

FYKOTOXINY A NĚKTERÉ MÉNĚ ZNÁMÉ TOXINY MOŘSKÉHO PŮVODU

Plk. v. v. prof. MUDr. Vratislav HRDINA, CSc., plk. v. v. doc. RNDr. Vladimír MĚRKA, CSc.

¹Jiří PATOČKA, ²Radomír HRDINA

¹Zdravotně sociální fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice

²Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Souhrn

Fykotoxiny mořského původu jsou produkovány toxigenními řasami a sinicemi, které představují obvyklou potravu pro řadu mořských živočichů, kteří se pak sami stávají toxickými. V posledních letech jsou předmětem zvýšeného zájmu, zejména proto, že se cestou potravního řetězce dostávají do výrobků z mořských živočichů, a tak působí u lidí onemocnění, která jsou vzhledem k současným znalostem obtížně léčitelná. Riziko onemocnění způsobeného toxigenními řasami a sinicemi vzrůstá vzhledem ke zvýšené migraci obyvatelstva i vzhledem k vysílání vojenských misí do nestabilních oblastí světa. Takové aktivity mohou vyvolat rozsáhlá zdravotní poškození somatického i psychického rázu. Jsou nastíněny možnosti a význam preventivních opatření, jejich dodržování, zvláště pro vojenské mise.

Klíčová slova: ASP toxin; AZP (AZA) toxin; DSP toxin; NSP toxin; Ciguatera toxin; Saxitoxin; Tetrodotoxin; Fykotoxin.

Phycotoxins and Some Less Known Marine Toxins

Summary

The marine microalgae producing the phycotoxins are common food for many marine animals which then themselves become toxic. In the recent years an enhanced attention has been paid to the phycotoxins because they penetrate into the fishery products through feed chains and they can cause intoxication in humans the therapy of which is very difficult. The danger concerning toxigenic microalgae is growing as a consequence of the enhanced migration of population and military missions into unstable regions of the world. These activities can cause severe health impairment of somatic and psychological character. The possibilities and importance of preventive measures and their observance are outlined particularly for military missions.

Key words: Amnesic shellfish poisoning toxin; Azaspiracid poisoning toxin; Diarrhetic shellfish poisoning toxin; Neurotoxic shellfish poisoning toxin; Ciguatera toxin; Saxitoxin; Tetrodotoxin; Phycotoxin.

Úvod

Řasy a sinice jsou dva typy organismů tvořících fytoplankton. Řasy i sinice mají ve vodě podobnou úlohu, ale z hlediska vlivu na lidské zdraví jsou sinice mnohem nebezpečnější. Sinice a řasy produkují řadu zdraví nebezpečných toxinů, jež označujeme souhrnně jako fykotoxiny (46). Předkládaný článek uvádí nejznámější zástupce fykotoxinů a charakterizuje je po stránce chemické a toxikologické. Mnohé z fykotoxinů představují reálné riziko pro lidské zdraví. Fytoplankton je potravou pro řadu vodních živočichů, v jejichž těle se mohou fykotoxiny kumulovat a následně pak ohrozit jejich konzumenty. V tomto směru jsou zvláště nebezpečné fykotoxiny z mořského planktonu. Dostávají se do těl mořských ryb, korýšů a měkkýšů a ohrožují člově-

ka na celém světě alimentárními otravami. Je proto snaha o jejich monitorování a vytváření jednotné legislativy týkající se posuzování zdravotní nezávadnosti mořských produktů a stanovení limitů jako jsou dávky látky nevyvolávající žádný efekt (NOEL – No Observed Effect Level) nebo dávky, jež nevyvolá žádný nepříznivý efekt (NOAEL – No Observed Adverse Effect Level), eventuálně nejnižší dávky, která již vyvolá nepříznivý efekt (LOAEL – Lowest Observed Adverse Effect Level). V zemích EU je toto řešeno direktivou č. 91/492/EEC ze dne 15. července 1991 (44).

Sinice (*Cyanophyta*, *Cyanobacteria*, *Cyanoprocarionta*) jsou prokaryontní aerobní mikroorganismy s jednobuněčnou nebo vláknitou stélkou, často tvořící kolonie. Bičíky chybějí. Řasy jsou jednoduché vodní rostliny tvořící nejednotnou skupinu or-

ganismů. Jejich tělo tvoří stélka, která není rozlišena na kořen, stonek a listy. Mezi řasy patří tři vývojové větve: červená, hnědá a zelená. Mezi toxikologicky významné řasy patří např. ruduchy (*Rhodophyta*), rozsivky (*Chromophyta*), bičíkovci (*Dinoflagellata*) nebo obrněnky (*Dinophyta*). Za určitých podmínek produkují řasy a sinice vysoce účinné toxiny, které ohrožují především život ryb, ale též mnoha zvířat. Vytvářejí tzv. „vodní květ“, který může mít barvu načervenalou, namodralou či zelenou. Přemnožení mořského planktonu je známé jako „rudý příliv“ (red tide) a již předkolumbovské civilizace Jižní a Střední Ameriky věděly, že v době „rudého přílivu“ není radno vyjíždět na moře a lovit ryby a plody moře, protože jsou v té době jedovaté (45).

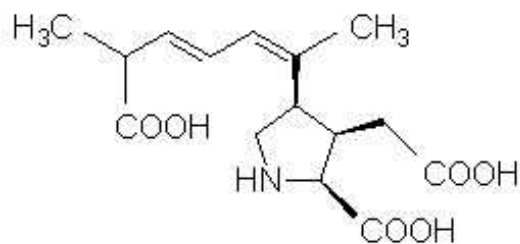
Od devatenáctého století jsou známy také otravy divokých i domácích zvířat fykotoxiny a jsou popisovány klinické příznaky alimentárních otrav lidí mořskými produkty. Toxiny produkované řasami a sinicemi vstupují do potravních řetězců, na jejichž konci stojí člověk. Fykotoxiny končí zpravidla svou pout' ve výrobcích rybářského průmyslu, nejčastěji při tom jde o ryby a jedlé mořské měkkýše nebo koryšce. Fykotoxiny sladkovodních sinic nás ohrožují v létě při koupání, kdy dojde k jejich přemnožení (32). Rozšíření řas a sinic je globální, dokážou totiž žít v podmínkách antarktického ledu, ale také ve vroucích gejzírech. Fykotoxinů je dnes známo velké množství a nové se stále objevují. Fykotoxiny představující signifikantní riziko pro lidské zdraví jsou předmětem tohoto sdělení.

Toxiny typu ASP (Amnesic shellfish poisons)

ASP toxiny, mezi které patří kyselina domoová (DOM) a její analogy, byly identifikovány v roce 1987 ve východní Kanadě, kde se staly původcem rozsáhlé intoxikace po konzumaci slávek jedlých (*Mytilus edulis*) (40). Ty byly kontaminovány toxinem produkovaným rozsivkou *Pseudonitzschia pungens*, forma multiseriis, který byl charakterizován jako trikarboxylová kyselina odvozená od aminokyseliny prolinu a nazván kyselina domoová (obr. 1).

DOM je svou chemickou strukturou blízká kyselině glutamové a podobně jako tato aminokyselina náleží mezi neurotoxicke excitotoxiny (56). Její struktura je však díky přítomnosti pětičlenného kruhu mnohem rigidnější a je také asi stokrát účinnější než kyselina glutamová. Váže se na NMDA-gluta-

mátové receptory neuronů a otevírá iontové kanály pro vápník, čímž způsobí, že vápník se dostává ve vysoké koncentraci do nervových buněk, kde stimuluje některé enzymy štěpící proteiny a produkuje velké množství volných radikálů. Výsledkem toho je narušení funkce neuronu, resp. jeho nevratné poškození (18).



Kyselina domoová

Obr. 1: Chemická struktura kyseliny domoové, fykotoxinu typu ASP (Amnesic shellfish poisons)

Vazbou DOM na NMDA-glutamátové receptory, které jsou jedním ze substrátů molekulární podstaty paměti (5), je možno vysvětlit dramatický účinek tohoto excitotoxinu na paměť. V dávce 1 mg/kg vyvolává DOM amnézii u potkanů a narušuje jejich prostorovou orientaci a krátkodobou (pracovní) paměť (36). Experimenty na zvířatech jednoznačně potvrzují, že DOM je velice nebezpečným neurotoxinem (50).

Symptomy otravy DOM se objevují nejdříve 30 minut a nejpozději 24 hodin po konzumaci toxických mořských živočichů, v závislosti na množství zkonsumovaného jedu. Lehká až středně těžká intoxikace se vyznačuje zvracením, průjmami, křečemi v žaludku, bolestmi hlavy, závratí, zmateností a letargií. Symptomy zpravidla odeznívají do 24 hodin po objevení se prvních příznaků. U těžkých intoxikací se navíc objevuje silná dušnost, záchvaty křečí a bezvědomí a u starších či jinak oslabených osob může nastat smrt do 48 hodin po objevení se prvních příznaků. U části intoxikovaných, kteří přežijí, se objevuje trvalá porucha krátkodobé (pracovní) paměti, připomínající Alzheimerovu chorobu. V tomto směru se intoxikace DOM liší od všech ostatních intoxikací jinými mořskými toxiny. Maximálně přípustným limitem pro DOM v rámci EU je 20 µg.kg⁻¹.

Azaspiracidy (Azaspiracid poisons)

Azaspiracidy (AZA) představují nové zástupce mořských fykotoxinů nalezené v roce 1995 na pobřeží Irska. Po konzumaci slávek jedlých (*Mytilus edulis*) vzniklé příznaky otravy nápadně připomínají intoxikaci DSP. Z masa uvedených mlžů bylo postupně izolováno 5 strukturálně podobných látek: AZA-1 až AZA-5 (obr. 2), později ještě AZA-6 až AZA 11. AZA mají unikátní chemickou strukturu složenou z osmi pěti- a šestičlenných heterocyklických kruhů, kde heteroatomem je v osmi případech kyslík a v jednom případě dusík.

U myši vyvolávají AZA poškození zažívacího traktu, jater, slinivky břišní a nervového systému (24). Dlouhodobé podávání je provázeno vznikem pneumonie a rozvojem plicních tumorů (47). Satake se spolupracovníky (49) zjistil, že i. p. letální dávka AZA-1 pro myš je 200 mg.kg⁻¹. LD₅₀ pro myš při p. o. podání byla 500–600 mg.kg⁻¹ (25). I. p. letální dávka pro myš byla u AZA-2 110 mg.kg⁻¹, u AZA-3 140 mg.kg⁻¹, u AZA-4 470 mg.kg⁻¹ a u AZA-5 méně než 1000 mg.kg⁻¹ (38).

Chování zvířat intoxikovaných AZA je odlišné než u jiných mořských toxinů. Myši po i. p. podání AZA-1 jsou pomalé a utlumené, sedí netečně v koutě, trpí paralýzou a obtížně a těžce dýchají. Malé dávky AZA-1 usmrcují zvíře během dvou až tří dnů. Symptomy otravy AZA u lidí se projevují nauzeou, zvracením, úpornými průjmy a křečemi v žaludku, které silně připomínají průjmový typ otravy (diarrheic shellfish poisoning) (19, 39). Mechanismus toxického účinku zůstává i nadále nedostatečně objasněn (37), proto má léčení intoxikace jen symptomatický charakter. Maximálně přípustným limitem pro AZA v rámci EU je 140 µg.kg⁻¹.

Toxiny typu DSP (Diarrheic shellfish poisons)

Zdrojem onemocnění jsou některé druhy obrněnek, např. *Dinophysis acuminata*, *Prorocentrum lima* aj., obsahující kyselinu okadaovou a jí příbuzné dinophysistoxiny (obr. 3), pectenotoxiny (obr. 4) a yessotoxiny (obr. 5). Ve většině případů se nejedná o chemicky jednotné látky, ale o směs strukturně blízkých sloučenin, které lze po stránce chemické charakterizovat jako cyklické polyethery (41).

DSP toxiny patří k výrazným inhibitorům fosfatáz, ale zároveň inhibují esenciální serin/threoninové proteinfosfatázy, které regulují primárně metabolické procesy v eukaryotických buňkách (12).

Tímto mechanismem modulují synaptickou transmisí a působí jako neurotoxiny (51). Jejich toxický účinek na buňku je však velmi komplexní. Tím, že hyperfosforylují cytoskeletární proteiny a receptory, mohou vyvolat apoptózu. DSP toxiny vyvolávají průjmový typ otravy projevující se vedle akutního průjmu také nauzeou, zvracením, bolestmi v krajině břišní a zimomřivostí. K projevům otravy dochází během 30 minut až 3–12 hodin. Terapie otravy je pouze symptomatická. Maximálně přípustným limitem pro DSP pro kyselinu okadaovou, dynophysistoxin a pectenotoxin je 160 µg.kg⁻¹, pro yessotoxin 1000 µg.kg⁻¹.

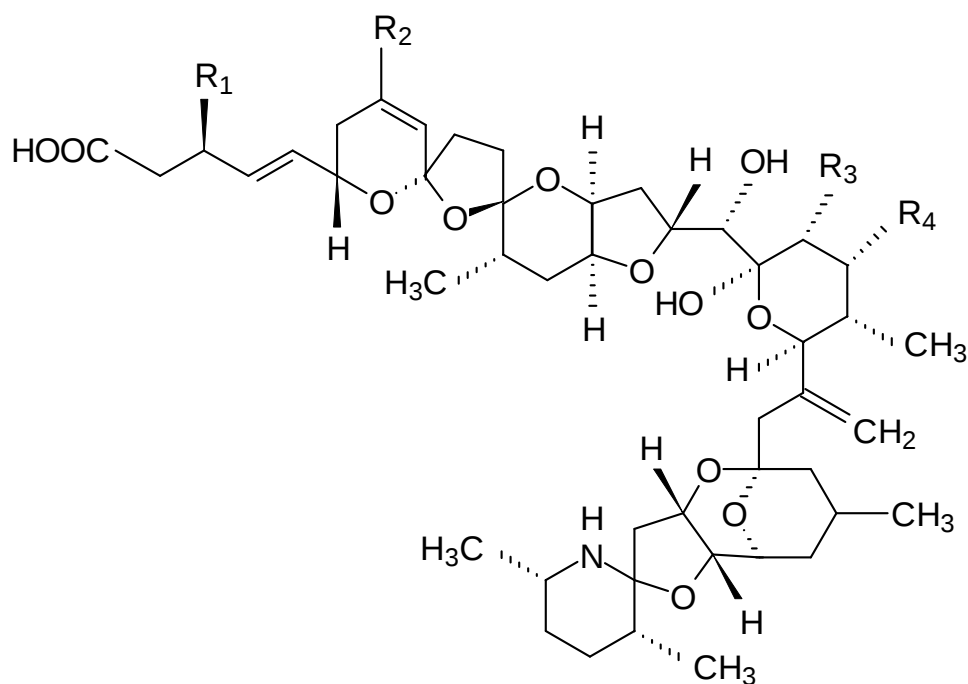
Toxiny typu NSP (Neurotoxic shellfish poisons)

Skupinu neurotoxických fykotoxinů tvoří několik typů látek, které charakterizují rozdíly v chemické struktuře a výskyt v planktonu, ale také mechanismus toxického účinku a klinický obraz intoxikace. Mezi nejvýznamnější zástupce NSP toxinů patří brevetoxiny, ciguatoxiny, saxitoxiny a tetrodotoxin.

Brevetoxiny (BrTX)

Jsou cyklické polyethery produkované mořskými obrněnkami *Karenia breve*, resp. *Gymnodium breve* či *Psychodiscus brevis*. V současné době je známo 10 brevetoxinů dvou rozdílných typů – brevetoxiny A a brevetoxiny B (obr. 6). Jsou to polycyklické ethery s 11 (brevetoxiny A), resp. 10 kyslíkatými heterocykly (brevetoxiny B), v žádném z nich není atom dusíku. Počet dosud známých brevetoxinů určitě není konečný, lze předpokládat nalezení dalších fykotoxinů podobné chemické struktury. Brevetoxiny se kumulují v mase některých ryb a měkkýšů, a ti se pak stávají nebezpečnými pro člověka.

Brevetoxiny A se vyznačují neurotoxickými a ichtyotoxickými účinky, jež jsou popisovány jako brevetoxikóza (8). K charakteristickým projevům otravy patří parestézie, závratě, bolesti v krajině břišní, svalová slabost, nejistá chůze, třes, střídavé pocity horka a chladu, bolest hlavy, svalů a kloubů, poruchy dýchání, renální problémy a otok. Pozorovány byly také známky katarální rinitidy, plicní hemoragie a edém plic, multiorgánová hemosideróza, nehnisavý zánět mozkových obalů. Příčinou jejich destruktivního účinku na přenos nervového vzruchu je otevření napětově řízených neuronálních sodíkových kanálů.



Azaspiracidy 1 až 5

Obr.2: Chemická struktura azaspiracidů 1 až 5

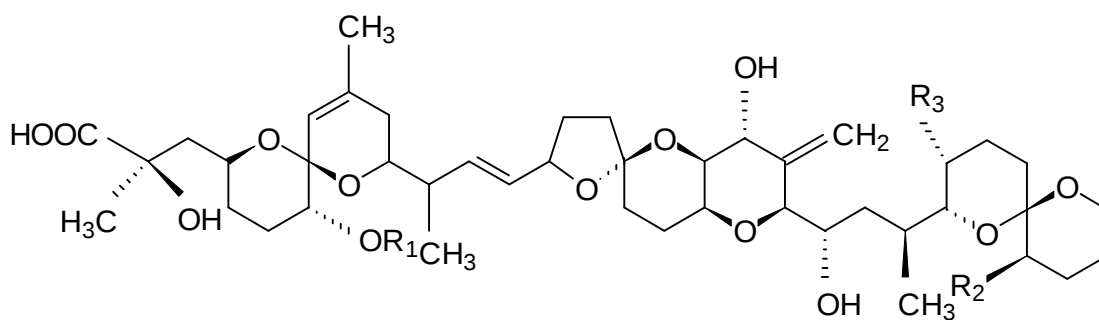
AZA1: $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = CH_3$, $R_4 = H$

AZA2: $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$, $R_4 = H$

AZA3: $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = H$, $R_4 = H$

AZA4: $R_1 = OH$, $R_2 = H$, $R_3 = H$, $R_4 = H$

AZA5: $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = H$, $R_4 = OH$



Kyselina okadaová a dinophysistoxiny 1 až 3

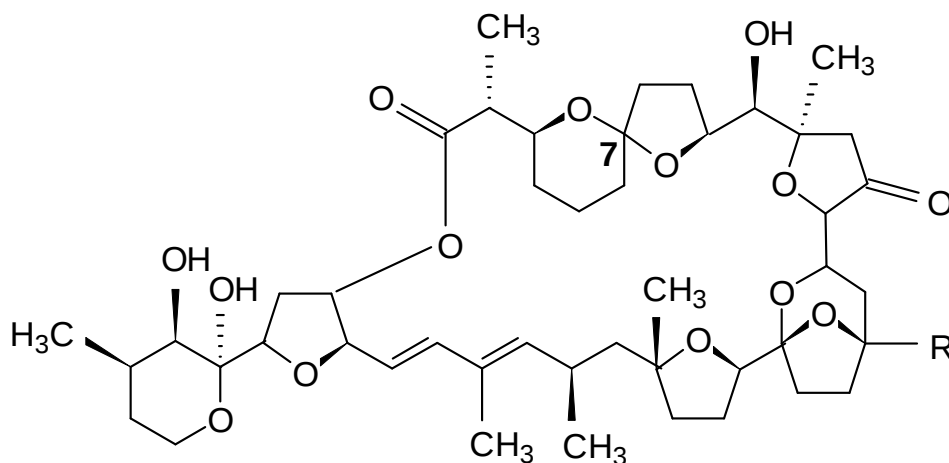
Obr. 3: Chemická struktura kyseliny okadaové a dynophysistoxinů 1 až 3, fykotoxinů typu DSP (Diarrhetic shellfish poisons)

Kyselina okadaová: $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = CH_3$

Dinophysistoxin-1: $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$

Dinophysistoxin-2: $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$, $R_3 = H$

Dinophysistoxin-3: $R_1 = COOCH_3$, $R_2 = CH_3$, $R_3 = CH_3$



Pectenotoxiny

Obr. 4: Chemická struktura pectenotoxinů, fykotoxinů typu DSP (Diarrheic shellfish poisons)

Pectenotoxin1: R = CH₂OH, konfigurace na C-7 R

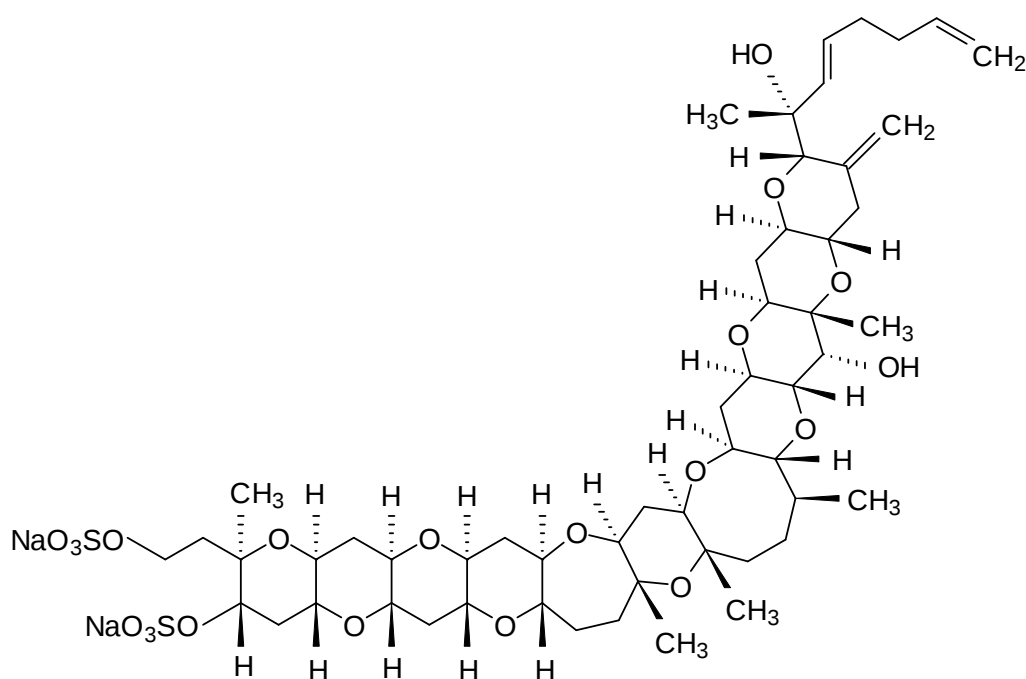
Pectenotoxin2: R = CH₃, konfigurace na C-7 R

Pectenotoxin3: R = CHO, konfigurace na C-7 R

Pectenotoxin4: R = CH₂OH, konfigurace na C-7 S

Pectenotoxin6: R = COOH, konfigurace na C-7 R

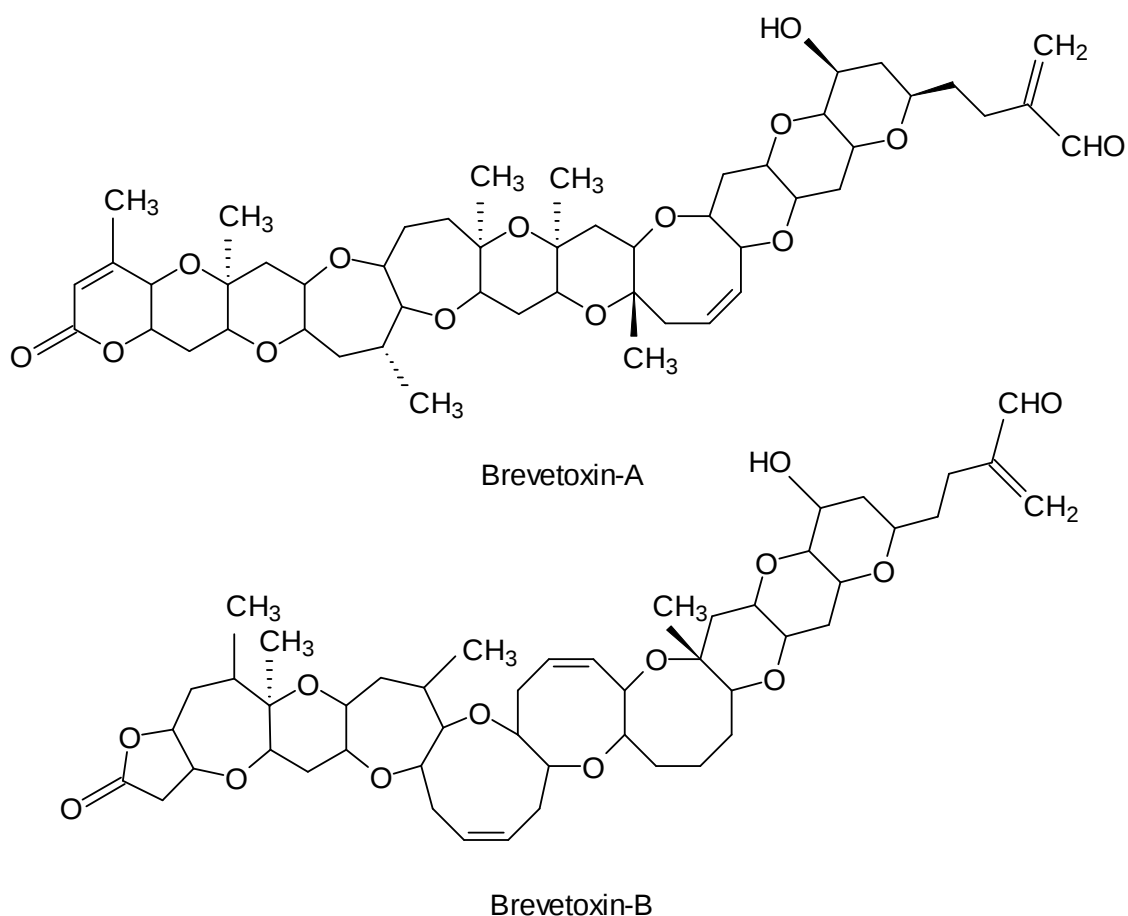
Pectenotoxin7: R = COOH, konfigurace na C-7 S



Yessotoxin

Obr. 5: Chemická struktura yessotoxinu, fykotoxinu typu DSP (Diarrheic shellfish poisons)

V současné době je známo již více než dvacet různých derivátů této sloučeniny, které všechny řadíme do skupiny yessotoxinů.



Obr. 6: Chemické vzorce brevetoxinů, fykotoxinů typu NSP (Neurotoxic shellfish poisons)

Od obou základních typů brevetoxinu A a B byly nalezeny četné deriváty.

Obdobné účinky jako brevetoxiny A mají i brevetoxiny B. Také fungují jako modulátory napětově řízených Na^+ kanálů. Všechny brevetoxiny jsou embryotoxické a teratogenní (28) a přestupují přes placentární membránu (6). Fungují také jako aktivátory histaminu a způsobují bronchokonstrikci. Aerosolizované brevetoxiny v přímořském vzduchu, jako důsledek přemnožení fytoplanktonu, mohou být odpovědné za vznik astmatu (14).

Akutní toxicita brevetoxinů testovaná na myších se pohybuje v závislosti na druhu brevetoxinu a způsobu jeho podání od 94 do 6600 mg.kg^{-1} (4, 11). Maximálně přípustným limitem pro skupinu brevetoxinů v rámci EU je 800 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Ciguatera toxiny (Ciguatoxiny, CgTX)

Ciguatoxiny se vyskytují zpravidla ve svalové hmotě a ve vnitřních orgánech četných ryb, např.:

soltýn barakuda (*Sphyraena barracuda*), chňapal bohar (*Lutjanus bohar*), kanic (*Epinephelus fasciatus*), murény (*Muraena* sp.) a další, údajně asi u 400 druhů, převážně korálových ryb, které jsou za normálních okolností považovány za nezávadné a chutné. K otravě, označované jako ciguaterová forma (ciguatera), dochází nejčastěji v tropických a subtropických oblastech Indického a Tichého oceánu a rovněž v Karibském moři. Ryby zde žijící přijímají toxin s potravou, což jsou určité druhy toxigenních řas (obrněnek) a poté se stávají samy toxickými a tím nebezpečnými.

Ciguaterová forma otravy není ničím převratně novým. Byla přijímána s obavou už v době prvních zámořských plavebních výprav evropských objevitelů. Představuje riziko jak pro rybářství, tak pro celý turistický ruch v mnoha přímořských zemích.

Otrava těmito rybami je poměrně častá u turistů, jež cestují do těchto oblastí tzv. na vlastní pěst a sami si tam připravují jídlo. Stává se, že jim rybáři prodají tyto nemocné ryby nebo si je turisté sami uloví a po pozření onemocní. Domorodci lovící v těchto oblastech znají jednoduchý test, jak zjistit, jestli je v mase ryb obsažen ciguatoxin. Odříznou kousek a vhodí ho do mraveniště. Pokud je rybí maso nezávadné, mravenci se k němu rychle seběhnou a začnou ho konzumovat. Pokud je ryba nemocná, mravenci si vůbec masa nevšimnou, naopak se od něho odtáhnou. Podle vyjádření některých odborníků dojde každý rok na světě asi k 50 000 případů této otravy (1). Ciguatoxin se tak stává postrachem rybářů v tropických oblastech jako je Havaj, Karibik, Tichomoří a Austrálie (34).

Ciguatoxin patří k nejjedovatějším známým biologickým látkám. Jeho LD_{50} pro myš při p. o. podání je $45 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Nemá vliv na vzhled, vůni ani chuť ryb a nedá se zničit tepelnou úpravou, sušením, solením, uzením či marinováním. Chemicky se jedná o cyklické polyethery s 13 pěti- až devítičlennými kruhy v molekule. Jsou známy dva typy ciguaterových toxinů (obr. 7). Strukturně blízká a toxikologicky podobná je také skupina fykotoxinů zvaná gambieroly, izolovaná z obrněnky *Gambierdiscus toxicus* (23).

Nástup prvních příznaků onemocnění se objevuje 3 až 4 hodiny po požití toxické ryby. Dochází ke gastrointestinálním potížím, především k nevolnosti, zvracení, průjmům a abdominálním křečím. Objevují se i nervové příznaky včetně paralýzy svalů, projevující se necitlivostí, bolestí hlavy, cyanózou, brněním obličejových svalů, poruchami dýchání, které mohou vést až ke smrti postiženého. Častými příznaky bývají i kardiovaskulární potíže jako jsou bradykardie, tachykardie, arytmie a pokles tlaku. Zvláštním příznakem je odlišné vnímání pocitu tepla a chladu. Teplé je vnímáno jako studené a studené jako horké. Po několika dnech se může objevit vyrážka na kůži. Následují neurologické problémy, jež mohou trvat několik týdnů až měsíců. K úmrtí dochází zřídka, a to v důsledku deprese dechu a křečí (3). Ciguatoxin narušuje činnost sodíkové pumpy, a dochází tak ke zvýšení propustnosti buněčné membrány pro sodíkové a draslíkové ionty (16). Maximálně přípustným limitem pro ciguatoxin je dávka $0,01 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Závažnost uvedených příznaků bývá variabilní a závisí na řadě faktorů. Mezi ně patří koncentrace

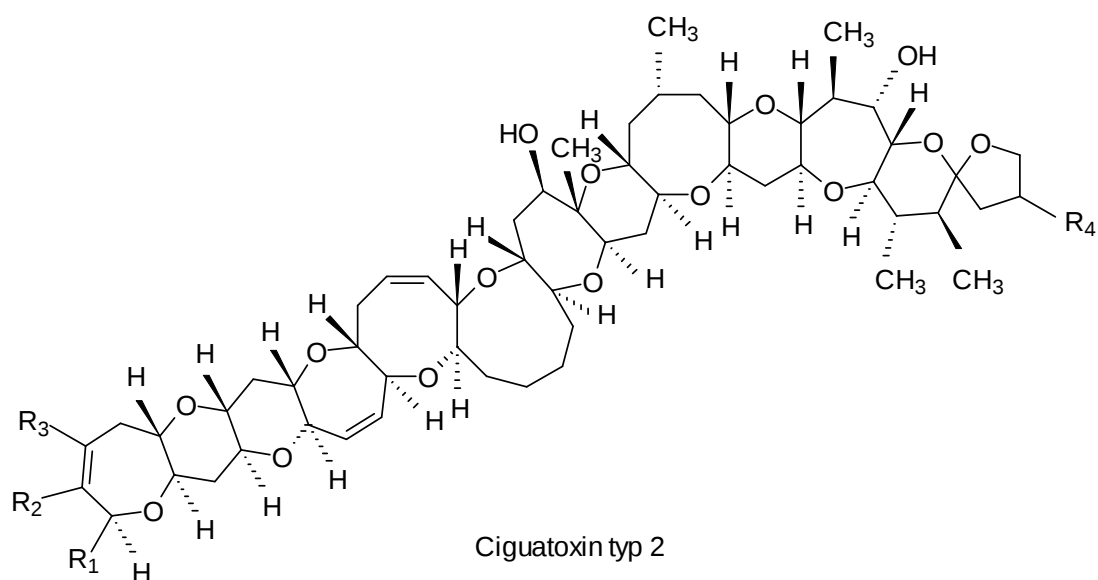
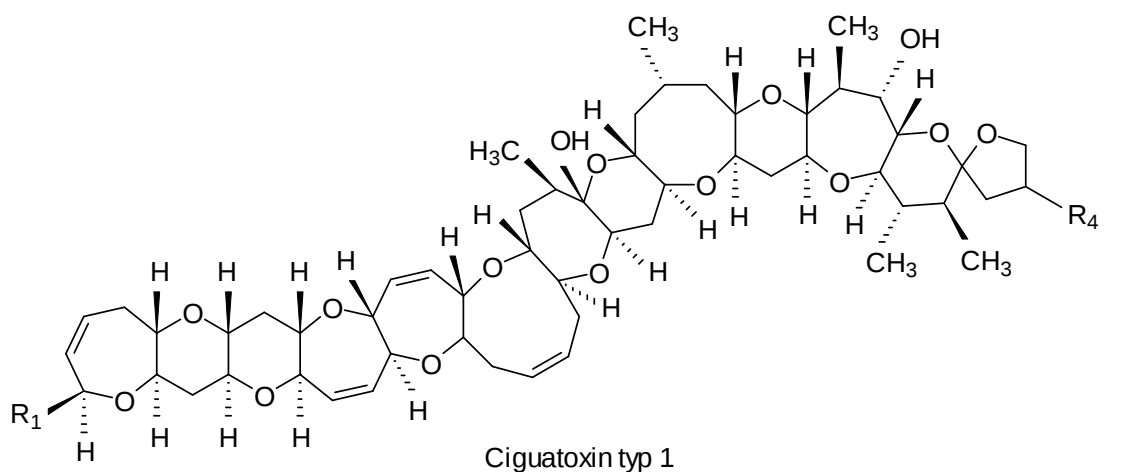
jedů v těle ryb, snědené množství, dále množství ciguatoxinů, které postižený již měl ve svém těle, a v neposlední řadě i lokalita, z níž ryby pocházejí. Zdá se totiž, že účinnost těchto jedů se oblast od oblasti liší. Lidé si nevytvářejí imunitu, ale naopak zvýšenou citlivost, takže opakované požití otrávených ryb mívá čím dál závažnější průběh v důsledku kumulace toxinů v organismu. Vážné případy otravy mohou trvat týdny, měsíce, dokonce i roky. Následky se mohou překvapivě podobat chronickému únavovému syndromu (43).

Předpokládá se, že počet případů ciguaterových otrav bude nadále stoupat (52). Kauzální terapie není k dispozici.

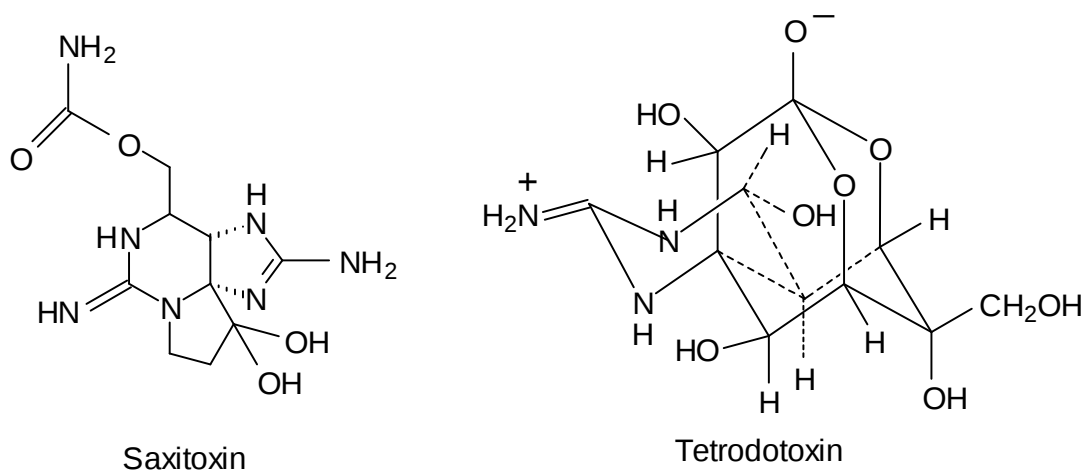
Saxitoxin (STX)

Saxitoxin je neurotoxin produkováný zejména obrněnkami. Patří mezi guanidinové toxiny (obr. 8) a blokuje napětově řízené sodíkové kanály a jeho použití v experimentu mělo zásadní vliv na poznání iontových kanálů a jejich fyziologické funkce (31). Nejedná se o jednotnou látku, ale skupinu strukturně podobných sloučenin. Pojmenování saxitoxin je odvozeno z názvu aljašského mlže chionky skalní, *Saxidomus gigantea*, který se živí toxickými obrněnkami, např. *Gonyaulax catenella*, *G. tamarensis*, *Gymnodium catenatum*, *G. breve* a některými dalšími, čímž se stává jedovatým. STX lze nalézt v útrokách mnoha jiných příbuzných druhů, ale rovněž v útrokách čtverzubců. Letální dávka pro dospělé osobu se odhaduje na 0,05 mg parenterální cestou a asi 0,5 mg při podání ústy (41).

Mechanismus účinku STX je vysvětlován selektivní schopností blokovat funkci napětově řízených sodíkových kanálů v membránách vzrušivých tkání. K počátečním symptomům intoxikace se řadí pocit dřevěnění prstů, rtů a jazyka, svalová slabost, pocit žízně a bodavá bolest v konečcích prstů. Plně rozvinutá otrava bývá provázena gastrointestinálními poruchami, bolestí hlavy, poruchou motorické koordinace, vznikem paralýzy ascendentního typu. Pozoruhodné jsou změny bulbárních a kognitivních funkcí, projevující se poruchami řeči, polykání, žvýkání aj. K nejzávažnějším projevům patří útlum dýchání. Terapie otravy STX je převážně symptomatická. Paralytickou formu otravy, prakticky stejnou jako u STX, je schopen vyvolat podobně působící neosaxitoxin (48). STX je řazen mezi potenciální bojové biologické prostředky (21).



Obr. 7: Chemické vzorce ciguatoxinů, fykotoxinů typu NSP (Neurotoxic shellfish poisons)



Obr. 8: Chemické vzorce saxitoxinu a tetrodotoxinu, fykotoxinů typu NSP (Neurotoxic shellfish poisons)

Tetrodotoxin (TTX)

Tetrodotoxin, alternativní názvy fugutoxin, spheroidin, maculotoxin, tetraodontotoxin aj., je řazen mezi guanidinové toxiny (obr. 8). TTX je extrémně toxický, vysoce letální a rychle působící neurotoxin, vyskytující se v útrokách ryb čeledi čtverzubcovitých (*Tetraodontidae*) a dalších příbuzných čeledí z řádu *Tetraodontiformes*. Ryby tohoto druhu, např. ježik (*Diodon*), mají schopnost v případě ohrožení se enormně nafouknout (ve skutečnosti naplnit vodou), odtud anglický název puffer fish a japonský výraz fugu, odvozený od rizikové ryby *Fugu rubripes*. TTX se kumuluje převážně v gonádách, játrech, mozku a v jikrách těchto ryb a v určitém ročním období je nebezpečné je konzumovat. Při kuchyňské úpravě, která je licenčně povolena jen vybraným kuchařům, je třeba velmi pečlivě odstranit zmíněné orgány. Restaurace, kde se tyto ryby připravují, jsou pod trvalou kontrolou a porušení licenčního povolení je trestáno vysokou peněžitou pokutou, popř. i vězením. V letech 1974 až 1983 bylo v Japonsku zaznamenáno 646 případů otrav rybou fugu, z nichž 179 skončilo smrtí. Přes veškerý pokrok v legislativě i medicíně jsou otravy rybou fugu pro Japonsko velkým problémem. Každoročně je hlášeno 30 až 100 otrav (41).

TTX je extrémně toxická látka. LD₅₀ pro myš při i. p. podání je pouhých 8 µg.kg⁻¹ a při p. o. podání 30 µg.kg⁻¹. Odhadovaná toxicita pro člověka při inhalační otravě je 2 µg.kg⁻¹ (41). Letalita u otrav TTX je snad ze všech alimentárních intoxikací živočišnými jedy nejvyšší a podle Halsteda (17) dosahuje až 60 %. Specifická terapie otravy není známa, zdůrazňuje se význam umělého dýchání. Tetrodotoxin je řazen mezi potenciální bojové biologické prostředky (21).

Pro zajímavost se lze zmínit také o „jedu zombie“ jako o reálném fenoménu kultu voodoo, neobyčejném úkazu na ostrově Haiti. Působením jedu zombie lze „přeměnit člověka v živoucí mrtvolu – zombie“. Jako zombie se označují mrtvolky, které nejsou mrtvé a na pokyn šamana vstávají ze svých hrobů. Celá záhada zombie na Haiti není nejspíš záležitostí magie, ale spíš záležitostí chemie. Za rituálem, který vytváří z lidí „živoucí mrtvolky“ a zase je pak vrací mezi živé, není zřejmě ani magie či parapsychologie, ale tetrodotoxin, možná s dalšími látkami, které jsou obsaženy v takzvaném prášku zombie,

připravovaném mimo jiné ze sušeného ježíka (*Diodon hystrix*) (26, 57). Smrt po požití „prášku zombie“ může být pouze zdánlivá při zachování plného vědomí, a tak nepřekvapuje, že řada obětí tohoto podivuhodného jevu byla pohřbena zaživa (2).

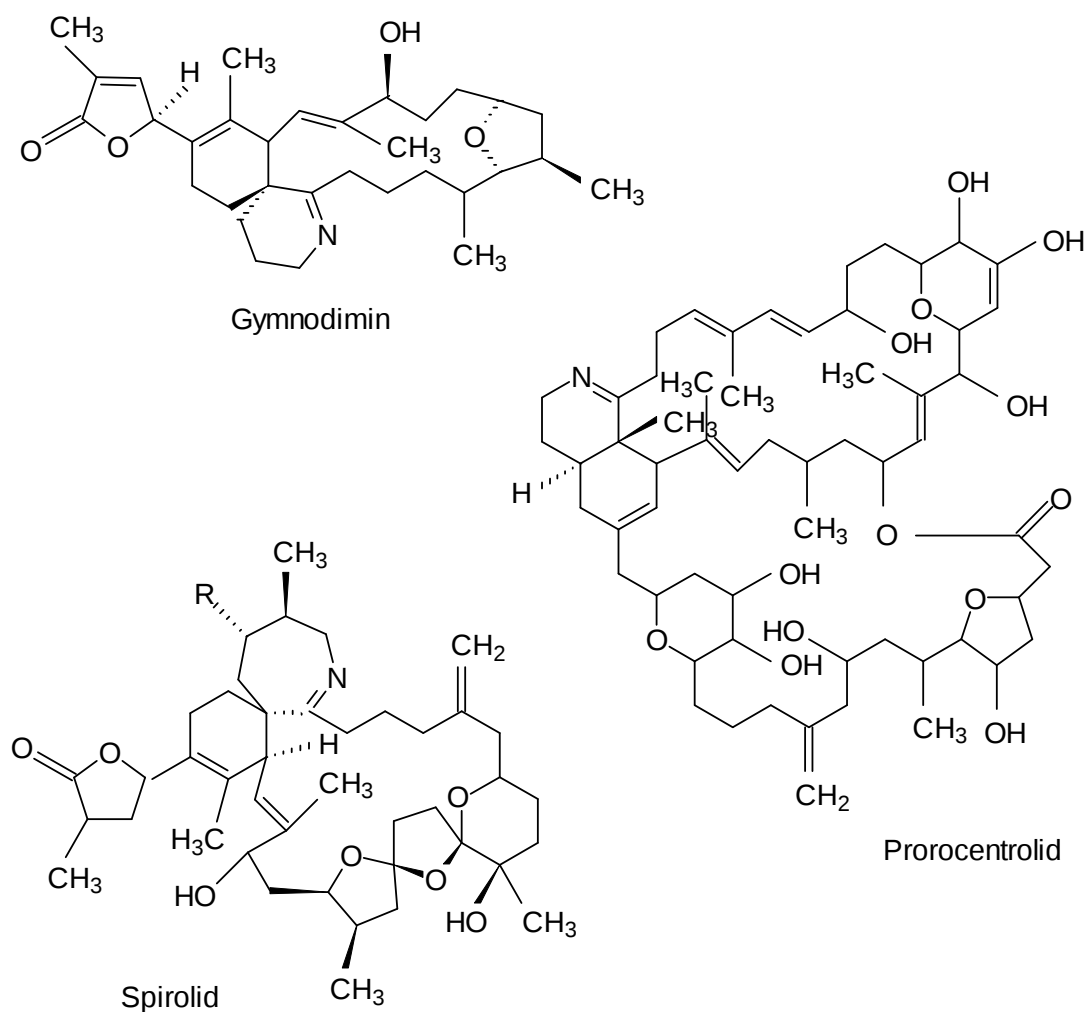
Ostatní dosud nezařazené fykotoxiny

Fykotoxiny jako toxické látky izolované z řas a sinic, zejména mořských, jsou v přírodě velmi rozšířenou skupinou chemických substancí. Výzkumy posledních let ukázaly, že v moři žijící organismy jsou zdrojem neobyčejně zajímavých chemických látek s neméně zajímavými biologickými vlastnostmi. Vedle mořské biologie tak vznikají dva nové obory – mořská farmakologie a mořská toxikologie. Studium látek, které moře produkuje, nejenže otevírá nový pohled na životní procesy v prostředí, které zůstává pro člověka stále tou nejméně prozkoumanou částí planety, ale současně nabízí chemické látky s možným využitím, zejména v medicíně. Každoročně jsou v moři objeveny stovky takových substancí, včetně fykotoxinů.

Gymnodimin

Gymnodimin (obr. 9) je fykotoxin izolovaný v roce 1994 z ústřic *Tiostrea chilensis* sbíraných na východním pobřeží Jižního ostrova Nového Zélandu. Po chemické stránce se jedná o unikátní spiroimin a jeho nálezy v často konzumovaných plodech moře byl provázen obavami, zda nemůže vyvolat masovou intoxikaci. Obavy se ještě prohloubily, když byl gymnodimin nalezen i v jiných druzích ústřic sbíraných v letech 1993–1999. Ze 217 vzorků bylo na přítomnost gymnodiminu pozitivních 155 a jeho množství se pohybovalo od 14,8 do 23 400 µg/kg. Je velmi pravděpodobné, že gymnodimin byl příčinou mnoha alimentárních otrav lidí, které byly v minulosti zaznamenány na pobřeží Nového Zélandu právě po požití ústřic. To vedlo k bližšímu zkoumání tohoto jedu. O tom, že výskyt jedu není přísně vázán jen na pobřežní vody kolem Nového Zélandu svědčí nedávný nález gymnodiminu v mořských organismech ulovených v Tunisu (7).

Kromě gymnodiminu byl izolován také gymnodimin B, který obsahuje na C-17 exocyklický methylen a allylickou hydroxylovou skupinu na C-18. Gymnodimin C je stereoizomerem gymnodiminu B na C-18 (33).



Obr. 9: Chemická struktura gymnodiminu, prorocentrolidu a spirolidu. Spirolid B: $R = H$; spirolid D: $R = CH_3$

Akutní toxicita gymnodiminu byla studována na myších a jeho LD_{50} při i. p. podání byla $96 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Zvířata hynula do 10 minut po injekci. Orální toxicita gymnodiminu je podstatně nižší ($LD_{50} = 755 \mu\text{g.kg}^{-1}$), ale i tak je to vysoká toxicita (35). Preventivní podání fyzostigminu nebo neostigminu před podáním gymnodiminu mělo za následek snížení jeho toxicity. To svědčí o tom, že toxicita gymnodiminu je zprostředkována přes nikotinové receptory na nervosvalových spojkách, takže gymnodimin lze také považovat za periferní neurotoxin cholinergního typu (42).

Prorocentrolid

Tento fykotoxin byl izolován z řasy *Prorocentrum maculosum*. Ve své molekule obsahuje hexahydrozochinolinový kruh (obr. 9) a při testování toxicity na myších se ukázal jako velmi toxický a jeho letální účinek byl velmi rychlý (20).

Spirolidy

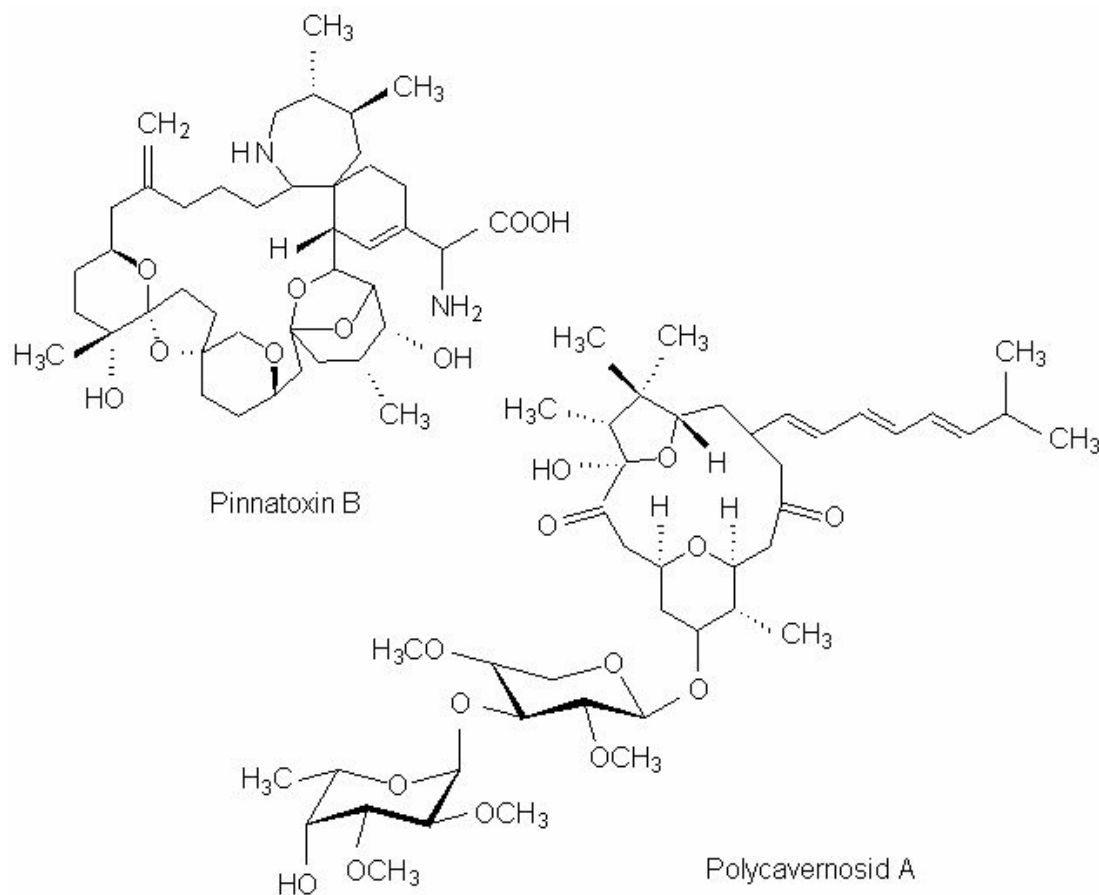
Tato nová skupina lipofilních makrocyclických fykotoxinů (obr. 9) byla nalezena v řase *Alexandrium ostenfeldii* (10) a v roce 2005 byly spirolidy objeveny ve Španělsku v několika druzích měkkýšů (54) a byly již také hlášeny první alimentární intoxikace lidí (53).

Pinnatoxiny

Tvoří skupinu cyklických iminů izolovaných z ústřic *Pinna muricata* z oblasti Okinawy (22). Pinnatoxin A a B (pteriatoxin A a B) (obr. 10) vykazují vysokou toxicitu, LD_{50} pro myš při i. m. podání je $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Polycavernosidy

Polycavernosid A (obr. 10) byl poprvé izolován z ruduchy *Polycavernosa tsudai* v roce 1993 (58). Makroskopická rudá řasa *Polycavernosa tsudai* či



Obr. 10: Chemická struktura pinnatoxinu B a polycavernosidu A

také *Gracilaria edulis* je hojně konzumovaná řasa, u níž dříve nebyly pozorovány žádné zdravotní problémy. V roce 1991 se však touto řasou otrávil na ostrově Guam 13 lidí, z nichž 3 zemřeli. Tento fykotoxin byl identifikován jako substance odpovědná za smrtelnou intoxikaci 3 lidí na Filipínách, kteří v roce 2002 zemřeli poté, co snědli další jedlou makroskopickou rudou řasu *Acanthophora specifera* (60). V letech 2002 až 2003 se na Filipínách otrávil řasami *Acanthophora specifera* a *Gracilaria edulis* celkem 36 lidí, z nichž 8 zemřelo (60).

Tyto záhadné smrtelné intoxikace řasami, které byly domorodci hojně konzumovány, vyvolaly paniku a vedly k urychlenému hledání toxického agens. Tak byl objeven polycavernosid A, chemicky i biochemicky zajímavá látka se strukturou glykosidického makrolaktonu. Kromě polycavernosidu A byly identifikovány další 4 analogické látky, polycavernosidy A2, A3, B a B2 (59). Toxický účinek polycavernosidů je zřejmě zprostředkován aktivací napěťově řízených Ca^{2+} kanálů, ale přesný mechanismus jejich účinku není znám (9). Intoxikace u lidí

začíná gastrointestinálními příznaky (zvracení, průjem) a pokračuje neurologickými poruchami (svalové křeče, paralýza). Smrt nastává do několika dnů po požití toxinu. Toxikologické informace o polycavernosidech jsou dosud nedostatečné.

Diskuse

V článku popsané kombinace příznaků, které se objevují v Evropě po konzumaci některých plodů moře, se nejčastěji prezentují jako onemocnění ASP (amnesic shellfish poisoning), AZA (azaspiracid poisoning) a DSP (diarrhetic shellfish poisoning). Informační bulletin WHO „Surveillance Programme of Foodborne Infections in Europe“ uvádí za léta 1995–1998 asi 3000 případů onemocnění v Evropě po konzumaci potravy pocházející z mořských zdrojů.

Psychotropní (často nazývaný také psychedelický) efekt v článku uvedených látek je charakterizován především změnou vnímání reality, např. defor-

macemi vnímání času a prostoru, pocitem odcizení, úzkostí, podrážděním nebo naopak útlumem, jindy euforií, vztahovačností a halucinacemi nejružnějšího rázu a intenzity.

Zdáleka ne všechny syndromy jsou spjaté s konzumací různých druhů toxigenních řas a sinic. Některé nepochybně souvisejí s konzumací jedlých mořských ryb, například surmovky rudé (red whelk poisoning). Často se otrava mořskými živočichy projevuje typickou kombinací příznaků, většinou krátkodobého trvání, což vedlo k vyslovení názoru, že vlastně jde o „histaminovou otravu“ nebo také o „pseudoalergickou reakci“ na látky s histaminovým účinkem, které vznikají při rozkladu tkání těchto živočichů (27). Nejedná se tedy v tomto případě o fykotoxiny v pravém slova smyslu.

Evropská legislativa se postupně snaží zajistit kvalitu a také bezpečnost produktů pocházejících z mořských zdrojů a zároveň zakázat prodej vybraných toxických druhů, stanovit maximálně přípustné koncentrace toxinů v potravinách, zlepšit monitorování a zdokonalit kontrolní systém. Tyto kroky jsou racionální a naprosto nezbytné, neboť podle Whittle a Gallachera (55) asi 16 % všech zvířecích proteinů ročně spotřebovaných v celosvětovém měřítku pochází ze 66 milionů tun různých mořských druhů. Zhruba se to týká 75 % ryb a 25 % koryšů, resp. měkkýšů.

Cílem odborníků v této oblasti je pokusit se nahradit dosud používané, ne vždy spolehlivé biologické metody na zvířatech, analytickými metodami rychlejšími, přesnějšími a specifickými, např. chromatografickými, enzymovou imunoanalýzou, hmotovou spektrometrií apod. (13, 15).

Popsanou situaci si velice dobře uvědomili pracovníci Vojenského lékařského institutu v polské Gdyni, odkud vyšlé publikace se zabývají konkrétními původci a projevy onemocnění příslušníků jejich jednotek na Blízkém a Středním východě, i když jen v omezené míře jde o fykotoxiny. V oblasti nasazení vlastních jednotek je proto nezbytné provádět zdravotnický dohled, kontrolu hygienicko-epidemiologického stavu a školení v preventivní medicíně, zamezit konzumaci místních potravin, zejména mořského původu, jakož i pití vody z neověřených zdrojů. V přiměřené míře používat prostředky individuální ochrany proti vektorům nákazy, dodržovat osobní hygienu, zabezpečit chemoprophylaxi infekčních nemocí. Po návratu z mise je třeba zhodnotit po všech stránkách účinnost a přínos mise (21, 29, 30).

Závěr

V článku uvedené mořské fykotoxiny a některé další jedy obdobného charakteru jsou produkty toxigenních řas a sinic. V poslední době upoutávají zvýšenou pozornost zejména proto, že se prostřednictvím potravinového řetězce dostávají ve zvýšené míře do výrobků z mořských živočichů, a tak vyvolávají dříve prakticky neznámé formy onemocnění i v zemích, které neleží u moře. K nejzávažnějším projevům intoxikace mořskými živočichy patří především rozsáhlá poškození životně důležitých orgánů a neurotoxické projevy různé intenzity.

Literatura

1. ACHAIBAR, KC. – MOORE, S. – BAIN, PG. Ciguatera poisoning. *Pract. Neurol.*, 2007, vol. 7, p. 316–322.
2. ALBERTS, A. – MULLER, P. Psychoaktivní rostliny, houby a živočichové. Praha, Svojtka, 2000. 268 s. ISBN 80-7237-518-0.
3. ARNETT, MV. – LIM, JT. Ciguatera fish poisoning: impact for the military health care provider. *Mil. Med.*, 2007, vol. 172, p. 1012–1015.
4. BADEN, DG. – MENDE, TJ. Toxicity of two toxins from the Florida red tide marine dinoflagellate, *Ptychodiscus brevis*. *Toxicon*, 1982, vol. 20, p. 457–461.
5. BAILEY, CH. – BARTSCH, D. – KANDEL, ER. Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, p. 3445–3452.
6. BENSON, JM. – GOMEZ, AP. – STATOM, GL. Placental transport of brevetoxin-3 in CD-1 mice. *Toxicon*, 2006, vol. 48, p. 1018–1026.
7. BIRÉ, R., et al. First evidence on occurrence of gymnodimine in clams from Tunisia. *J. Nat. Toxins.*, 2002, vol. 11, p. 269–275.
8. BOSSART, GD., et al. Brevetoxicosis in manatees. *Toxicol. Pathol.*, 1998, vol. 26, p. 276–282.
9. CAGIDE, EM., et al. Effects of a synthetic analog of polycavernoside A on human neuroblastoma cells. *Cell Physiol. Biochem.* 2007, vol. 19, p. 185–194.
10. CEMBELLA, AD. – LEWIS, NI. – QUILLIAM, MA. Spirolide composition of micro-extracted pooled cells isolated from natural plankton assemblages and from cultures of the dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. *Nat. Toxins*, 1999, vol. 7, p. 197–206.
11. DECHRAOUI, MY., et al. Ciguatoxins and brevetoxins, neurotoxic polyether compounds active on sodium channels. *Toxicon*, 1999, vol. 37, p. 125–143.
12. DOUNAY, AB. – FORSYTH, CJ. Okadaic acid: the archetypal serine/threonine protein phosphatase inhibitor. *Curr. Med. Chem.*, 2002, vol. 9, p. 1939–1980.
13. EGMOND van, HP. Natural toxins, risks, regulations and the analytical situation in Europe. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, vol. 378, p. 1152–1160.
14. FLEMING, LE., et al. Aerosolized red-tide toxins (brevetoxins) and asthma. *Chest*, 2007, vol. 131, p. 187–194.
15. GARTHWAITE, I. Keeping shellfish to eat, a brief review of shellfish toxins, and methods for their detection. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, vol. 11, p. 235–244.
16. GHIARONI, V., et al. Effect of ciguatoxin 3C on voltage-gated Na⁺ and K⁺ currents in mouse taste cells. *Chem. Senses*, 2006, vol. 31, p. 673–680.

17. HALSTEAD, BW. Current status of marine biotoxology – an overview. *Clin. Toxicol.*, 1981, vol. 19, p. 1–24.
18. HRDINA, V. – HRDINA, R. – JAHODÁŘ, L. – MARTINEC, Z. – MĚRKA, V. *Přírodní toxiny a jedy*. Praha, Galen a Karolinum, 2004. 302 s. ISBN 80-7262-256-0 a 80-246-0823-5
19. HRDINA, V. – PATOČKA, J. – MĚRKA, V. – HRDINA, R. Azaspiracid – nový biotoxin. *Voj. zdrav. Listy*, 2005, roč. 74, s. 172–174.
20. HU, T., et al. Isolation and structure of prorocentrolide B, a fast-acting toxin from *Prorocentrum maculosum*. *J. Nat. Prod.*, 1996, vol. 59, p. 1010–1014.
21. CHOMICZEWSKI, K. *Epidemiologia działań wojennych i katastrof*. Warszawa, Alfa-medica Press, 2001, 256 s. ISBN 8388778021
22. CHOU, T., et al. Isolation and structure of pinnatoxin D, a new shellfish poison from the okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Letters*, 1996, vol. 37, p. 4027–4030.
23. INOUE, M., et al. Inhibition of brevetoxin binding to the voltage-gated sodium channel by gambierol and gambieric acid-A. *Toxicon*, 2003, vol. 41, p. 469–474.
24. ITO, E., et al. Chronic effects in mice caused by oral administration of sublethal doses of azaspiracid, a new marine toxin isolated from mussels. *Toxicon*, 2002, vol. 40, p. 193–203.
25. ITO, E., et al. Multiple organ damage caused by a new toxin azaspiracid isolated from mussels produced in Ireland. *Toxicon*, 2000, vol. 38, p. 917–930.
26. KAO, CY. – YASUMOTO, T. Tetrodotoxin in “zombie powder”. *Toxicon*, 1990, vol. 28, p. 129–32.
27. KERR, GW. – PARKE, TR. Scombroid poisoning – a pseudoallergic syndrome. *J. R. Soc. Med.*, 1998, vol. 91, p. 83–84.
28. KIMM-BRINSON, KL. – RAMSDELL, JS. The red tide toxin, brevetoxin, induces embryo toxicity and developmental abnormalities. *Environ. Health Perspect.*, 2001, vol. 109, p. 377–381.
29. KORZENIEWSKI, K. Zagrożenia zdrowotne w klimacie gorącym na przykładzie Iraku. *Lek. Wojskowy*, 2005, vol. 81, p. 5–10.
30. KORZENIEWSKI, K. Zwierzęta jadowite w Afganistanie. *Lek. Wojskowy*, 2006, vol. 82, p. 54–59.
31. LLEWELLYN, LE. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Nat. Prod. Rep.*, 2006, vol. 23, p. 200–222.
32. MÁTLOVÁ, J. – KREJČÍ, V. – PATOČKA, J. Toxiny sinic (cyanotoxiny) a jejich účinky na zdraví. *Kontakt*, 2004, roč. 6, s. 43–51.
33. MILES, CO., et al. Gymnodimine C, an isomer of gymnodimine B, from *Karenia selliformis*. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, vol. 51, p. 4838–4840.
34. MIRANDOVÁ, R. *Ciguatera (ciguateratoxin) – postrach rybářů žijících v tropických oblastech*. 30. 5. 2007, <https://toxicology.emtrading.cz/index.php?pagenum=3>
35. MUNDAY, R., et al. Acute toxicity of gymnodimine to mice. *Toxicon*, 2004, vol. 44, p. 173–178.
36. NAKAJIMA, S. – POTVIN, JL. Neural and behavioural effects of domoic acid, an amnesic shellfish toxin, in the rat. *Canad. J. Physiol.*, 1992, vol. 46, p. 569–581.
37. NICHOLAS, GM. – PHILLIPS, AJ. Marine natural products: synthetic aspects. *Nat. Prod. Rep.*, 2006, vol. 23, p. 79–99.
38. OFUJI, K., et al. Structures of azaspiracid analogs, azaspiracid-4 and azaspiracid-5, causative toxins of azaspiracid poisoning in Europe. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001, vol. 65, p. 740–742.
39. PATOČKA, J. – HRDINA, V. – MĚRKA, V. – HRDINA, R. Azaspiracid, a new marine toxin. *ASA Newsletter*, 2005, vol. 110, p. 16–19.
40. PATOČKA, J. Kyselina domoová, neurotoxin způsobující ztrátu krátkodobé paměti. *Psychiatrie*, 1999, roč. 3, s. 182–184.
41. PATOČKA, J. – STŘEDA L. Brief review of natural nonprotein neurotoxin. *ASA Newsletter*, 2002, vol. 89, p. 16–24.
42. PATOČKA, J. *Toxikologie cholinergního fykotoxinu gymnodiminu*. 29. 9. 2007 <https://toxicology.emtrading.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=134&mode=nocomments&order=0&thold=1>
43. PEARN, JH. Chronic fatigue syndrome: chronic ciguatera poisoning as a differential diagnosis. *Med. J. Aust.*, 1997, vol. 166, p. 309–310.
44. POLETTI, R. – MILANDRI, A. – POMPEI, M. Algal biotoxins of marine origin: new indications from the European Union. *Vet. Res. Commun.*, 2003, vol. 27, Suppl. 1, p. 173–182.
45. POTERA, C. Red tide chokehold. *Environ. Health Perspect.*, 2007, vol. 115, p. A188.
46. QUILLIAM, MA. Phycotoxins. *J. AOAC Int.*, 1999, vol. 82, p. 773–781.
47. RALOFF, J. Dead waters. *Sci. News*, 2004, vol. 165, p. 360–362.
48. RODRIGUEZ-NAVARRO, AJ., et al. Neosaxitoxin as a local anesthetic: preliminary observations from a first human trial. *Anesthesiology*, 2007, vol. 106, p. 339–345.
49. SATAKE, M. – OFUJI, K. – NAOKI, H. et al. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, vol. 120, p. 9967–9968.
50. SLIKKER, W. – SCALLET, AC. – GAYLOR, DW. Biologically-based dose-response model for neurotoxicity risk assessment. *Toxicol. Lett.*, 1998, vol. 102–103, p. 429–433.
51. TAPIA, R. – PENA, F. – ARIAS, C. Neurotoxic and synaptic effects of okadaic acid, an inhibitor of protein phosphatases. *Neurochem. Res.*, 1999, vol. 24, p. 1423–1430.
52. TING, JY. – BROWN, AF. Ciguatera poisoning: a global issue with common management problems. *Eur. J. Emerg. Med.*, 2001, vol. 8, p. 295–300.
53. VILLAR-GONZÁLES, A., et al. First evidence of spirolides in Spanish shellfish. *Toxicon*, 2006, vol. 48, p. 1068–1074.
54. VILLAR-GONZÁLES, A., et al. Lipophilic toxin profile in Galicia (Spain): 2005 toxic episode. *Toxicon*, 2007, vol. 49, p. 1129–1134.
55. WHITTLE, K. – GALLACHER, S. Marine toxins. *Brit. Med. Bull.*, 2000, vol. 56, p. 236–253.
56. XI, D. – RAMSDELL, JS. Glutamate receptors and calcium entry mechanisms for domoic acid in hippocampal neurons. *NeuroReport*, 1996, vol. 7, p. 1115–1120.
57. YASUMOTO, T. – KAO, CY. Tetrodotoxin and the Haitian zombie. *Toxicon* 1986, vol. 24, p. 747–749.
58. YOTSU-YAMASHITA, M. – HADDOCK, RL. – YASUMOTO, T. Polycavernoside A: A novel glycosidic macrolide from the red alga *Polycavernosa tsudai* (*Gracilaria edulis*). *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, vol. 115, p. 1147–1148.
59. YOTSU-YAMASHITA, M., et al. Four new analogs of polycavernoside A. *Tetrahedron Letters*, 1995, vol. 36, p. 5563–5566.
60. YOTSU-YAMASHITA, M., et al. Identification of polycavernoside A as the causative agent of the fatal food poisoning resulting from ingestion of the red alga *Gracilaria edulis* in the Philippines. *Chem. Res. Toxicol.*, 2004, vol. 17, p. 1265–1271.

Korespondence: Prof. MUDr. Vratislav Hrdina, CSc.
Horova 1193
500 02 Hradec Králové

Do redakce došlo 20. 11. 2007