

Aleksandra Duda-Chodak\*<sup>1</sup>, Łukasz Wajda<sup>1</sup>, Małgorzata Kobus<sup>1</sup>,  
Maria Kubica<sup>1</sup>, Tomasz Tarko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie  
ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Wpłynęło w lipcu 2009

1. Wstęp. 2. Charakterystyka bakterii z rodzaju *Arthrospira*. 3. Oddziaływanie spiruliny na układ odpornościowy. 3.1. Badania *in vitro*. 3.2. Badania *in vivo*. 4. Właściwości przeciwzapalne i antyalergiczne. 5. Aktywność antywirusowa. 6. Działanie ochronne przed czynnikami genotoksycznymi i mutagennymi. 7. Wpływ spiruliny na rozwój nowotworów. 8. Podsumowanie

#### Effect of bacteria belonging to *Arthrospira* genus on the immune system functions

**Abstract:** In the paper the pro-health and therapeutic properties of biomass and pharmaceuticals prepared from cyanobacteria belonging to the genus *Arthrospira* (*Spirulina*) are presented. Spirulina is a valuable source of protein (55–70% d.w.), vitamins, microelements, polyunsaturated fatty acids, polyphenols, carotenoids and polysaccharides. It has been demonstrated that “spirulina” (*Arthrospira*-based dietary supplements) as well as water extracts of *Arthrospira* activate immune system, mainly by modulation of cytokine levels. C-phycoerythrin, one of the major biliproteins of cyanobacteria, is a potent selective cyclooxygenase-2 inhibitor, engaged in prostaglandins synthesis, inhibition of histamine release from mast cells and is characterized by high antioxidant properties. Compounds extracted from *Arthrospira* have inhibitory activity against a wide range of viruses such as HIV-1, HSV-1, HSV-2, HCMV, influenza type A, measles, and many more. Extracts from cyanobacteria have antimutagenic and anticancer effect and can prevent development and growth of tumor as well as inhibit metastasis or proliferation of cancer cells.

1. Introduction. 2. Characteristics of bacteria belonging to *Arthrospira* genus. 3. The impact of spirulina on the immune system. 3.1. *In vivo* research. 3.2. *In vitro* experiments. 4. Anti-inflammatory and anti-allergic properties. 5. Antiviral activity. 6. Protection against genotoxic and mutagenic agents. 7. The effect of spirulina on tumor development. 8. Summary

**Słowa kluczowe:** *Arthrospira*, alergologia, nowotwory, spirulina, układ immunologiczny, wirusy

**Key words:** *Arthrospira*, allergy, tumors, spirulina, immunological system, viruses

## 1. Wstęp

*Spirulina*, zwana niebiesko-zielonym glonem, już wiele wieków temu była używana jako pożywienie przez Azteków oraz plemiona afrykańskie zamieszkujące rejony przyległe do jeziora Czad [9]. Obecnie wiadomo już, że nie jest to glon, ale bakteria z rodzaju *Arthrospira* (dawniej *Spirulina*). W ostatnich latach obserwuje się znaczne zainteresowanie tym organizmem, ze względu na jego skład chemiczny, interesujący z żywieniowego punktu widzenia. Na rynku dostępne są liczne preparaty zawierające, w postaci tabletek lub ekstraktów, różne gatunki z rodzaju *Arthrospira*, funkcjonujące pod potoczną nazwą „spirulina”. Ze względu na zdolność sinic do wytwarzania toksyn, wiele z tych gatunków zostało dokładnie przebadane pod kątem potencjalnie toksycznego wpływu na organizm spożywających je osób. Spirulina, obok funkcji żywieniowej może pełnić również rolę farmaceutyku o bardzo szerokim spektrum działania. W licznych badaniach wykazano, że przyjmowanie preparatów

sporządzonych na bazie tych bakterii, pomaga zahamować rozwój istniejących nowotworów i zapobiegać powstawaniu nowych, przeciwdziała zakażeniu i wzrostowi pasożytów. Preparaty te mają właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe, są wykorzystywane jako lek antyalergiczny, a także w leczeniu anemii i wrzodów. Farmaceutyki na bazie spiruliny wykazują zdolność pochłaniania z organizmu metali ciężkich oraz pierwiastków promieniotwórczych. Dowiedziono również ich skuteczności w zmniejszaniu genotoksyczności i uszkodzeń chromosomów wywołanych przez mitomycynę, cyklofosamid i uretan [5, 10, 34].

## 2. Charakterystyka bakterii z rodzaju *Arthrospira*

Nazwą „spirulina” określa się dostępne komercyjnie suplementy żywności, zawierające w swym składzie biomasę sinic (cyjanobakterii), najczęściej *Arthrospira platensis* lub *Arthrospira maxima*. Dawniej, te i pozostałe gatunki z rodzaju *Arthrospira* klasyfikowano

\* Autor korespondencyjny: Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, tel. (012) 662 47 92, fax. (012) 662 47 98, e-mail: a.duda-chodak@ur.krakow.pl

jako rodzaj *Spirulina*. Obecnie przyjmuje się, że stanowią one odrębny rodzaj [46], niemniej jednak stara nazwa jest bardzo popularna i nadal stosowana, szczególnie w języku potocznym.

Spirulina jest bogatym źródłem białka – szacuje się, że stanowi ono 55–70% suchej masy. Zawiera też witaminy z grupy B (B1, B2, B3, B6, B9, B12), witaminę D, kwas askorbinowy, tokoferole. Biomasa tych sinic jest bogata w nienasycone kwasy tłuszczowe, w tym  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6. Do najważniejszych (do 30%) należy kwas  $\gamma$ -linolenowy (GLA), występujący także w mleku karmiących matek, będący prekursorem prostaglandyny E1. Ponadto, spirulina zapewnia także kwas linolenowy (ALA), alfa-linolenowy (LA), stearydynowy (SDA), eikozapentaenowy (EPA), dokozaheksaenowy (DHA) oraz arachidonowy (AA). Spirulina jest bogatym źródłem wielu minerałów: potasu, wapnia, chromu, miedzi, żelaza, magnezu, manganu, fosforu, seleniu, sodu i cynku. Zawiera liczne barwniki, w tym chlorofil a, ksantofile, karotenoidy (szczególnie bogata jest w  $\beta$ -karoten) oraz inne substancje o właściwościach antyoksydacyjnych (fikocyjaniny, taniny itd.) [3, 4, 37]. Stanowiąc tak bogate źródło różnorodnych składników odżywczych i bioaktywnych, spirulina wykazuje szereg właściwości prozdrowotnych i leczniczych.

### 3. Oddziaływanie spiruliny na układ odpornościowy

Szerokie spektrum działania spiruliny w głównej mierze jest powodowane przez wzmocnienie swoich mechanizmów odpowiedzi immunologicznej. Do tej pory badania przeprowadzono zarówno *in vivo*, jak i w hodowlach *in vitro* na liniach ludzkich oraz zwierzęcych, uzyskując w niezależnie przeprowadzanych testach zbliżone do siebie i bardzo obiecujące wyniki. We wszystkich badaniach pod wpływem sinic zaobserwowano wzrost poziomu niektórych cytokin, głównie interleukiny-1 (IL-1), IL-2, IL-4, IL-6 oraz interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Związki te odgrywają istotną rolę w regulowaniu funkcji układu immunologicznego. Interferon- $\gamma$  zmienia fenotyp limfocytów B, stymulując ich różnicowanie do komórek plazmatycznych wydzielających immunoglobuliny i indukuje powstawanie komórek cytotoksycznych ze spoczynkowych. Interleukina-1 aktywuje limfocyty i jest kostymulatorem limfocytów T, a ponadto zwiększa proliferację komórek nabłonkowatych grasicy. Interleukina-2 stanowi najważniejszy czynnik wzrostowy limfocytów T, stymuluje komórki NK i wspomaga proliferację limfocytów B, natomiast IL-4 ma zdolność aktywacji spoczynkowych limfocytów B [40].

Ponieważ każda z wymienionych cytokin ma znaczny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego (i nie tylko), to spirulina – indukując

zwiększenie produkcji ich wszystkich – stanowi pożądaną suplement diety i znajduje zastosowanie w licznych preparatach farmaceutycznych wykorzystywanych m.in. w niekonwencjonalnym leczeniu niektórych nowotworów.

#### 3.1. Badania *in vitro*

Poprzez przeprowadzenie licznych badań dowiedziono, że ekstrakty wodne sporządzone z biomasy bakterii *A. platensis* wpływają na aktywność układu immunologicznego poprzez modulację funkcji makrofagów, zwiększenie ich zdolności do fagocytozy oraz podwyższenie poziomu interleukiny-1. W badaniach *in vitro*, Qureshi i wsp. [36] stosowali 1 do 16-godzinną ekspozycję hodowli makrofagów na działanie wodnego ekstraktu z *Arthrospira platensis* (stężenia od 10 do 40  $\mu$ g/ml). Wykazali, że komórki po kontakcie z ekstraktem charakteryzowały się znacznie większym rozprzestrzenianiem się i wakuolizacją, jednocześnie wzrósł odsetek makrofagów, które sfagocytowały nieopsonizowane erytrocyty owcze (SRBC), jak i średnia liczba SRBC, które zostały zinternalizowane. Również supernatant z hodowli makrofagów poddanych działaniu spiruliny zawierał czynnik o właściwościach antynowotworowych.

W innych badaniach *in vitro* zbadano wpływ składników czynnych zawartych w biomase *Arthrospira platensis* na ludzkie jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC) [28]. Stwierdzono, że ekstrakt sinic zwiększa wydzielanie IL-1 $\beta$ , IL-4 oraz IFN- $\gamma$  odpowiednio 2; 3,3 i 13,6-krotnie w stosunku do grupy kontrolnej. Indukcja interferonu była porównywalna do tej po stymulacji fitohemaglutyniną (PHA), ale o znacznie mniej mitogennym działaniu. Wyższa zawartość IFN- $\gamma$  w stosunku do poziomu IL-4 wskazuje na to, że *A. platensis* jest bardziej efektywna w stymulowaniu odpowiedzi typu Th1, a co za tym idzie nasila odporność komórkową. Bakteria ta, pomaga zachować równowagę w produkcji cytokin wytwarzanych przez limfocyty typu Th1 (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ ) i Th2 (IL-4), dzięki czemu nadaje się do ochrony komórek zarówno przed wewnątrzkomórkowymi, jak i zewnątrzkomórkowymi patogenami i pasożytami.

#### 3.2. Badania *in vivo*

Większość z badań miała na celu wykrycie i poznanie mechanizmów działania związków chemicznych zawartych w biomase tych sinic na odpornościowy układ zwierząt i ludzi oraz ocenę korzyści zdrowotnych z ich stosowania.

Doświadczenia *in vivo*, przeprowadzone głównie z wykorzystaniem gryzoni. Wykazano, że myszy karmione biomasą *A. platensis* charakteryzują się zwiększonym

szonym wydzielaniem IL-1 oraz wyższym odsetkiem fagocytyjących komórek wśród makrofagów otrzewnowych, ponadto zaobserwowano wzmoczoną proliferację komórek śledziony i produkcję przeciwciał [17]. Wyniki te sugerują, że substancje obecne w ekstrakcie z sinic modulują aktywność makrofagów, proces fagocytozy i produkcji IL-1, jednak mechanizm tego oddziaływania nie został jeszcze w pełni wyjaśniony.

Największy wpływ na aktywację układu odpornościowego przypisuje się polisacharydom zawartym w biomase spiruliny. Są to głównie heteropolisacharydy zlokalizowane w otoczce, ale także związki uwalniane na zewnątrz. U sinic, najczęściej występującym monomerem jest glukoza, ale spotyka się także galaktozę, mannozę, ramnozę oraz ksylozę [6, 48]. W skład wielu polisacharydów sinic wchodzi także kwasy uroonowe oraz podstawniki polipeptydowe i acetylowe, które zwiększają złożoność budowy tych struktur i odpowiadają za ich zdolność do wiązania jonów różnych metali [13]. Na podstawie badań prowadzonych na myszach wykazano, że frakcja wysokocząsteczkowych polisacharydów zawartych w ekstrakcie *A. platensis* (tzw. Immulina) stymuluje monocyty oraz aktywuje NF-kappa B (NF-kB) na drodze zależnej od CD14 i TLR2 [2]. Receptory z rodziny TLR są odpowiedzialne m.in. za wykrywanie patogenów i umożliwiają komórkom odpornościowym rozróżnienie struktur własnych od obcych. W jelicie, komórki w obrębie kępek Peyera, takie jak makrofagi i komórki dendrytyczne, zawierają TLR i uważa się, że pełnią główną rolę w rozpoznawaniu patogenów wewnątrz śluzówki. Jednym z głównych czynników wpływających na immunologiczne działanie śluzówki są zmiany mikroflory bakteryjnej jelit. W doświadczeniach przeprowadzonych na myszach pozbawionych mikroflory jelitowej wykazano zmniejszenie węzłów chłonnych, śledziony oraz kępek Peyera, obniżenie produkcji śluzówkowego IgA, ograniczenie usuwania mikroorganizmów z krwi, a także opóźnienie odpowiedzi immunologicznej po wprowadzeniu antygeny. Polisacharydy pochodzące z ekstraktu bakterii *A. platensis*, wchodząc w interakcję z receptorami TLR, naśladują wpływ mikroorganizmów na te receptory i sprawność układu immunologicznego [2].

Wyniki otrzymane w wielu badaniach na gatunkach i rasach zwierząt hodowanych przez człowieka w celach spożywczych stanowią podstawę do wykorzystania preparatów spiruliny w ich hodowli jako środka podnoszącego odporność organizmu. W analizach przeprowadzanych na kurczętach rasy White Loughorn i brojlerach dowiedziono, że owe preparaty powodują wzrost zdolności makrofagów do fagocytozy oraz podnoszą aktywność komórek cytotoksycznych. Również interesujące i obiecujące rezultaty otrzymano w testach, w których preparaty z opisywanych sinic podawano

zębaczom. U tych ryb spowodowały one obniżenie poziomu erytrocytów, a zwiększenie poziomu limfocytów. Ponadto zwiększyła się wydajność fagocytozy w odpowiedzi na zymosan oraz chemotaksja dla egzoantygeny *Edwardsiella ictaluri* [5].

Bardzo interesujące i obiecujące wyniki uzyskano w eksperymentach polegających na suplementowaniu codziennej diety 40-letnich mężczyzn biomasą *A. platensis* [20]. Po 2 tygodniach spożywania wodnych ekstraktów sinic u ponad 50% badanych ludzi zanotowano istotny wzrost aktywności cytotoxicznej komórek NK oraz wzrost wydzielania IFN- $\gamma$ . Badania krwinek pobranych od ochotników przed i po doustnym zażyciu *A. platensis* pozwoliły na poznanie molekularnego mechanizmu tego oddziaływania. Stymulacja *in vitro* komórek krwi wykazała wpływ tych bakterii na monocyty, które tak pobudzone wytwarzają zwiększone ilości IL-12, oddziałującej z kolei na naturalne komórki cytotoxiczne (NK) produkujące interferon. Ponadto zauważono, że glikolipidy zawarte w ekstrakcie sinic [23] aktywują w komórkach szpiku kostnego szlak wytwarzania cytokin, gdyż służą jako ligandy dla receptorów TLR. A zatem ekstrakt z sinic *A. platensis* działa bezpośrednio na komórki linii mieloidalnej oraz bezpośrednio bądź pośrednio na komórki NK [20].

W innych badaniach na populacji ludzkiej, Ishii i wsp. [22] badali wpływ *A. platensis* na poziom IgA w ślinie u 127 ochotników. Uczestnicy badań, którzy przyjmowali sinice wraz z pożywieniem przez okres dłuższy niż rok, mieli znacząco wyższy poziom s-IgA niż osoby zażywające preparat krócej niż rok. Wykazano także znaczącą korelację między poziomem całkowitej s-IgA w ślinie a ogólną ilością spożytej spiruliny.

Od dawna wiadomo, że niedobory składników odżywczych są odpowiedzialne za upośledzenie odporności, która objawia się w postaci zmian w wytwarzaniu limfocytów T, aktywności cytokin i komórek NK czy też zaburzonego wydzielania s-IgA. Spirulina, uzupełniając dietę w niezbędne i deficytowe składniki pokarmowe, może modulować odpowiedź układu immunologicznego.

#### 4. Właściwości przeciwzapalne i antyalergiczne

Ścisłe powiązane ze zwiększaniem aktywności układu odpornościowego jest antyalergiczne działanie bakterii z rodzaju *Arthrospira* na organizmy ludzkie. Udowodniono, że składniki zawarte w tych sinicach mają właściwości przeciwzapalne, które objawiają się przede wszystkim poprzez dawko-zależne hamowanie uwalniania histaminy z komórek tucznych [24]. Właściwość ta jest uzależniona od obecności w komórkach cyjanobakterii C-fikocyjaniny, będącej selektywnym inhibitorem cyklooksyzogenazy-2, kluczowego enzymu

odpowiedzialnego za biosyntezę prostaglandyn [38]. C-fikocyjaninę charakteryzują także silne właściwości antyoksydacyjne [21]. W licznych doświadczeniach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* wykazano, że wydajnie zmiata rodniki peroksyłowe ( $IC_{50}$  5  $\mu$ M) [7], hydroksyłowe ( $IC_{50}$  0,91) i alkoksyłowe ( $IC_{50}$  76  $\mu$ g/mL) [41]. Ponadto, fikocyjanina stymuluje hematopoezę naśladując działanie hormonu erytropoetyny (EPO), która jest wytwarzana w nerkach, a reguluje produkcję krwinek czerwonych przez komórki macierzyste szpiku kostnego. Fikocyjanina reguluje także produkcję leukocytów, nawet jeśli komórki macierzyste szpiku kostnego uległy uszkodzeniu przez promieniowanie lub toksyczne chemikalia [8].

Właściwości antyalergiczne sinic objawiają także się poprzez obniżenie poziomu immunoglobulin E przy jednoczesnym zwiększaniu ilości immunoglobulin A, przeciwdziałających reakcjom alergicznym [32]. Ponadto na podstawie badań *in vitro* stwierdzono skuteczność bakterii *A. platensis* w zakresie modulacji sekrecji interleukiny-1 $\beta$  i IL-6 oraz INF- $\gamma$  z jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMCs) [28]. W Rosji, spirulina zdobyła uznanie jako nutraceutyk poprawiający odporność u dzieci z Czarnobyli. Badania przeprowadzone na 270 dzieciach zamieszkujących skażone reaktywnie tereny wykazały, że spożywanie 5 g spiruliny przez 45 dni spowodowało obniżenie poziomu IgE [5], w stopniu umożliwiającym unormowanie podatności na alergię.

W badaniach prowadzonych przez Ma o i wsp. [29] analizowano poziom cytokin u osób z katarą sienną. Badaną grupę 36 chorych w przedziale wiekowym 18–55 lat podzielono na 3 podgrupy. Pierwszym 2 grupom podawano przez 12 tygodni 1 lub 2 gramy spiruliny (w postaci pastylek sporządzonych na bazie biomasy bakterii *A. platensis*, znanych i dostępnych na rynku jako suplement diety), a grupa trzecia otrzymywała placebo. Od pacjentów izolowano PBMC, stymulowano je fitohemaglutyniną (PHA) i oznaczano poziom wytworzonych cytokin. Choć spirulina nie odgrywała roli w regulowaniu sekrecji cytokin limfocytów Th1 (INF- $\gamma$  i IL-2), to w dawce 2 g/dzień znacząco obniżała (o 32%) poziom IL-4 wydzielanej przez komórki stymulowane PHA. Świadczy to o możliwości modulowania odpowiedzi komórkowej u pacjentów z katarą sienną, poprzez zahamowanie różnicowania komórek Th2 pod wpływem IL-4. Preparaty ze spiruliny mogą zatem pełnić rolę ochronną u pacjentów z alergiami. Podobne wyniki uzyskał C i n g i i wsp. [12], którzy w badaniach z podwójną ślepą i placebo, potwierdzili skuteczność preparatów spiruliny w łagodzeniu objawów kataru siennego.

Do składników spiruliny o właściwościach przeciwzapalnych należy również kwas  $\gamma$ -linolenowy (GLA). Ten należący do grupy omega-6 kwas tłuszczowy, jest

wytwarzany endogenicznie z kwasu linolowego (LA) dzięki delta-6-desaturazie. GLA jest następnie metabolizowany do kwasu dihomogammalinolenowego (DGLA), który podlega utlenieniu przez cyclooksigenazy (COX) i lipoksygenazy (LOX) do prostaglandyn i leukotrienów. Metabolizm DGLA przez COX prowadzi do wytworzenia tromboksanu A1 oraz prostaglandyny E1, które działają głównie przeciwzapalnie i rozszerzająco na naczynia [40]. Natomiast pod wpływem 15-lipoksygenazy DGLA przechodzi w kwas 15-hydroksyeikozatrienowy, który z kolei hamuje 5-LOX i katalizowaną przez ten enzym syntezę leukotrienu B4 (LTB4) przez neutrofile. LTB4 będący czynnikiem chemotaktycznym nasila odpowiedź zapalną. W licznych badaniach wykazano zahamowanie wytwarzania LTB4 przez zaktwowane neutrofile na skutek ekspozycji na GLA [45, 50, 51]. GLA oddziałuje także na szlaki syntezy cytokin. Hamuje w sposób dawko-zależny indukowaną mitogenem syntezę IL-2 przez PBMC [43], a także uwalnianie IL-1 $\beta$  przez monocyty stymulowane LPS [14].

## 5. Aktywność antywirusowa

Z badań przeprowadzonych w 2001 roku wynika, że w rejonach jeziora Czad liczba nosicieli wirusa HIV-1 wynosiła 2 do 4 osób dorosłych na 100 (plemień Kanemba zamieszkujące tamtejsze tereny), co w stosunku do danych otrzymanych dla innych obszarów Afryki z tego okresu (10% dorosłych jest zarażonych) wykazuje istotną różnicę. Podobnie w Azji zauważono niższy odsetek zarażonych wirusem HIV-1 w takich krajach jak Japonia i Korea w porównaniu do pozostałych części kontynentu. Wyjaśnienia tego ewenementu doszukano się w fakcie, że ludzie zamieszkujący te rejony codziennie spożywają spirulinę w ilości 3–13 g/dobę [47].

W ostatnich latach przeprowadzono badania mające na celu wykazać hamujący wpływ spiruliny na szereg różnych wirusów otoczkowych, m.in.: HIV-1, opryszczki zwykłej (HSV-1, HSV-2), cytomegalii (HCMV), grypy typu A, odry, podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej, poliovirusa-1 i wielu innych [15, 16, 18, 19]. Starano się również określić, jakie związki zawarte w komórkach tych bakterii odpowiadają za ewentualne właściwości antywirusowe. Okazało się, że sinice należące głównie do gatunku *A. maxima* i *A. platensis* radzą sobie doskonale z hamowaniem replikacji wielu z wyżej wymienionych wirusów, a przy wyższych stężeniach całkowicie blokują ich rozwój. Co ważne, stężenia, przy których wykazano skuteczność preparatów sporządzonych na bazie biomasy tych cyjanobakterii, nie są szkodliwe dla człowieka. W doświadczeniach *in vivo*, przeprowadzonych głównie na gryzoniach,

badź *in vitro* np. na komórkach HeLa, ekstrakt z *A. platensis* w sposób proporcjonalny do dawki hamował infekcję wirusem HSV już na etapie adsorpcji i/lub penetracji, a także później, na etapie replikacji wirusa [16].

Ayehunie i wsp. [1] wykazali, że ekstrakty wodne z *A. platensis*, w stężeniach, które nie są toksyczne dla komórek ludzkich, hamują rozwój syncytium komórkowego (komórki olbrzymie) i replikację HIV-1 w ludzkich limfocytach T, w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej oraz w komórkach Langerhansa.

W licznych badaniach na ekstraktach wodnych *A. platensis* dowiedziono, że składnikami aktywnymi są polisacharydy, w szczególności spirulan wapnia (Ca-SP) oraz spirulan sodu (Na-SP), w którym jony wapnia zostały zastąpione jonami sodu. Spirulan wapnia jest zbudowany między innymi z ramnozy, rybozy, mannozy, fruktozy, glukozy, galaktozy, ksylozy, kwasów glukuronowego i galakturonowego oraz siarczanu i wapnia [15, 18, 26]. W badaniach *in vivo* i *ex vivo* wykazano jego potencjał jako silnego czynnika antywirusowego wobec HSV-1 i HIV-1. Szczególnie obiecujące są badania nad aktywnością anti-HIV, gdyż już niskie stężenia Ca-SP wystarczały do zahamowania namnażania wirusa oraz ograniczenia powstawania komórek olbrzymich (*giant cells*) wywołanych obecnością HIV. Ponadto spirulan wapnia charakteryzuje się znacznie niższą aktywnością antykoagulacyjną oraz dłuższym okresem półtrwania we krwi myszy niż stosowany dotychczas siarczan dekstranu. Dzięki temu nie ma wad, typowych dla siarczanów polisacharydów dotychczas stosowanych jako związki antywirusowe. W badaniach tych wykazano także, iż obecność jonów wapnia w cząsteczce jest kluczowa dla aktywności anti-HIV [15]. Hayaashi i wsp. [18] ustalili również, że spirulan wapnia dodany do podłoża hodowlanego hamuje replikację następujących wirusów w odpowiednich liniach komórkowych: HSV-1 (HeLa), HCMV (HEL), odry (Vero), świnki (Vero), grypy (MDCK), polio (Vero), coxsackie (Vero) oraz HIV-1 (MT-4). Przykładowo, dla komórek MT-4 stężenie Ca-SP potrzebne do zredukowania replikacji wirusa o 50% ( $ED_{50}$ ) wynosiło 11,4  $\mu\text{g/ml}$  jeśli spirulan wapnia był dodany natychmiast po infekcji wirusem, ale tylko 2,3  $\mu\text{g/ml}$  jeśli dodano go do podłoża na 3 godziny przed infekcją. Uważa się, że mechanizm hamowania replikacji wirusa polega przede wszystkim na selektywnym zablokowaniu jego penetracji do wnętrza komórek [19].

Jedynie badania *in vitro* nad skutecznością ekstraktów lipidowych przeprowadzono na komórkach Vero (fibroblasty nerki afrykańskiej zielonej małpy), które wykazały, że również lipidowe ekstrakty z *A. platensis* charakteryzują się aktywnością antywirusową wobec HSV-1 [11]. Składnikiem aktywnym jest diacylogli-

cerol sulfochinowozylu (SQDG) o  $IC_{50} = 6,8 \mu\text{g/ml}$ , będący inhibitorem polimerazy e DNA [31]. Porównując właściwości antywirusowe ekstraktów spiruliny przyrządzonych z wykorzystaniem różnych rozpuszczalników wykazano, że największą aktywność uzyskuje się stosując rozpuszczalniki polarne, w szczególności mieszaninę metanolu z wodą w stosunku 3:1 [19].

W przypadku węglowodanów zawartych w biomacie omawianych sinic wykazano wyraźny związek pomiędzy ich skutecznością w hamowaniu rozwoju wirusów, a zawartością grup  $\text{SO}_4^{2-}$  [27]. Stwierdzono to na podstawie badań przeprowadzonych na wirusie opryszczki typu 1 i 2, wykorzystując jako czynnik hamujący spirulan sodu (Na-SP), wyizolowany z *A. platensis* polisacharyd. Wielocukry, w których zawartość grup siarczanowych została zmniejszona poniżej 8,6% były nieaktywne nawet jeśli je podano na 8 h przed zainfekowaniem wirusem. Natomiast polisacharydy o zawartości siarczanów w przedziale 8,6–17,8% charakteryzowały się coraz wyższą aktywnością antywirusową ( $IC_{50}$  od 20 do 0,46  $\mu\text{g/ml}$ ). Co ciekawe, polisacharydy wzbogacane w grupy siarczanowe (21,1–28,1%) nie wykazywały zmienionej aktywności, jeśli je dodawano we wczesnych stadiach, co może świadczyć o tym, że zawartość siarczanów w naturalnie występującej cząsteczce Na-SP jest wystarczająca do zahamowania replikacji. Jednakże, jeśli te same polisacharydy dodano w późnych etapach replikacji wirusa obserwowano wyraźnie podwyższoną aktywność antywirusową.

Mechanizm działania wyżej wymienionych związków nie jest do końca poznany, ale przyjmuje się, że zwalczają one wirusy poprzez otaczanie komórek zwierzęcych lub ludzkich, co zabezpiecza je przed wniknięciem tych mikroorganizmów. Jony  $\text{Ca}^{2+}$  oraz grupy  $\text{SO}_4^{2-}$  wiążą wybrane czynniki chorobotwórczości, które w związanej formie stają się nieaktywne.

## 6. Działanie ochronne przed czynnikami genotoksycznymi i mutagennymi

Wpływ ochronny sinic wobec materiału genetycznego wykazano dotychczas w nielicznych pracach, jednak prezentowane wyniki są obiecujące.

W badaniach *in vivo* Premkumar i wsp. [34] wykazali hamujący efekt dodatku sproszkowanej *Arthrospira fusiformis* na indukowane cyklofosfamidem (CF) i mitomycyną C (MMC) uszkodzenia chromosomów. Męskie osobniki myszy rasy Swiss (albinosy) miały przez 5 dni podawane przez sondę dożołądkową 250, 500 lub 1000 mg sproszkowanej spiruliny/kg masy ciała dziennie, po czym 2<sup>h</sup> po ostatniej dawce aplikowano im dootrzewnowo pojedynczą dawkę cyklofosfamidu (40 mg/kg) lub mitomycyny C (1 mg/kg). Po 24 godzinach po podaniu MMC lub CF

zwierzęta zabijano, a tkanki przekazywano do analiz biochemicznych oraz testu mikrojądrowego w celu oceny genotoksyczności. Na podstawie wyników wykazano, że *A. fusiformis* w sposób istotny statystycznie i dawko-zależny hamowała uszkodzenia chromosomów wywołane CF i MMC. Ponadto, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationu (GPx) i S-transferazy glutationu (GST) znacząco malały u zwierząt poddanych działaniu związków genotoksycznych. Doustne podanie preparaty *A. fusiformis* we wszystkich badanych dawkach odwracało zmiany i pozwalało zwierzętom utrzymać status zbliżony do normalnego, tym łatwiej im wyższa dawka sinic została podana. Autorzy efekt antymutageny *Arthrospira* tłumaczą działaniem antyoksydacyjnym składników w niej zawartych, jak np. witamin czy karotenoidów [34]. W innych badaniach tych samych autorów [33] *A. fusiformis* podawana doustnie myszom w dawkach 250, 500 lub 1000 mg/kg w znaczący sposób hamowała genotoksyczność indukowaną cysplatiną i uretanem. Ponadto zaobserwowano znaczne ograniczenie zasięgu peroksydacji lipidów z jednoczesnym wzrostem enzymatycznych i nieenzymatycznych antyoksydantów w wątrobie (GPx, GST, SOD, CAT).

Lahitova i wsp. [25] za pomocą testu Amesa oceniali antymutageny wpływ dostępnego komercyjnie preparatu Alpha Sun, zawierającego w swym składzie gł. *Aphanisomenon flos-aquae*, ale także *Arthrospira* sp. i *Chlorella* sp. Podczas doświadczeń oceniano ilość powstałych rewertantów histydynowych w szczepach *Salmonella typhimurium* TA97, TA100 i TA102 poddawanych ekspozycji na czynnik mutageny – nitrowin (chlorowodorek 1,5-dwu(5-nitro-2-furylo)-1,4-pentadien-3-on-iminosemikarbazonu) z dodatkiem lub bez preparatu Alpha Sun. Wykazano, że jego jednoczesne podanie z mutagenem nie wpływało na ilość rewersji mutacji. Jeśli jednak Alpha Sun został dodany do medium na 2 lub 24 h przed zadziałaniem czynnika mutagennego, to ilość rewertantów malała nawet o 50%, potwierdzając tym samym antymutagenne działanie preparatu.

Antymutageny wpływ *Arthrospira* w sytuacji, gdy ma miejsce podczas rozwoju płodu staje się działaniem antyteratogennym. W badaniach przeprowadzonych na myszach, samcom i samicom podawano doustnie wysuszoną biomasa sinic w ilości 0, 200, 400 oraz 800 mg/kg masy ciała przez 2 tygodnie [10]. Następnie aplikowano czynnik mutageny – cyklofosfamid (CF) przez 5 dni, w ilości 40 mg/kg masy ciała. Po tym okresie zwierzęta przetrzymywano w klatkach parami wg odpowiedniego rozkładu, by mogło dojść do zapłodnienia samic. U samic zapłodnionych, którym podawano sinice przed wstrzyknięciem CF, liczba poronień była bardzo zbliżona do tej w grupie kontrol-

nej, przy czym wartości te były tym bliższe danym uzyskanym u ciężarnych nie przyjmujących cyklofosfamid, im wyższa była dawka *Arthrospira*. Wyniki takie potwierdzają ochronne działanie cyjanobakterii wobec płodu. Ważne jest, że w grupie otrzymującej najwyższą dawkę biomasy (bez wywoływania efektu mutagennego) nie zaobserwowano znaczącego wpływu na ilość żywych płodów. Natomiast u samców traktowanych zarówno CF, jak i sinicami nie wykazano istotnego wpływu mutagennego na ilość oraz jakość spermy. Należy zaznaczyć, że u zwierząt, którym podawano biomasa cyjanobakterii w trakcie trwania eksperymentu nie zaobserwowano żadnych zmian patologicznych podczas sekcji zwłok [10]. Pojawiły się też doniesienia o ochronnym efekcie spiruliny wobec teratogennego działania CdCl<sub>2</sub> [42] i hydroksymocznika [49] u myszy.

## 7. Wpływ spiruliny na rozwój nowotworów

Spirulan wapnia, oprócz swojej aktywności antywirusowej, jest także skuteczny w hamowaniu rozwoju nowotworów. W organizmie ludzkim występuje endonukleaza, która uczestniczy w procesie naprawy DNA (zmutowanych) fragmentów DNA. Spirulan wapnia wzmaga aktywność tego enzymu, co przyspiesza procesy naprawcze w materiale genetycznym komórki. Wyniki doświadczeń prowadzonych w Rosji wykazują, że polisacharydy z sinic mogą znacząco zwiększać aktywność naprawczą w uszkodzonym przez promieniowanie DNA, zarówno na etapie wycinania zmian, jak i syntezy naprawczej DNA [35].

Spirulina ma również zdolność hamowania, a nawet cofania się rozwoju komórek rakowych, aż do całkowitego zaniku nowotworów. W Indiach przeprowadzono jedyne jak dotąd badania z udziałem ludzi, które potwierdziły działanie antynowotworowe sinicy *A. fusiformis* [30]. W eksperymencie zaangażowano w sumie 87 mężczyzn, z których 44 przyjmowało codziennie 1 g sinic przez czas jednego roku, a pozostali stanowili grupę przyjmującą placebo. Badano wpływ sinic na leukoplakię jamy ustnej (patologiczna zmiana poprzedzająca powstawanie nowotworów) u mężczyzn żujących tytonię, u których wystąpiła. W grupie otrzymującej cyjanobakterie u 45% przypadków stwierdzono całkowitą regresję leukoplakii, podczas gdy w grupie kontrolnej jedynie w 7% przypadków. Wyniki tych badań zasługują na szczególną uwagę z tego względu, że nawet w wysoko rozwiniętych krajach zużycie tytoniu jest wciąż bardzo wysokie i stanowi on przyczynę 30% przypadków występowania nowotworów, zwłaszcza płuc i jamy ustnej. Testy przeprowadzone w Indiach dowodzą konieczności dalszych badań z udziałem ochotników, by udowodnić zasadność

stosowania bakterii *A. fusiformis* jako suplementu diety w profilaktyce przeciwnowotworowej [30].

Inne badania z wykorzystaniem sinic z rodzaju *Arthrospira* miały na celu odkrycie związku pomiędzy redukcją rozwoju komórek nowotworowych, a obecnością i ilością C-fikocyjanin [39]. Związki te należą do grupy biliprotein rozpuszczalnych w wodzie i mają zdolność ochrony wątroby, zapobiegania oksydacji wielu związków, przeciwdziałają stanom zapalnym i zmianom artretycznym zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Większość tych właściwości opiera się o zdolność fikocyjanin do selektywnej inhibicji cyklooksygenazy-2 (COX-2). Związek ten jest aktywowany w niewielkich ilościach w większości tkanek, ale proces ten jest aktywowany przez bakteryjne lipopolisacharydy, cytokiny, czynniki wzrostu, onkogeny i kancerogeny. Poziom COX-2 osiąga znacznie wyższe wartości w tkankach, w których rozwijają się komórki nowotworowe, a w przypadku nowotworów odbytu ma nawet zdolność pobudzania ich rozwoju przy współdziałaniu prostaglandyn, co może służyć do oceny występowania i ewentualnie stopnia rozwoju nowotworów.

Potwierdzają to badania przeprowadzone na linii makrofagów RAW 264.7 pochodzących od myszy, które to komórki wykazują wysoki poziom COX-2 po indukcji bakteryjnym lipopolisacharydem (LPS). W tych komórkach, stymulowanych LPS, C-fikocyjaniny znacząco hamowały cyklooksygenazę-2, obniżając tym samym poziom PGE<sub>2</sub>, co w efekcie końcowym powodowało apoptozę komórek [39].

## 8. Podsumowanie

Miliony ludzi na świecie spożywa spirulinę, wytwarzaną w specjalnie przystosowanych do tego „akwa-farmach”. Szacuje się, że światowa produkcja tego dodatku do żywności przekracza 1000 ton rocznie i wciąż rośnie. W przedstawionych powyżej rozważaniach zaprezentowano jedynie niektóre z cech spiruliny, koncentrując się głównie na jej immunomodulacyjnych właściwościach. Z pewnością, należy również pamiętać, że zarówno spirulina, jak i ekstrakty z niej przyrządzone, zawierają liczne inne bioaktywne związki, których tutaj nie wymieniono. Warto też wspomnieć, że cyjanobakterie znalazły już zastosowanie jako źródło przeciwutleniaczy, witamin i minerałów, szczególnie żelaza. Są to składniki, których niedobór w diecie, sprzyja rozwojowi wielu chorób. Liczne badania wykazały, że spirulina oprócz właściwości przeciwzapalnych, antywirusowych, antynowotworowych i immunomodulacyjnych, wywiera także pozytywny wpływ na poziom trójglicerydów, cholesterolu i fosfolipidów [5, 9]. Spirulina może także odgrywać znaczącą rolę w oczyszczaniu

ciała z toksyn, w szczególności z metali ciężkich, np. rtęci [44].

Preparaty sporządzone na bazie bakterii z rodzaju *Arthrospira* mogą z powodzeniem znaleźć szerokie zastosowanie w medycynie. Liczne badania, jakie przeprowadzono w ostatnich kilkunastu latach potwierdzają ich skuteczność w leczeniu anemii, alergii, nowotworów, objawów choroby popromiennej, niedoborów odporności, chorób wirusowych i bakteryjnych oraz wielu innych. Choroby, które są zwalczane bądź hamowane przez substancje aktywne zawarte w biomacie tych sinic, są często uznawane za nieuleczalne albo leki stosowane obecnie do ich zwalczania są drogie i wykazują szereg niepożądanych skutków ubocznych. Po przeprowadzeniu dokładnych badań w zakresie działania i zastosowania preparatów spiruliny może się okazać, że niewielkim nakładem pracy i środków uda się sporządzić farmaceutyki skuteczne w zwalczaniu wielu poważnych schorzeń.

## Piśmiennictwo

1. Ayeahunie S., Belay A., Baba T.W., Ruprecht R.M.: Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *J. Acquir. Immune Defic. Synd. Hum. Retrovirol.* **18**, 7–12 (1998)
2. Balachandran P., Pugh N.D., Ma G., Pasco D.S. Toll-like receptor 2-dependent activation of monocytes by *Spirulina* polysaccharide and its immune enhancing action in mice. *Int. Immunopharmacol.* **6**, 1808–1814 (2006)
3. Becker E.W.: Micro-algae as a source of protein, *Biotechnol. Adv.* **25**, 207–210 (2007)
4. Belay A.: Spirulina (*Arthrospira*): Production and quality assurance (w) Spirulina in Human Nutrition and Health, red. Gershwin M.E., Belay A. CRC Press, Boca Raton, Taylor & Francis, 2007, 1–26.
5. Belay A.: The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J. Am. Nutraceut. Associat.* **5**, 27–49 (2002)
6. Bertocchi C., Navarini L., Cesaro A., Anastasio M.: Polysaccharides from cyanobacteria. *Carbohydr. Polym.* **12**, 127–153 (1990)
7. Bhat V.B., Madyastha K.M.: C-Phycocyanin: A potent peroxyl radical scavenger *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **275**, 20–25 (2000)
8. Borchers A.T., Belay A., Keen C.L., Gershwin M.E.: Spirulina and immunity (w) Spirulina in Human Nutrition and Health, red. Gershwin M.E., Belay A.; CRC Press, Boca Raton, Taylor & Francis, 2007, 177–194.
9. Carmichael W.W., Stukenberg M.: Blue-green algae (cyanobacteria) (data przyjęcia 15 sierpnia 2006) (w) Encyclopedia of Dietary Supplements, red. Coates P., Blackman M.R., Cragg G., Levine M., Moss J., White J., Taylor & Francis, 2006 (online) <http://www.informaworld.com/smpp/ftinterface~content=a758544441~fulltext=713240930>, 10 lipca 2009.
10. Chamorro-Cevallos G., Garduño-Siciliano L., Barrón B.L., Madrigal-Bujaidar E., Cruz-Vega D.E., Pages N.: Chemoprotective effect of *Spirulina* (*Arthrospira*) against

- cyclophosphamide-induced mutagenicity in mice. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 567–574 (2008)
11. Chirasuwan N., Chaiklahan R., Kittakoop P., Chanasattru W., Ruengjitchatchawalya M., Tanticharoen M., Bunnag B.: Anti HSV-1 activity of sulphoquinovosyl diacylglycerol isolated from *Spirulina platensis*. *Science Asia*, **35**, 137–141 (2009)
  12. Cingi C., Conk-Dalay M., Cakli H., Bal C.: The effects of spirulina on allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* **265**, 1219–1223 (2008)
  13. De Phillips R., Vincenzini M.: Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS Microbiol. Rev.* **22**, 151–175 (1998)
  14. Furse R.K., Rossetti R.G., Zurier R.B.: Gamma-linolenic acid, an unsaturated fatty acid with anti-inflammatory properties, blocks amplification of IL-1 beta production by human monocytes. *J. Immunol.* **167**, 490–496 (2001)
  15. Hayashi K., Hayashi T., Kojima I.: A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: *in vitro* and *ex vivo* evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **12**, 1463–1471 (1996)
  16. Hayashi K., Hayashi T., Morita N., Kojima I.: An extract from *Spirulina platensis* is a selective inhibitor of Herpes simplex virus type 1 penetration into HeLa cells. *Phytother. Res.* **7**, 76–80 (1993)
  17. Hayashi O., Katoh T., Okuwaki Y.: Enhancement of antibody production in mice by dietary *Spirulina platensis*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **40**, 431–441 (1994)
  18. Hayashi T., Hayashi K., Maeda M., Kojima I.: Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina platensis*. *J. Nat. Prod.* **59**, 83–87 (1996)
  19. Hernandez-Corona A., Nieves I., Meches M., Camorro G., Barron B.L.: Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Res.* **56**, 279–285 (2002)
  20. Hirahashi T., Matsumoto M., Hazzeki K., Saeki Y., Ui M., Seya T.: Activation of the human innate immune system by Spirulina: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *Int. Immunopharmacol.* **2**, 423–434 (2002)
  21. Hirata T., Tanaka M., Ooike M., Tsunomura T., Sakaguchi M.: Morihiko Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. *J. Appl. Phycol.* **12**, 435–439 (2000)
  22. Ishii K., Kato T., Okuwaki Y., Hayashi O.: Influence of dietary *Spirulina platensis* on IgA level in human saliva. *Joshi Eiyo Daigaku Kiyo (The Bulletin of Kagawa Nutrition University)*, **30**, 27–33 (1999)
  23. Kataoka N., Misaki A.: Glycolipids isolated from *Spirulina maxima*: structure and fatty acid composition. *Agric. Biol. Chem.* **47**, 2349–2355 (1983)
  24. Kim H.M., Lee E.H., Cho H.H., Moon Y.H.: Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by *Spirulina*. *Biochem. Pharmacol.* **55**, 1071–1076 (1998)
  25. Lahitova N., Doupovcova M., Zvonar J., Chandoga J., Hocman G.: Antimutagenic properties of fresh-water blue-green algae. *Folia Microbiol. (Praha)*, **39**, 301–303 (1994)
  26. Lee J.B., Hayashi T., Hayashi K., Sankawa U., Maeda M., Nemoto T., Nakanishi H.: Further purification and structural analysis of calcium spirulan from *Spirulina platensis*. *J. Nat. Prod.* **61**, 1101–1104 (1998)
  27. Lee J.B., Hou X., Hayashi K., Hayashi T.: Effect of partial desulfation and oversulfation of sodium spirulan on the potency of anti-herpetic activities. *Carbohydr. Polym.* **69**, 651–658 (2007)
  28. Mao T.K., van de Water J., Gershwin M.E.: Effect of spirulina on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. *J. Med. Food.* **3**, 135–140 (2000)
  29. Mao T.K., van de Water J., Gershwin M.E.: Effects of a spirulina-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. *J. Med. Food.* **8**, 27–30 (2005)
  30. Mathew B., Sankaranarayanan R., Nair P.P., Varghese C., Somanathan T., Amma B.P., Amma N.S., Nair M.K.: Evaluation of chemoprevention of oral cancer with *Spirulina fusiformis*. *Nutr. Cancer*, **24**, 197–202 (1995)
  31. Mizushima Y., Sakaguchi K. i wsp.: A sulphoquinovosyl diacylglycerol is a DNA polymerase  $\epsilon$  inhibitor. *Biochem. J.* **370**, 299–305 (2003) (praca jest dziełem 15 autorów).
  32. Nemoto-Kawamura C., Hirahashi T., Nagai T., Yamada H., Katoh T., Hayashi O.: Phycocyanin enhances secretory IgA antibody response and suppresses allergic IgE antibody response in mice immunized with antigen-entrapped biodegradable microparticles. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **50**, 129–136 (2004)
  33. Premkumar K., Abraham S.K., Santhiya S.T., Ramesh A.: Protective effect of *Spirulina fusiformis* on chemical-induced genotoxicity in mice. *Fitoterapia*, **75**, 24–31 (2004)
  34. Premkumar K., Pachiappan A., Abraham S.K., Santhiya S.T., Gopinath P.M., Ramesh A.: Effect of *Spirulina fusiformis* on cyclophosphamide and mitomycin-C induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Fitoterapia*, **72**, 906–911 (2001)
  35. Qishen P.: Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis* [streszczenie w jęz. angielskim]. *Acta Genetica Sinica (Chinese J. Genetics)*, **15**, 374–381 (1988)
  36. Qureshi A.M., Kidd M.T., Ali R.A.: *Spirulina platensis* extract enhances chicken macrophage functions after *in vitro* exposure. *J. Nutrition. Immunol.* **3**, 35–45 (1996)
  37. Ravishankar A., Sarada R., Prasanna R.: Formulation of a low-cost medium for mass production of *Spirulina*. *Bio-mass Bioenergy*, **30**, 537–542 (2006)
  38. Reddy C.M., Bhat V.B., Kiranmai G., Reddy M.N., Reddanna P., Madyastha K.M.: Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by C-phycocyanin, a biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **277**, 599–603 (2000)
  39. Reddy M.C., Subhashini J., Mahipla S.V.K., Bhat V.B., Reddy P.S., Kiranmai G., Madyastha K.M., Reddanna P.: C-phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 364.7 macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **304**, 385–392 (2003)
  40. Robak T.: Biologia i farmakologia cytokin. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, Łódź 1995
  41. Romay C., Armesto J., Ramirez D., González R., Ledon N., García I.: Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. *Inflamm. Res.* **47**, 36–41 (1998)
  42. Romero-Manilla R., Hernández-Navarro D., Chamorro-Cevallos G.: *Spirulina* reduces cadmium-induced teratogenic damage in mice. *Toxicology Lett.* **180**, S180 (2008)
  43. Santoli D., Zurier R.B.: Prostaglandin E precursor fatty acids inhibit human IL-2 production by a prostaglandin E-independent mechanism. *J. Immunol.* **143**, 1303–1309 (1989)



44. Sharma M.K., Sharma A., Kumar A., Kumar M.: *Spirulina fusiformis* provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Food Chem. Toxicol.* **45**, 2412–2419 (2007)
45. Surette M.E., Swan D.D., Fonteh A.N., Johnson M.M., Chilton F.H.: Metabolism of gamma-linolenic acid in human neutrophils. *J. Immunol.* **156**, 2941–2947 (1996)
46. Systema Naturae 2000, <http://www.taxonomy.nl/Main/Classification/111375.htm> (stan na 10 lipca 2009).
47. Teas J., Hebert J.R., Fitton J.H., Zimba P.V.: Algae – a poor man’s HAART? *Med. Hypotheses*, **62**, 507–510 (2004)
48. Trabelsi L., M’sakni N.H., Ben Ouada H., Bacha H., Roudesli S.: Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **14**, 27–31 (2009)
49. Vázquez-Sánchez J., Ramón-Gallegos E., Mojica-Villegas A., Madrigal-Bujaidar E., Pérez-Pastén-Borja R., Chamorro-Cevallos G.: *Spirulina maxima* and its protein extract protect against hydroxyurea-teratogenic insult in mice. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 2785–2789 (2009)
50. Ziboh V.A., Fletcher M.P.: Dose response effects of dietary gamma-linolenic acid-enriched oils on human polymorphonuclear-neutrophil biosynthesis of leukotriene B4. *Am. J. Clin. Nutr.* **55**, 39–45 (1992)
51. Ziboh V.A., Naguwa S., Vang K., Wineinger J., Morrissey B.M., McIntyre J.A., Watnik M., Gershwin M.E.: Suppression of leukotriene B4 generation by *ex vivo* neutrophils isolated from asthma patients on dietary supplementation with gamma-linolenic acid-containing borage oil: possible implication in asthma. *Clin. Dev. Immunol.* **11**, 13–21 (2004)