

ГАММУДІ С. ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-8752-6616>)

ДІВАНІ Н. ² (<https://orcid.org/0000-0002-0017-3046>)

АТМУНІ Х. ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-5755-7112>)

АЙЯДІ Х. ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-5417-444X>)

ГВЕРМАЗІ В. ^{1*} (<https://orcid.org/0000-0003-4309-744X>)

¹ Лабораторія морського біорізноманіття та оточуючого середовища, факультет науки, Університет Сфаксу, 3000 Сфакс, Туніс

² Токсиколого-мікробіологічна лабораторія оточуючого середовища та охорони здоров'я, факультет науки, Університет Сфаксу, 3000 Сфакс, Туніс

*Адреса для листування: wassim.guermazi@fss.usf.tn

ЗАХИСНА ДІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО ПІГМЕНТУ, ВИДІЛЕНОГО З НОВОГО ШТАМУ ГАЛОФІЛЬНИХ ЦІАНОБАКТЕРІЙ, ПРОТИ ТОКСИЧНОСТІ ШКІДЛИВИХ МЕТАЛІВ У КЛІТИНІ ЛЮДИНИ

Реферат. Досліджена захисна дія біологічно активного пігменту із ціанобактерії проти токсичності шкідливих металів у клітині людини. Гіперсолоне середовище колонізується неочікуваним різноманіттям галофільних мікроорганізмів, добре пристосованих для виживання та розмноження в екстремальних умовах солоності, ультрафіолетового опромінення та оксидативного стресу. Серед цих мікроорганізмів — види ціанобактерій, багаті природними біомолекулами, такими як фенольні сполуки, вуглеводи, білок і пігменти. Фікоціанін (С-РС), синій пігмент, який містять ціанобактерії, має різні терапевтичні властивості, включаючи антиоксидантну, протиракову та протизапальну дію. Об'єктом нашого дослідження був фікоціанін із ціанобактерії *Phormidium versicolor*

Надійшла до редакції 06.05.2024. Після доопрацювання 04.06.2024. Підписана до друку 19.06.2024.

Опублікована 20.03.2025

Ц и т у в а н н я . Гаммуді С., Дівані Н., Атмуні Х., Айяді Х., Гвермазі В. 2025. Захисна дія біологічно активного пігменту, виділеного з нового штаму галофільних ціанобактерій, проти токсичності шкідливих металів у клітині людини. *Альгологія*. 35(1): 3–14. https://doi.org/10.15407/alg35.01_003

This is open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

(NCC466), ізольованої з сонячної солеварні Сфакс у Тунісі. Ми оцінили *in vitro* сприятливий вплив цього метаболіту, зокрема гепатопротекторну активність. У нашому дослідженні 25 мкг/мл цього пігменту оцінювали на гепатопротекторну активність проти 35 мкг/мл індукованої кадмієм (Cd) токсичності в клітинах HepG2 шляхом визначення життєздатності клітин. Це дослідження показує, що С-РС захищає клітини від шкідливого впливу Cd, підвищуючи їхню життєздатність до 90%. Морфологічні дослідження також підтвердили захисний ефект С-РС. Фікоціанін з *P. versicolor* є сполукою харчового класу й може бути цінним нутрицевтичним продуктом для використання у фармакології.

Ключові слова: ціанобактерії, галотолерант, *Phormidium versicolor*, пігмент, С-фікоціанін, гепатопротектор, клітина HepG2, *in vitro*, клітина людини

Вступ

Токсичність та біонакопичення важких металів — одна з нових глобальних проблем, які порушують усі біологічні функції рослин, тварин і людей (Suhani et al., 2021). Кадмій (Cd) є екотоксичним металом, який може накопичуватися на різних трофічних рівнях харчового ланцюга в більшості розвинутих країн (Du et al., 2020; Annabi-Trabelsi et al., 2021). В недавніх дослідженнях вказується на корисні для здоров'я властивості низки харчових продуктів (Vulić та ін., 2014; Kandylic, 2021). Останні містять кілька біологічно активних сполук, які виділені з природних джерел і мають корисні властивості для здоров'я людини (Grigogaş, 2012; Morand, 2014). Серед продуктів переробки велике місце займають пігменти (каротиноїди, фукоксантин і фікоціанін) (Tkachenko, Yakuba, 2019; Thomas et al., 2020; Ismail, Noaman, 2022).

Фікоціанін С-РС, головний допоміжний фотосинтетичний пігмент темно-синього кольору, є нутрицевтичною сполукою і, отже, комерційно найпривабливішою речовиною, виявленою в спіруліні (Couteau et al., 2004; Kozel et al., 2016). Його основною функцією є передача та збирання фотонів від хлорофілу *a*, коли ефективність поглинання останнього є низькою (Grossman et al., 1994). Фікоціанін використовується як харчова добавка через високий вміст вітамінів, незамінних жирних кислот, мінералів і особливо білків (Vermejo et al., 2008). Цей пігмент визнано природним барвником кількох комерційних харчових продуктів, таких як жувальні гумки, сир, цукерки, морозиво, тістечка, молочні коктейлі, а також у косметичці та біотехнологіях (Kim et al., 2008; Davoodi et al., 2023). Фікоціанін має нефропротекторні, гепатопротекторні, протизапальні та протипухлинні властивості завдяки своїй високій антиоксидантній активності (Fernández-Rojas et al., 2014; Gammoudi et al., 2019). Дійсно,

C-PC може захистити живу клітину шляхом інгібування або затримки окислення ліпідних мембран (Romay et al., 2003).

Недавні дослідження показали, що споживання антиоксидантної їжі може підтримувати баланс між антиоксидантною системою та виробництвом прооксидантів (Vacchetti et al., 2020; Tian et al., 2022). Таким чином, людський організм здатен боротися з різними захворюваннями, головним чином раком, хворобою Альцгеймера, атеросклерозом, діабетом, запальними захворюваннями (Mesbahzadeh et al., 2018; Reddy et al., 2020). У 1998 р. кубинські дослідники вперше довели протизапальну активність фікоціаніну проти кількох патологічних розладів на моделях *in vitro* та *in vivo*. Цей біліпротеїн здатен поглинати гідроксильний радикал (OH), супероксидний аніон (O_2^-) та алкоксильний радикал (RO) (Romay et al., 1998, 2003).

Штам галотолерантних ціанобактерій *P. versicolor* NCC466, виділений із сонячної солеварні Сфакс (Туніс) і культивований у лабораторії, багатий на C-PC (Gammoudi et al., 2019, 2022). Фікоціанін із фотосинтезу *P. versicolor* ідентифікували за допомогою аналізів SDS-PAGE, HPLC та FTIR (Gammoudi et al., 2019). Наскільки нам відомо, гепатопротекторний потенціал C-PC, виділеного з *P. versicolor*, ще не вивчали *in vitro* на клітинах людини.

Наше дослідження було спрямоване на оцінку *in vitro* захисного ефекту C-PC проти індукованої кадмієм токсичності в клітинах печінки людини HepG2.

Матеріали та методи

Виділення та умови культивування штаму

Матеріал для виділення штаму *Phormidium versicolor* (NCC466) відбирали у ставку С2-1 солеварні Сфакс (Туніс), де солоність становить близько 95 п.с.о. (практична системна одиниця) (Belhaj et al., 2017; Gammoudi et al., 2019). Після виділення культуру *P. versicolor* переносили в середовище BG-11 (Stanier et al., 1971). Культивування проводили в інкубаторі (FRIOCELL) за умов 12 год світла/12 год темряви при температурі 25 °C та інтенсивності світла близько 130 мкмоль фотонів на $m^{-2} s^{-1}$.

Екстракція С-фікоціаніну з *Phormidium versicolor*

Екстракцію фікоціаніну розчинником здійснювали за Silveira et al. (2007). 8 г висушеної оптимізованої біомаси *P. versicolor* розчиняли в 250 мл натрієвого буфера (pH 7) й змішували в роторному шейкері при 100 об/хв та температурі 30 °C протягом 24 год. Далі зразки центрифугували (6000 об/хв, 5 хв, 4 °C), а супернатант зберігали при -20 °C для

подальших аналізів (рис. 1). Концентрацію С-РС під час процесу екстракції визначали методом, використаним Chen et al. (2006) за формулою:

$$\text{Концентрація С - РС} = \frac{A_{615} - 0.474 \times A_{652}}{5.24}$$

Чистоту С-РС оцінювали спектрофотометрично (Abalde et al., 1998) за співвідношенням:

$$\text{Чистота С - РС} = \frac{A_{620}}{A_{280}}$$

Культура клітин

Клітини гепатоцелюлярної карциноми людини HepG2 були отримані з центру біотехнології Сфаксу. Їх висівали в Т-колби об'ємом 25 см² (Falcon, Weston Dickinson, США) і культивували в середовищі Ігла, модифікованому Дульбекко (Dulbecco Modified Eagle's Medium, D-MEM), що містить 10% FCS, 1% L-глутаміну та 50 мкг · мл⁻¹ гентаміцину сульфату. Клітини інкубували при 37 °С (5% CO₂ у 95%-му повітрі).

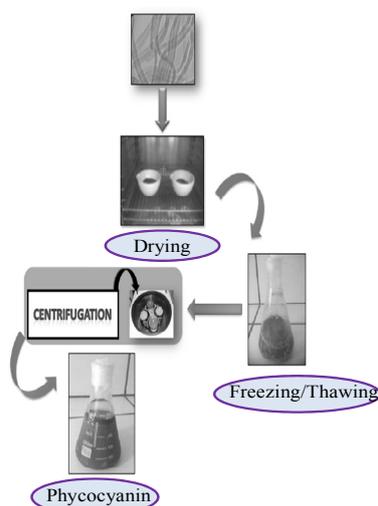


Рис. 1. Протокол екстракції С-РС з біомаси *Phormidium versicolor*, виділеного з сонячної солеварні Сфакс (Gammoudi та ін., 2019)

Аналіз цитотоксичності *in vitro*

Цитотоксичний ефект С-РС і хлористого кадмію CdCl₂ на клітини HepG2 визначали за допомогою аналізу відновлення 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифеніл тетразолію броміду (МТТ) (Carmichael et al., 1987). Клітини HepG2 (105 клітин/лунку) висівали в 96-лункові планшети. Через

24 год клітини піддавали впливу 25, 50, 75, 100 і 150 мкг · мл⁻¹ фракції С-РС і кадмію (25–60 мкМ), розведеного в середовищі МЕМ. Після 24 год інкубації абсорбцію (А) визначали при 570 нм. Проліферацію клітин вимірювали згідно з рівнянням:

$$\text{Життєздатність (\%)} = \frac{\text{середнє значення тесту (А)} - \text{середнє значення холостого зразка (А)}}{\text{середнє значення контролю (А)} - \text{середнє значення холостого зразка (А)}} \times 100$$

Цитопротекторні ефекти С-РС

Клітини НерG2 поміщали в лунки 96-лункових планшетів у концентрації 1×10^5 кл. · мл⁻¹ з використанням середовища МЕМ, що містить 10% FBS, інкубували протягом 24 год при 37 °С під 5%-вим СО₂ для досягнення конфлюентності. Клітинні культури були розділені на чотири групи, які обробляли наступним чином:

- група 1: контрольні клітини НерG2 обробляли 100 мкл культурального середовища протягом 24 год;
- група 2: клітини обробляли 100 мкл культурального середовища, що містить 25 мкг · мл⁻¹ С-РС;
- група 3: клітини обробляли 35 мкМ CdCl₂, розчиненого в культуральному середовищі;
- група 4: клітини попередньо обробляли 25 мкг С-РС на 1 мл⁻¹ протягом 24 год з подальшим впливом 35 мкМ кадмію.

Статистичний аналіз

Дані були виражені як середнє ± стандартне відхилення, а різницю між результатами оброблення оцінювали за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу ($p < 0,05$). Значну різницю між методами лікування було виявлено за допомогою ретроспективного багатодіапазонного тесту Дункана (DMRT). Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення SPSS (версія 20).

Результати та обговорення

Екстракція С-РС методом тверда речовина–рідина

Для екстракції С-РС з *Phormidium versicolor* використовували метод твердорідинної екстракції з використанням водних розчинників, з якого зазвичай починається виділення фікоціаніну з мікроводоростей (Silveira et al., 2007; Su et al., 2014). Концентрація С-РС, зареєстрована в *P. versicolor*, становить приблизно 0,784 мкг · мл⁻¹, що відповідає 43% загального білка. Наш результат подібний до отриманого з *Phormidium ceylanicum* (Singh et al., 2009). Одні автори (Abalde et al., 1998) повідомляли про низьку

концентрацію С-РС з *Synechococcus* sp. IO201 ($27 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$), інші (Silveira et al., 2007) — про найвищу ($3,68 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$) і коефіцієнт чистоти ($0,46$) С-РС зі *Spirulina platensis*. Крім того, дослідження показало, що коефіцієнт поглинання С-РС 620/280 становить $0,38$. Це значення свідчить про те, що С-РС *P. versicolor* можна вважати речовиною харчового класу. Чистота С-РС відіграє значну роль у комерційному застосуванні: чистота $0,7$ вважається харчовою чистотою, $3,9$ — реактивною, а вище $4,0$ — аналітичною (Rito-Palomares et al., 2001; Patil et al., 2006).

Профілактична дія С-РС проти Cd-індукованого пошкодження клітин HepG2

Органом-мішенню накопичення кадмію є тканини печінки. Гепатопротекторний ефект С-РС з *P. versicolor* був оцінений *in vitro* за використанням спричиненої Cd гепатотоксичності в клітинній лінії HepG2. Останнім часом гепатопротекторний потенціал екстрактів мікроводоростей *in vitro* має важливе значення для первинного скринінгу печінки (Rao et al., 2015; Guermazi et al., 2023). На рис. 2, а показана картина життєздатності лінії клітин HepG2, оброблених С-РС, екстрагованим з *P. versicolor*.

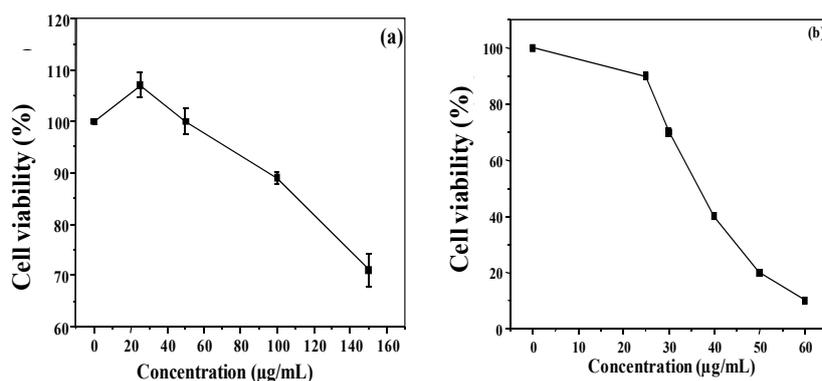


Рис. 2. Життєздатність клітин HepG2 печінки людини, оброблених С-фікоціаніном з *Phormidium versicolor* (a), і клітин HepG2 після впливу Cd (b)

Концентрація фікоціаніну $< 50 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ не зменшувала життєздатність клітин порівняно з контролем. Найвища концентрація С-РС ($150 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$) збільшувала життєздатність HepG2 до 71% (рис. 2, a). Автори (Ou et al., 2010) також підтвердили, що клітини HepG2, оброблені С-РС, виділеним із *Spirulina maxima* (від 31 до $250 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$), не показали жодних відмінностей у життєздатності порівняно з нормальними клітинами. Проте життєздатність клітин, оброблених Cd у різних концентраціях, значно

знижувалася (рис. 2, б). Наші результати узгоджувалися з результатами Shi et al. (2016), які повідомили, що вплив Cd викликає смертність клітин HepG2 при 25 мкМ. У цьому дослідженні життєздатність клітин HepG2, спільно оброблених С-РС, екстрагованих з *P. versicolor* (25 мкг · мл⁻¹) і Cd (35 мкМ), була значно підвищена ($p < 0,01$) порівняно з клітинами, обробленими виключно Cd (рис. 3, а).

Наші результати узгоджуються з даними Ou et al. (2010), які виявили, що ССІ₄ значно пригнічує ріст клітинної лінії L02 гепатоцитів людини та індукує апоптоз. Клітини HepG2, оброблені Cd, зазвичай асоціювалися зі збільшенням внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК) (Oh, Lim, 2006). Shi et al. (2016) показали, що продукування АФК відіграє важливу роль у цитотоксичності, спричиненій Cd, у клітинах HepG2. Крім того, важливий механізм гепатопротекторної дії може бути пов'язаний зі здатністю очищати АФК. Nakagawa et al. (2016) виявили, що С-РС є потужним поглиначем вільних радикалів, Li et al. (2009) повідомили, що оброблення С-РС блокувало активацію каспази-3. Нещодавно встановлено, що захисний ефект С-РС на бета-клітини підшлункової залози INS-1E був опосередкований пригніченням активації Jun-термінальних кіназ (JNK) і шляхів Р38. Крім того, морфологічна оцінка різних груп клітин також довела захисну дію С-РС проти токсичності кадмію (рис. 3, б).

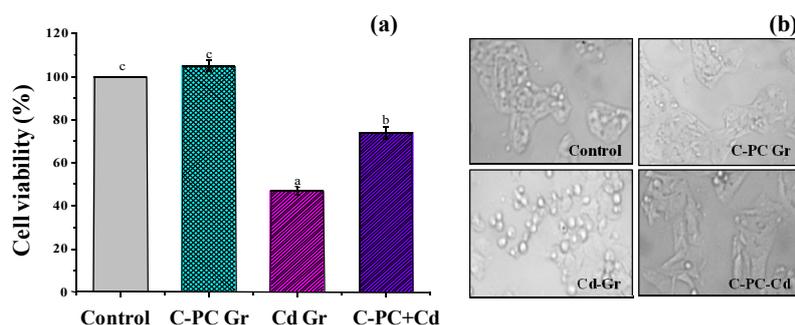


Рис. 3. Профілактична дія С-фікоціаніну проти пошкоджень, спричинених впливом Cd на клітини HepG2 (а). Морфологічна зміна клітин різних груп (б). Малі літери вказують на суттєву різницю між лікуванням ($p < 0,05$)

Заклучення

Наше дослідження показало, що хлорид кадмію чинить значний цитотоксичний ефект на клітини HepG2 і що фікоціанін С-РС, виділений з *Phormidium versicolor*, може бути використаний як новий потенційний препарат, оскільки захищає клітини печінки від токсичності, викликані

дією кадмію. Крім того, важливо ідентифікувати активні сполуки С-РС *P. versicolor*.

Автори вдячні доктору Ваджді Аяді, досліднику біотехнологічного центру Сфаксу (CBS), за сприяння запуску протоколу культивування клітин.

Список літератури

- Abalde J., Betancourt L., Torres E., Cid A., Barwell C. 1998. Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. *Plant Sci.* 136(1): 109(120). [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(98\)00113-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00113-7)
- Annabi-Trabelsi N., Guermazi W., Karam Q., Ali M., Uddin S., Leignel V., Ayadi H. 2021. Concentrations of trace metals in phytoplankton and zooplankton in the Gulf of Gabès, Tunisia. *Mar. Pollut. Bull.* 168: 112392. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112392>
- Bacchetti T., Morresi C., Bellachioma L., Ferretti G. 2020. Antioxidant and Pro-Oxidant Properties of Carthamus tinctorius, Hydroxy Safflor Yellow A, and Safflor Yellow A. *Antioxidants.* 9(2): 119. <https://doi.org/10.3390/antiox9020119>
- Belhaj D., Frikha D., Athmouni K., Jerbi B., Ahmed M.B., Bouallagui Z., Kallel M., Maalej S., Zhou J., Ayadi H. 2017. Box-Behnken design for extraction optimization of crude polysaccharides from Tunisian *Phormidium versicolor* cyanobacteria (NCC 466): Partial characterization, in vitro antioxidant and antimicrobial activities. *Int. J. Biol. Macromol.* 105(2): 1501–1510. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.046>
- Bermejo P., Piñero E., Villar Á.M. 2008. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chem.* 110(2): 436–445. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.021>
- Carmichael J., DeGraff W.G., Gazdar A.F., Minna J.D., Mitchell J.B. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Canc. Res.* 47(4): 936–942.
- Chen T., Wong Y.-S., Zheng W. 2006. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Phytochemistry.* 67(22): 2424–2430. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.004>
- Couteau C., Baudry S., Roussakis C., Coiffard L.J. 2004. Study of thermodegradation of phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Sci. Aliments.* 24(5): 415–422.
- Davoodi M.S., Amirali S.A., Nowruzi B., Golestan L. 2023. The Effect of Phycocyanin on the Microbial, Antioxidant, and Nutritional Properties of Iranian Cheese. *Int. J. Algae.* 25(2): 181–206. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v25.i2.60>
- Du B., Zhou J., Lu B., Zhang C., Li D., Zhou J., Jiao S., Zhao K., Zhang H. 2020. Environmental and human health risks from cadmium exposure near an active lead-zinc mine and a copper smelter, China. *Sci. Total Environ.* 720: 137585.

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137585>
- Fernández-Rojas B., Medina-Campos O.N., Hernández-Pando R., Negrette-Guzmán M., Huerta-Yepez S., Pedraza-Chaverri J. 2014. C-phycocyanin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity through inhibition of oxidative stress. *Food Function*. 5(3): 480–490.
- Gammoudi S., Annabi-Trabelsi N., Bidhi M., Diwani N., Rekik A., Khmekhem H., Ayadi H., Guermazi W., Elloumi J. 2022. The Solar Saltern of Sfax: Diversity of Hyperhalophilic Microalgae Species as a Promising Naturel Source of Biomolecules. *Progress in Microalgae Research – A Path for Shaping Sustainable Futures*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104712>
- Gammoudi S., Athmouni K., Nasri A., Diwani N., Grati I., Belhaj D., Bouaziz-Ketata H., Fki L., El Feki A., Ayadi H. 2019. Optimization, isolation, characterization and hepatoprotective effect of a novel pigment-protein complex (phycocyanin) producing microalga: *Phormidium versicolor* NCC-466 using response surface methodology. *Int. J. Biol. Macromol.* 137: 647–656. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.237>
- Grigoraş C.-G. 2012. *Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs*: Dr. Sci. (Chimie) Thesis. 247 p. Univ. d'Orléans; Univ. Vasile Alecsandri din Bacău (România).
- Grossman A.R., Schaefer M.R., Chiang G.G., Collier J.L. 1994. The Responses of Cyanobacteria to Environmental Conditions: Light and Nutrients. In: *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Dordrecht: Acad. Publ. Pp. 641–675.
- Guermazi W., Boukhris S., Annabi-Trabelsi N., Rebai T., Sellami-Kamoun A., Aldahmash W., Plavan G.I., Harrath A.H., Ayadi H. 2023. Hyperhalophilic Diatom Extract Protects against Lead-Induced Oxidative Stress in Rats and Human HepG2 and HEK293 Cells. *Pharmaceuticals*. 16(6): 875. <https://doi.org/10.3390/ph16060875>
- Ismail M.M., Noaman N.H. 2022. Biochemical Profile, Nutritional Value, and Biological Activities of *Arthrospira Platensis* Gomont. *Hydrobiol. J.* 58(6): 56–80.
- Kandylis P. 2021. Grapes and Their Derivatives in Functional Foods. *Foods*. 10(3): 672.
- Kim S.-K., Ravichandran Y.D., Khan S.B., Kim Y.T. 2008. Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms. *Biotech. Bioproc. Eng.* 13(5): 511–523.
- Kozel N.V., Manankina E.E., Viazau Y.V., Dremuk I.A., Savina S.M., Adamchuk K.O. 2016. Antioxidant System of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler under the LED Lighting of Different Spectral Compositions. *Int. J. Algae*. 18(2): 157–168. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v18.i2.50>
- Li X.-L., Xu G., Chen T., Wong Y.-S., Zhao H.-L., Fan R.-R., Gu X.-M., Tong P.C.Y., Chan J.C.N. 2009. Phycocyanin protects INS-1E pancreatic beta cells against human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis through attenuating oxidative stress and modulating JNK and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 41(7): 1526–1535. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.01.002>
- Mesbahzadeh B., Rajaei S.A., Tarahomi P., Seyedinia S.A., Rahmani M., Rezamohamadi F., Kakar M.A., Moradi-Kor N. 2018. Beneficial effects of *Spirogyra neglecta* extract on

- antioxidant and anti-inflammatory factors in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomol. Concepts*. 9(1): 184–189. <https://doi.org/10.1515/bmc-2018-0015>
- Morand C. 2014. Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardio-métabolique. *Méd. Malad. Métabol.* 8(5): 477–482.
- Nakagawa K., Ritcharoen W., Sri-Uam P., Pavasant P., Adachi S. 2016. Antioxidant properties of convective-air-dried *Spirulina maxima*: Evaluation of phycocyanin retention by a simple mathematical model of air-drying. *Food Bioprod. Proc.* 100: 292–302.
- Oh S., Lim S. 2006. A rapid and transient ROS generation by cadmium triggers apoptosis via caspase-dependent pathway in HepG2 cells and this is inhibited through N-acetylcysteine-mediated catalase upregulation. *Toxicol. Appl. Pharm.* 212(3): 212–223.
- Ou Y., Zheng S., Lin L., Jiang Q., Yang X. 2010. Protective effect of C-phycocyanin against carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in vitro and in vivo. *Chem.-Biol. Interact.* 185(2): 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.013>
- Patil G., Chethana S., Sridevi A.S., Raghavarao K.S.M.S. 2006. Method to obtain C-phycocyanin of high purity. *J. Chromatogr. A*. 1127(1–2): 76–81.
- Rao A.R., Saradab R., Shylaja M.D., Ravishankar G.A. 2015. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of astaxanthin and astaxanthin esters from microalga *Haematococcus pluvialis*. *J. Food Sci. Technol.* 52(10): 6703–6710.
- Reddy V.P., Aryal P., Robinson S., Rafiu R., Obrenovich M., Perry G. 2020. Polyphenols in Alzheimer's Disease and in the Gut-Brain Axis. *Microorganisms*. 8(2): 199. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020199>
- Rito-Palomares M., Nuñez L., Amador D. 2001. Practical application of aqueous two - phase systems for the development of a prototype process for C-phycocyanin recovery from *Spirulina maxima*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 76(12): 1273–1280.
- Romay C., Ledón N., González R. 1998. Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. *Inflam. Res.* 47(8): 334–338.
- Romay Ch., Gonzalez R., Ledon N., Remirez D., Rimbau V. 2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Curr. Protein Peptide Sci.* 4(3): 207–216. <https://doi.org/10.2174/1389203033487216>
- Shi C., Zhou X., Zhang J., Wang J., Xie H., Wu Z. 2016. α -Lipoic acid protects against the cytotoxicity and oxidative stress induced by cadmium in HepG2 cells through regeneration of glutathione by glutathione reductase via Nrf2/ARE signaling pathway. *Environ. Toxicol. Pharm.* 45: 274–281. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.06.003>
- Silveira S.T., Burkert J.F.M., Costa J.A.V., Burkert C.A.V., Kalil S.J. 2007. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Biores. Technol.* 98(8): 1629–1634. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.050>
- Singh N.K., Parmar A., Madamwar D. 2009. Optimization of medium components for increased production of C-phycocyanin from *Phormidium ceylanicum* and its purification by single step process. *Biores. Technol.* 100(4): 1663–1669.

- Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order *Chroococcales*). *Bacteriol. Rev.* 35(2): 171–205.
- Su C.-H., Liu C.-S., Yang P.-C., Syu K.-S., Chiu C.-C. 2014. Solid–liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. *Separ. Purif. Technol.* 123: 64–68.
- Suhani I., Sahab S., Srivastava V., Singh R.P. 2021. Impact of cadmium pollution on food safety and human health. *Curr. Opin. Toxicol.* 27: 1–7.
- Thomas J., Joseph D., Sureshkumar P. 2020. Stress Induced Production of High-Value Organic Compounds from Freshwater Microalgae. *Int. J. Algae.* 22(3): 287–299.
<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v22.i3.80>
- Tian L., Zhang S., Yi J., Zhu Z., Cui L., Andrew Decker E., Julian McClements D. 2022. Antioxidant and prooxidant activities of tea polyphenols in oil-in-water emulsions depend on the level used and the location of proteins. *Food Chem.* 375: 131672.
- Tkachenko F.P., Yakuba I.P. 2019. Fucoxanthine Content in Some Black Sea Brown Algae (*Ochrophyta, Phaeophyceae*). *Int. J. Algae.* 21(4): 365–372.
<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v21.i4.70>
- Vulić J.J., Čebović T.N., Čanadanović-Brunet J.M., Četković G.S., Čanadanović V.M., Djilas S.M., Tumbas Šaponjac V.T. 2014. In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *J. Funct. Foods.* 6: 168–175.

Gammoudi S. ¹(<https://orcid.org/0000-0002-8752-6616>)

Diwani N. ²(<https://orcid.org/0000-0002-0017-3046>)

Athmouni K. ¹(<https://orcid.org/0000-0002-5755-7112>)

Ayadi H. ¹(<https://orcid.org/0000-0002-5417-444X>),

Guermazi W. ¹(<https://orcid.org/0000-0003-4309-744X>)

¹Laboratory of Marine Biodiversity and Environment, LR 18ES/30, Dept of Life Sci., Fac. of Sci., Univ. of Sfax Tunisia,

Str. Soukra Km 3,5, B.P. 1171, 3000 Sfax, Tunisia

²Laboratory of Toxicology-Microbiology Environmental and Health, LR17ES06, Dept of Life Sci., Fac. of Sci., University of Sfax Tunisia,

Str. Soukra Km 3,5, B.P. 1171, 3000 Sfax, Tunisia

Protective effect of bioactive pigment isolated from new halophilic cyanobacteria strain against harmful metal induced toxicity in human cell

Hypersaline environments are colonized by an unexpected diversity of halophilic microorganisms that are widely adapted to survive and proliferate under extreme conditions of salinity, oxidative and UV stress. Among these microorganisms, cyanobacteria species are rich in natural

biomolecules such as phenolic compounds, carbohydrates, protein and pigments. Phycocyanin (C-PC), blue pigment, extracted from cyanobacteria has various therapeutic activities including antioxidant, anti-cancer and anti-inflammatory properties. We are interested to C-PC from cyanobacterium *Phormidium versicolor* (NCC466) which is isolated from solar saltern of Sfax. We assessed *in vitro*, herein, the beneficial effects of this metabolite, particularly, the hepatoprotective activities. In our investigation, 25 µg/mL of this pigment was assessed for hepatoprotective activity against 35 µg/mL of cadmium (Cd) induced toxicity in HepG2 cells by determining cell viability. This study shows that C-PC protects cells against the harmful effects of Cd by increasing cell viability reaching 90%. Moreover, morphological studies also supported the protective effect of C-PC. The phycocyanin from *P. versicolor* has a food grade which could be a valuable nutraceutical product for pharmacological purposes.

Key words: cyanobacteria, halotolerant, *Phormidium versicolor*, pigment, C-phycocyanin hepatoprotective, HepG2 cell, *in vitro*, human cell

Citation. Gammoudi S., Diwani N., Athmouni K., Ayadi H., Guermazi W. 2025. Protective effect of bioactive pigment isolated from new halophilic cyanobacteria strain against harmful metal induced toxicity in human cell. *Algologia*. 35(1): 3–14. <https://doi.org/10.15407/alg35.01.003>