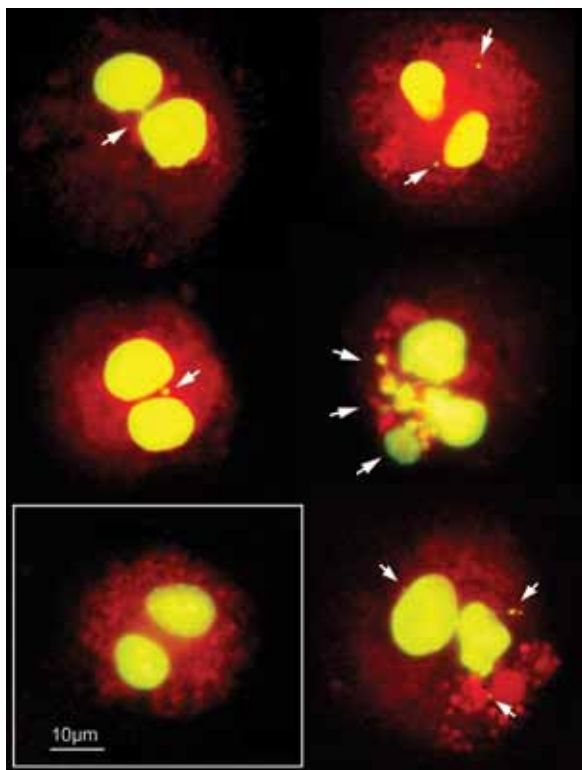


Vsi trije omenjeni cianobakterijski hepatotoksini povzročajo poškodbe DNK v različnih *in vitro* modelih. Na te poškodbe celica odgovori na različne načine. Če so poškodbe DNK preveč obsežne, celica sproži programirano celično smrt (apoptozo), ki je natančno regulirana in je v takem primeru izredno koristna, saj se tako iz tkiv na za sosednje celice neškodljiv način odstranijo poškodovane, potencialno nevarne celice. Pri manj obsežnih poškodbah lahko pride do ustavitve celičnega cikla in popravljanja napak, ki so nastale v DNK zaradi vpliva kemičnih ali fizikalnih dejavnikov, kar pa ni vedno popolno (oz. cikla sploh ni) in lahko privede do napak in mutacij. Kolikor več je poškodb DNK, ki jih mora celica popraviti, toliko večja je verjetnost za napake v popravljanju, mutacije in nastanek raka. Mikrocinistini in nodularini zavirajo nekatere popravilne mehanizme DNK in so tudi zato znani kot spodbujevalci nastanka tumorjev. Nenavadne lastnosti teh dveh strupov so znanstveniki opazili v različnih *in vivo* raziskavah na miših in podganah. Nodularin in cilindrospermopsin bi lahko delovala celo rakotvorno, vendar pa je bilo takšnih raziskav doslej

še premalo, da bi lahko podale jasne sklepe. Mikrocinistine, ki so najbolj raziskani, je Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC) uvrstila v skupino možnih človeških karcinogenov, za uvrstitev nodularina in cilindrospermopsina pa je podatkov za zdaj še premalo.

Kljub vsemu naše in tudi številne druge raziskave kažejo potencialno zelo resno nevarnost, ki je ne smemo spregledati. Brazilija, Kanada, Francija, Španija, Poljska, Češka in mnoge druge države so že sprejele standarde za pitno vodo oz. postavile smernice za dovoljene koncentracije cianotoksinov v pitni vodi. Večinoma ti standardi slonijo na priporočeni koncentraciji za mikrocinistin-LR (manj od 1 µg/l), ki jo je podala Svetovna zdravstvena organizacija (WHO), vendar pa ponekod vključujejo tudi druge cianotoksine. Smernice za vodna telesa, ki se uporabljajo v rekreativne namene, večinoma dovoljujejo nekoliko višje koncentracije. V Sloveniji standardi za pitno vodo ne vključujejo cianobakterij in njihovih strupov. Kopalna direktiva (2006/7/ES), ki narekuje izvajanje monitoringa kopalnih vod, jih sicer vključuje, vendar pa ne zajema neuradnih kopaljšč (t. i.

🔗 Cianotoksini povzročajo poškodbe DNK. Na sliki so jedra človeških jetrnih celic, kot jih vidimo s testom komet pod fluorescentnim mikroskopom. Na levi je nepoškodovano jedro, desno pa močno poškodovano jedro ali komet. (Foto: Alja Štraser)



◉ Izpostavljenost nekaterim cianotoksinom povzroča poškodbe genskega materiala, kar pomeni morebiten izvor nastanka raka. Na sliki so človeške jetrne celice pod fluorescentnim mikroskopom, v okvirčku levo spodaj pa je slika normalne celice. S puščicami so označene strukture, ki so posledica poškodb DNK ali napak pri podvajanju celic, mikrojedra (majhne okrogle strukture), jedrni brsti (strukture različnih oblik, povezane z jedrom) in jedrni mostiček (povezava med jedroma). Celice so dvojedrne zaradi zavrte citokineze, ki jo zavremo med testom mikrojedrer, da lahko opazujemo poškodbe, ki so nastale po delitvi jeder. (Foto: Alja Štraser)

kopališč na črno) in drugih vodnih zajetji, ki jih ljudje uporabljajo v rekreativne namene. Na Nacionalnem inštitutu za biologijo, kjer se ukvarjamo s problematiko cianobakterijskih toksinov in cvetenju, si prizadevamo, da bi se cvetenju cianobakterij v Sloveniji posvečalo več pozornosti. Prebivalstvo bi bilo treba ozaveščati o potencialni nevarnosti, ki jo pojav predstavlja, uporabnike prizadetih vodnih teles pa

opozarjati na potencialno zelo resno tveganje. Določanje standardov oz. smernic je pomembno, vendar pa je oboje zasnovano le za preprečevanje strupenih učinkov cianotoksinov, saj na vprašanje, ali sploh obstajajo varne koncentracije genotoksičnih in karcinogenih snovi, še nimamo odgovora.

VIRI IN LITERATURA

- ▶ Madigan s sod., Brock Biology of Microorganisms. 12. Izdaja. San Francisco (USA): Benjamin Cummings, 2008.
- ▶ Štraser s sod., Genotoxic effects of the cyanobacterial hepatotoxin cylindrospermopsin in the HepG2 cell line. Archives of Toxicology, 2011.
- ▶ Žegura s sod., Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review, Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 2011.
- ▶ Sedmak in Kosi, Microcystins in Slovene freshwaters (Central Europe) – first report, Natural Toxins, 1997.
- ▶ Chorus, Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Dessau (Germany): Federal Environmental Agency, 2005.
- ▶ Sedmak, Cianobakterije in njihovi toksini – Kdo so, kje jih najdemo in kako delujejo? Zbirka Vse Živo, Nacionalni inštitut za biologijo, 2011.

SPLETNI NASLOVI

- ▶ <http://tvslo.si/predvajaj/cianobakterije-oddaja-o-znanosti/ava2.118167561/>
- ▶ <http://youtu.be/DE4CPmTH3xg>
- ▶ http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/cyanobactox/en/index.html
- ▶ <http://www.issha.org/Welcome-to-ISSHA/Harmful-Algae-Links/Phycotoxins/Cyanotoxins>