Efekty oddziaływania ektoiny na zwierzęta i człowieka

ALEKSANDRA SZABELAK, MICHAŁ SCHULZ, ADAM BOWNIK

Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Otrzymano 18.06.2018

Zaakceptowano 13.08.2018

Szabelak A., Schulz M., Bownik A.

Effects of ectoine on animals and humans

Summary

Some species of soil bacteria and most organisms living in extreme environments such as salt lakes or coal or salt mines have effective protective mechanisms that enable them to function under adverse conditions. A common way to protect against harmful environmental factors is the production and accumulation of substances with an osmoprotective effect. One of such substances is ectoine, or 1,4,5,6-tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidine-carboxylic acid of an amphoteric nature. The effect of ectoin, mainly based on the binding of water molecules, has found wide application in the protection of macromolecules and cells. This work is a review of the use of this amino acid in human and veterinary medicine.

Keywords: ectoine, osmoprotectant, cryopreservation

Niektóre gatunki bakterii glebowych oraz większość organizmów żyjących w ekstremalnych środowiskach, takich jak słone jeziora czy kopalnie węgla lub soli posiadają skuteczne mechanizmy ochronne umożliwiające funkcjonowanie w niesprzyjających warunkach. Powszechnym sposobem ochrony przed szkodliwymi czynnikami środowiska jest wytwarzanie i kumulacja substancji o działaniu osmoprotekcyjnym, znanych w terminologii anglojęzycznej jako „compatiblesolutes”. Związki te należą do różnych grup chemicznych. Najprostsze osmolity to jony K^+ występujące powszechnie u wszystkich gatunków bakterii. Inne związki należą do cukrów (trehaloza, sacharoza), polioli (glicerol, sorbitol, mannitol, α -glukozylo-glicerol) oraz aminokwasów (glutamina, glutaminiany, betaina, glicyna, prolina, alanina, tauryna, hydroksyektoina oraz ektoina) (19).

Ektoina – kwas 1,4,5,6-tetrahydro-2-metylo-4-pyrimidyno karboksylowy jest cyklicznym aminokwasem syntetyzowanym analogicznie do L-lizyny czy L-metioniny. Ektoina ze względu na właściwości kompensujące pozwala bakteriom przeżyć w niesprzyjających warunkach (34). Jako cząsteczka amfoteryczna o charakterze obojętnym wykazuje silne powinowactwo do wody. Dotychczasowe badania biofizyczne wykazują, że ektoina silniej wiąże cząsteczki wody niż inne osmoprotektanty, takie jak glicerol. Ponadto, jest dobrze tolerowana przez różne kultury komórkowe oraz organizm kręgowców (34).

Ektoina jest produkowana przez ekstremofilne bakterie, takie jak np. (*Halobacterium halobium*, *Halomonas elongata*, *H. halmophila*, *H. variabilis*, *H. boliviensis*, *Bacillus alcalophilus*, *B. agaradhaerens*) (3) umożliwiając im przetrwanie w warunkach ograniczonego dostępu wody i zapewniając ochronę przed wysoką temperaturą, suszą czy promieniowaniem UV. Podczas wysokiego zasolenia podłoża stężenie ektoiny może wynosić około 250 mM (0,2 g/ml materiału komórkowego), co stanowi około 10% wszystkich osmoprotektantów (32).

Pierwszy etap syntezy ektoiny obejmuje fosforylację kwasu L-asparaginowego oraz następnie konwersję kwasu L-asparaginowego do L-asparaginiano-fosforanu przez kinazę asparaginianową (enzym Ask). Następnie odbywa się synteza L-asparaginiano- β -semialdehydu z L-asparaginiano-fosforanu, katalizowana przez dehydrogenazę L-asparaginiano- β -semialdehydu (enzym Asd). W dalszym etapie L-asparaginiano- β -semialdehyd jest przekształcany przez aminotransferazę kwasu diaminomasłowego (enzym EctB) do kwasu L-2,4-diaminomasłowego (DABA, diaminobutyric acid, kwas diaminomasłowy). Kolejny etap to transformacja powstałego wcześniej kwasu DABA przez acetylotransferazę kwasu diaminobutyłowego (enzym EktA) do kwasu $N\gamma$ -acetylodiaminobutyłowego (23, 24). Enzym biorący udział w produkcji ektoiny to syntetaza ektoiny (EctC). Przekształca ona kwas $N\gamma$ -acetylodiaminobutyłowy, do ostatecznej formy kwasu

1,4,5,6-tetrahydro-2-metylo-4-pyrimidyno karboksylowego (23, 24). Proces hamowania wytwarzania ektoiny następuje w przypadku zaniku czynnika stresogennego (23, 24). Zdarza się także, że w komórkach ekstremofilów wytwarzany jest dodatkowy enzym, hydrolaza ektoiny (EktD), którego działanie doprowadza do transformacji ektoiny w hydroksyektoinę. Gen, który koduje enzym EktD zidentyfikowano u 67 gatunków mikroorganizmów między innymi w *Streptomyces coelicolor* oraz *Marinococcus* (23, 24).

Ektoina i hydroksyektoina wykazują podobieństwo pod względem budowy chemicznej. Różnice natomiast dotyczą stopnia oddziaływania tych cząsteczek na makromolekuły komórek. Na przykład interakcja ektoiny z kwasem deoksyrybonukleinowym powoduje obniżenie jego temperatury topnienia. Narażenie ekstremofilów na wysokie temperatury wywołuje syntezę hydroksyektoiny (25).

Ochrona makrocząsteczek

Stabilizacja cząsteczek biologicznych w obecności ektoiny została opisana jako teoria tzw. preferencyjnego wykluczania (preferential exclusion) (7, 19). Teoria ta wyjaśnia wpływ osmolinów na wodę będącą rozpuszczalnikiem. Zdolność osmolitu do wiązania wody powoduje tzw. oddalenie jego cząsteczek od powierzchni rozpuszczonej w niej makromolekuły, np. białka, wywołując preferencyjne uwodnienie makrocząsteczki, a tym samym zwiększenie jej stabilności (20). Innym mechanizmem osmoprotekcyjnym jest wzrost napięcia powierzchniowego wody w obecności cząsteczki ochronnej. Skutkiem tego jest wykluczenie ektoiny z miejsca styku makrocząsteczka–woda, zgodnie z izotermą adsorpcji Gibbsa (7, 19).

Osmolit może doprowadzić do preferencyjnego uwodnienia w wyniku wzmożonych interakcji hydrofobowych wywołanych przez cząsteczkę substancji rozpuszczonej. Wysokie stężenie soli w roztworze wodnym prowadzi do zaburzenia struktury wody ciekłej, skutkiem czego cząsteczki wody są unieruchomione i niedostępne dla makrocząsteczek. Obecność związków o charakterze kompensującym wzmacnia strukturę cząsteczek wody, wpływa na spowolnienie dyfuzji cząsteczek wody wokół białka i stabilizuje inhibitor 2-chymotrypsyny (15). Badania Lentzena (15) porównujące ektoinę z glicerolem w obecności wody wykazały, że cząsteczki wody wokół cząsteczek ektoiny pozostają stabilne przez długi czas, podczas gdy mieszaniny wody i glicerolu ulegają rozpadowi, a cząsteczki wody dyfundują ze sfer.

Ektoina i jej pochodna hydroksyektoina działają ochronnie na enzymy, takie jak dehydrogenaza mlekowa i fosfofruktokinaza (16). Zbadane zostały również inne osmoprotektanty, takie jak betaina glicyna i disacharydy (sacharoza, trehaloza, maltoza). Wszystkie substancje rozpuszczone poddane badaniu wykazały zdolności do stabilizacji makrocząstek. Jednak stopień ochrony zależał od rodzaju substancji rozpuszczonej.

Najlepszymi związkami o działaniu ochronnym wytwarzanymi przez halofilowe eubakterie są trehaloza, ektoina i hydroksyektoina (16).

Obecność ektoiny i jej hydroksylowej pochodnej stabilizuje termicznie polimerazy DNA w wysokich temperaturach oraz obniża temperaturę topnienia kwasu deoksyrybonukleinowego, co może mieć zastosowanie w regulacji reakcji łańcuchowej polimerazy. Substancje kompensujące mają także wpływ na stabilizację DNA. Hydrolazaektoiny i ektoina chronią DNA bakterii przed interakcją z antybiotykiem z grupy cytostatyków, takim jak daktynomycyna, który hamuje syntezę DNA, RNA i białek (15). Ektoina i jej pochodne zabezpieczają kwasy nukleinowe przed uszkodzeniem poprzez hamowanie wpływu reaktywnych form tlenu oraz przeciwdziałają uszkodzeniom, wywołanym przez promieniowanie ultrafioletowe (15). Ektoina powoduje zwiększenie stałej dielektrycznej roztworu przez co zmniejsza oddziaływania jonowe i wpływa na stabilność helisy DNA. Marc Benjamin Hahn i wsp. (8) naświetlając DNA elektronami w środowisku wodnym w obecności ektoiny i wysokiego stężenia soli, stwierdzili, iż w obecności aminokwasu nastąpił wzrost niskoenergetycznego rozpraszania elektronów przy zwiększonej gęstości wody. Odkryto, że im większe jest stężenie ektoiny, tym większy występuje stopień ochrony DNA przed uszkodzeniem popromiennym (8).

Działanie ochronne na komórki

Dla mikroorganizmów powszechnym czynnikiem stresogennym są najczęściej fluktuacje osmolalności środowiska. Hiperosmotyczne warunki doprowadzają do odwodnienia cytoplazmy, a co za tym idzie – do spadku turgoru w komórkach. Stąd wiele gatunków mikroorganizmów w celu ochrony przed tymi czynnikami syntetyzuje i gromadzi substancje o działaniu osmoprotekcyjnym. Nagromadzenie osmolitów ma istotny wpływ na stan hydratacji cytoplazmy, czyli na objętość i turgor komórek, co przyczynia się do poprawy zdolności komórek do pełnienia swoich funkcji w trudnych warunkach (22). Wykazano, że bakterie *Vibrio anguillarum*, wywołujące wibriozę w hodowli ryb morskich mogą namnażać się w bardzo niskich temperaturach dzięki ektoinie. Badania prowadzone przez Ma i wsp. (17) potwierdziły, że *V. anguillarum* jest w stanie zsyntetyzować ektoinę *de novo*, co zwiększa zdolności do adaptacji tych mikroorganizmów do środowisk o częstych wahaniach temperatury. Ektoina jest uznana za jedną z kompatybilnych substancji rozpuszczalnych chroniących komórki przed stresem termicznym u *V. anguillarum* (17).

W trakcie reakcji syntezy ektoiny powstaje także produkt uboczny 5-amino-3,4-dihydro-2H-pirol-2-karboksylan (ADPC). Związek ten jest pierwszym osmolitem utworzonym przez człowieka za pomocą inżynierii genetycznej (33). Wykazano, że pochodne ektoiny, w szczególności 4,5-dihydro-2-metyloimidazolo-4-karboksylan (DHMICA) i homoeektoina, są cięte

przez syntezę ektoinową (33). W przypadku bakterii z niedoborem syntezy ektoiny takich jak np. *Halomonas elongata* wykazano, że obecność ADPC wspomaga wzrost bakterii w warunkach stresu spowodowanego dużym zasoleniem i stabilizuje enzymy narażone na denaturację, zamarzanie i rozmrażanie.

Wiele wyników dotyczy ochronnego oddziaływania ektoiny na komórki bakterii oraz komórki izolowane od ssaków. Wykazano, że organiczne osmolity halofilnych mikroorganizmów oraz organizmów z grupy *Archaea* mają pozytywny wpływ na konformację i aktywność białek usprawniając ich funkcjonowanie (14, 29).

Obecność ektoiny zwiększa stabilizację struktury przestrzennej, zmniejsza ich agregację oraz zapewnia ochronę przed wolnymi rodnikami (29). Ustalono także kompletną sekwencję genomu *H. elongata* DSM 2581T. Dostępność informacji o genomie otwiera drogę dla technologii postgenomowych, takich jak macierz DNA i proteomika, co może usprawnić badania nad procesami osmoregulacji tych bakterii i umożliwi regulowanie ich metabolizmu w celu wytwarzania większych ilości ektoiny (27).

Ektoina może być zastosowana jako czynnik łagodzący oddziaływanie toksyn bakteryjnych. Badania prowadzone na erytrocytach bydłęcych wykazały, że ektoina może być wykorzystywana do ochrony krwinek czerwonych przed hemolizą wywołaną porotwórczą gronkowcą alfa-hemolizyną (2, 7). Dodatkowo wskazano, że monomery toksyn preinkubowane z ektoiną są mniej toksyczne, niż te dodawane bez osmoprotektantu.

Ektoina wykazuje także działanie ochronne na bezkręgowce wodne. Stwierdzono, że osmoprotektant ten chroniąc organizmy przed wysoką temperaturą jednocześnie hamuje indukcję aktywności białek szoku cieplnego Hsp70 oraz aktywność katalazy i reaktywnych form azotu u rozwielitek (*Daphnia magna*). Bownik i wsp. (3, 4) wykazali, że skorupiaki te poddane działaniu ektoiny są bardziej odporne na toksyczne związki dezynfekujące, formaldehyd oraz nadtlenek wodoru, niż grupy kontrolne nie zawierające tego związku. Wykazano obniżenie wskaźnika śmiertelności, łagodzenie hamowania parametrów fizjologicznych serca i odnóży brzusznych (3, 4). Badania te sugerują, iż ektoina może być stosowana jako środek łagodzący stres podczas transportu jadalnych bezkręgowców, które wykazują wrażliwość na różne formy stresu.

Wyniki badań na ektoiną sugerują również, iż osmoprotektant ten łagodzi stan zapalny u zwierząt kręgowych. Naukowcy badając wpływ ektoiny na zapalenie płuc u szczurów wykazali, że zastosowanie ektoiny zapobiega apoptozie i skraca czas infiltracji płuc przez te neutrofile. Osmoprotektant ten chroni również przed nanocząstkami węgla (CNP), wywołującymi zapalenie płuc, przyspiesza regenerację nabłonka komórkowego płuc i reguluje funkcjonowanie neutrofili (31).

Sydlik i wsp. (31) wykazali działanie prewencyjne ektoiny na indukcję sygnalizacji antyapoptotycznej

w neutrofilach pacjentów z przewlekłym zapaleniem płuc. Zapalenie płuc wywołane przez pojedyncze lub wielokrotne ekspozycje na zanieczyszczone środowisko zostało zmniejszone po interwencji terapeutycznej z ektoiną (31).

Stwierdzono także, że ektoina łagodzi stany zapalne okrężnicy u szczurów, chroni błonę śluzową jelita krętego przed urazami niedokrwienno-reperfuzyjnymi występującymi często jako powikłania po transplantacji jelita cienkiego. Osmoprotektant poprawia barierę jelitową i redukuje cytokiny odpowiedzialne za stany chorobowe (31).

Ektoina wykazuje działanie ochronne na ośrodkowy układ nerwowy i jądra myszy poddane działaniu promieniowania poprzez hamowanie indukcji mediatorów zapalnych i stresu oksydacyjnego (22). Zaobserwowano, że w wyniku stresu oksydacyjnego interleukiny IL-1 β , IL-6, IL-10, PGE2 i MDA są znacząco podwyższone w OUN i jądrach napromieniowanych zwierząt. W grupach wystawionych na obecność ektoiny stwierdzono istotny spadek stężenia interleukin. Podanie ektoiny znacząco złagodziło biochemiczne efekty wywołane przez napromienianie całego ciała. Dodatkowo badanie wykazało, że wielokrotne podawanie ektoiny potęgowało jej ochronne działanie (22).

Obecnie ektoina znalazła zastosowanie jako substancja chroniąca komórki oraz jako stabilizator struktury białek i komórek u ludzi (15). Jako naturalny produkt stosowana jest w leczeniu alergii. Jej zastosowanie wpływa na zmniejszenie zapalenia błon śluzowych nosa i spojówek oraz na łagodzeniu objawów alergicznych w obrębie tych narządów. Ponadto chroni śluzówki przed alergenami oraz łagodzi objawy zespołu suchego oka poprzez stabilizację struktury lipidowej warstwy płynu łzowego.

Badania prowadzone przez Dwivedi (6) wykazały, że ektoina powodując fluidyzację poprzez zwiększenie odległości międzycząsteczkowej w filmie łzowym oka oraz wykluczając niepolarne składniki z filmu lipidowego może być użyteczna w leczeniu zespołu suchego oka. Leki zawierające ektoinę zapewniają długotrwałe nawilżenie oraz regenerują suchą i podrażnioną błonę śluzową nosa oraz spojówki oka. W porównaniu z innymi substancjami farmaceutycznymi, ektoina jest wolna od konserwantów oraz może być podawana codziennie bez zmniejszenia skuteczności (10).

Müller i wsp. (18) wykazali, że ektoina jest pomocna w leczeniu ostrego zapalenia gardła i krtani. Leczenie roztworem zawierającym ektoinę spowodowało znacznie większe zmniejszenie obrzęku szyjnych węzłów chłonnych. Pastyłki okazały się skuteczniejsze w łagodzeniu kaszlu (18). Leczenie ostрых objawów zapalenia krtani i/lub gardła za pomocą sprayu na bazie ektoiny wykazało lepszą skuteczność w porównaniu z samą solą fizjologiczną. Ponadto spray na bazie ektoiny ma pozytywny profil bezpieczeństwa i dlatego może być uważany za realną alternatywę w leczeniu ostрых objawów zapalenia krtani i gardła (18). Wyraźnie pozytyw-

ny wpływ aerozolu może podkreślać jego przydatność jako terapeutycznej alternatywy dla antybiotyków.

Ektoina oraz jej pochodna, 5-hydroksyektoina znalazły zastosowanie w chemioterapii. Sheikhpour i wsp. (28) badając wpływ powyższych substancji na komórki raka płuc, stwierdzili, że zarówno ektoina jak i jej pochodna hamują proliferację komórek nowotworowych w zależności od dawki substancji. Wraz ze wzrostem stężenia osmoprotektantu wzrasta jego działanie cytotoksyczne. Badanie wykazało również, że pochodna ektoiny wywierała większy wpływ na komórki nowotworowe niż ektoina. Kompatybilne substancje rozpuszczone są naturalnymi związkami, w związku z tym można je wykorzystać do leczenia nowotworów płuc (28).

Istotne jest wykorzystanie ektoiny jako środka ochronnego przy radioterapii (11). Uszkodzenia oksydacyjne komórek wywołane promieniowaniem powodują w konsekwencji zaburzenia ważnych funkcji komórkowych takich jak na przykład proliferacja, czy procesy naprawcze komórek. Promieniowanie jonizujące wykazuje szkodliwy wpływ na materiał genetyczny wywołując mutacje, a w konsekwencji śmierć komórek. Ponadto, ekspozycja na substancje promieniotwórcze jest przyczyną reaktywacji powstawania rodników ponadtlenkowych, rodników hydroksylowych, nadtlenu wodoru i tlenu singletowego w środowisku komórkowym. W takim przypadku zostaje zakłócony stan równowagi pomiędzy działaniem reaktywnych form tlenu, a biologiczną zdolnością do szybkiej detoksykacji reaktywnych produktów pośrednich lub naprawy wyrządzonych uszkodzeń i prowadzi do stresu oksydacyjnego. Wykazano, że hydroksyektoina posiada zdolność do wychwytywania wolnych rodników w sposób zależny od stężenia i została określona jako skuteczny przeciwutleniacz, który może być stosowany jako czynnik ochrony radiologicznej.

Wykazano, że ektoina wpływa na funkcjonowanie makrocząstek układu immunologicznego. Interferony wykazujące wobec niektórych komórek działanie antyproliferacyjne, wpływają na różnicowanie się komórek i działają stymulująco na układ immunologiczny. Salmannejad F. i wsp. (26) wykazali, że ektoina i hydroksyektoina hamują indukowaną termicznie agregację i zwiększają termostabilność rekombinowanego ludzkiego interferonu Alfa2b. W badaniach porównawczych wykazano, że hydroksyektoina posiada lepsze właściwości stabilizujące białka niż ektoina. Wyniki badań sugerują, że ektoina i hydroksyektoina są wysoce skutecznymi związkami, które mogą znacząco zmniejszyć indukowaną termicznie agregację rhIFN α 2b w niskim stężeniu (26).

Agregacja β -amyloidu (A β) jest cechą charakterystyczną chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera (AD) lub Parkinsona (1, 12). Peptyd występujący w postaci monomeru nie jest toksyczny, lecz jego zagregowana forma jest głównym czynnikiem wywołującym chorobę Alzheimera. Wykazano,

iż drobnoustroje w stresujących warunkach gromadzą małowcząsteczkowe białka opiekuńcze (SMC), aby zapobiec nieprawidłowemu fałdowaniu/denaturacji białek i utrzymać ich stabilność. W związku z tym SMC, takie jak ektoina i hydroksyektoina, mogą być potencjalnymi inhibitorami przeciwko agregacji peptydów A β Alzheimera (12). Badania Kanapathipillai i wsp. (13) pokazują skuteczność ektoiny i hydroksyektoiny w hamowaniu agregacji A β 42 i toksyczności dla ludzkich komórek nerwiaka. Uważa się, że częściowe uwodnienie nierozłożonych białek amyloidogennych przez ektoinę i hydroksyektoinę może hamować tworzenie włókienek amyloidu. Dodatkowo działanie SMC może być wzmocnione oddziaływaniem hydrofobowym między substancjami rozpuszczonymi i białkiem, które może przerwać tworzenie wiązania wodorowego pomiędzy częściowo rozłożonymi monomerami. Biorąc pod uwagę, że ektoina i hydroksyektoina nie są toksyczne dla środowiska komórkowego mogą być stosowane nawet w stężeniach sięgających 100 mM (13).

Wykorzystanie ektoiny w krioprezerwacji

Przechowywanie komórek w ujemnej temperaturze sięgającej zazwyczaj około -196°C wywołuje znaczne zmniejszenie aktywności biologicznej komórek, co pozwala na ich przechowywanie. Mieszaniny stosowane do krioprezerwacji chronią komórki przed uszkodzeniem i śmiercią, a także zmniejszają stres wywołany odmrożeniem. Dimetylosulfotlenek (DMSO) jest jednym z powszechnie stosowanych środków krioprotekcyjnych. Badania prowadzone przez Hofmann i wsp. (9) wykazały, że związek ten jest toksyczny w wysokich stężeniach i ma szkodliwy wpływ na funkcje komórkowe. Dlatego też bardzo ważne jest opracowanie nowej strategii krioochrony, która może zastąpić obecne stosowanie DMSO lub przynajmniej stosować go w zmniejszonej koncentracji. Badania prowadzone na ludzkim śródbłonku naczyń płucnych (HPMEC-ST1.6R) wykazały, że dodanie osmoprotektantów do DMSO zwiększa wydajność rekultywacji komórek o około 70%, poprawia ich żywotność po rozmrożeniu poprzez hamowanie białek szoku cieplnego. Wyniki wykazały, że L-prolina i ektoina mogą być stosowane w procesie krioprezerwacji komórek, zapewniając ich lepszą ochronę (30). Ektoina została wykorzystana także w kriokonserwacji komórek Jurkat oraz mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), zwiększając żywotność zamrożonych komórek w porównaniu do prób zawierających tylko DMSO (21). Budanur i wsp. (5) wykazał, że ektoina jest aminokwasem, który może pozytywnie wpłynąć na zachowanie równowagi osmotycznej i ma większą aktywność konserwującą niż inne osmoregulatory. Osmoprotektant ten dodany do pożywki CDMEM, promuje przeżycie mezenchymalnych komórek macierzystych ludzkiego przyzębia (hPDLMSC) oraz różnicowanie osteogeniczne i fibroblastyczne hPDLMSC (5).

Zastosowanie ektoiny w kosmetologii

Ektoina ze względu na swoje właściwości znalazła szerokie zastosowanie w dermatologii. Obecność ektoiny w kosmetykach przeznaczonych do pielęgnacji skóry wpływa na większy stopień jej nawilżenia utrzymując się nawet kilkadziesiąt godzin. Badania wykazują, że skóra osób korzystających z kremów zawierających ektoinę jest znacznie mniej narażona na utratę wody. Osmoprotektant ten wzmacnia barierę skórną i zapobiega redukcji liczby komórek Langerhansa w naskórku (7). Ektoina chroni także przed szkodliwym oddziaływaniem promieni UV, przez co zmniejsza ryzyko oparzeń. Kosmetyki zawierające ektoinę są szczególnie przydatne w przypadku leczenia atopowego zapalenia skóry. Można ją stosować na całe ciało łącznie z twarzą, okolicami oczu i narządów płciowych. Ze względu na swoją wyjątkową aktywność wiązania wody, ektoina może być szczególnie przydatna w zapobieganiu starzenia się skóry (7).

W niniejszym opracowaniu przedstawiono tylko część problematyki zastosowania ektoiny. Podano tylko niektóre przykłady badań, dowodzących potencjalnych możliwości protekcyjnych tego aminokwasu jakie mogą być wykorzystane w większej skali w przyszłości. Ze względu na silne właściwości ochronne przeciwko różnym formom stresu ektoina znalazła zastosowanie w różnych dziedzinach biotechnologii, medycynie oraz kosmetologii. Prowadzone są w dalszym ciągu badania oceniające wpływ ektoiny na pojedyncze molekuły i kultury komórkowe oraz na różne gatunki zwierząt. Ze względu na naturalne pochodzenie ektoiny, związek ten może być stosowany długotrwale, co zachęca do wykorzystania w wielu innowacyjnych dziedzinach.

Piśmiennictwo

- Bazazzadegan N., Shasaltaneh M. D., Saliminejad K., Kamali K., Banan M., Nazari R., Khorshid H. R. K.: Effects of Ectoine on Behavior and Candidate Genes Expression in ICV-STZ Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Adv. Pharm. Bull.* 2017, 7, 629.
- Bownik A.: Daphnia swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review. *Sci. Total Environ.* 2017, 601, 194-205.
- Bownik A., Stepniowska Z.: Obećavajuća zaštita svojstva ektoina u ljudi i životinja. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2016, 67, 260-264.
- Bownik A., Stepniowska Z., Skowroński T.: Effects of ectoine on behavioural, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna*. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2015, 168, 2-10.
- Budanur D. T., Zibandeh N., Genç D., Gökalp M., Kaşali K., Akkoç T., Sepet E.: Effect of CDMEM media containing Ectoine on human periodontal ligament mesenchymal stem cell survival and differentiation. *Dent. Traumatol.* 2018.
- Dwivedi M., Brinkkötter M., Harishchandra R. K., Galla H. J.: Biophysical investigations of the structure and function of the tear fluid lipid layers and the effect of ectoine. Part B: artificial lipid films. *Bba Biomemb.* 2014, 1838, 2716-2727.
- Graf R., Anzali S., Buenger J., Pfluecker F., Driller H.: The multifunctional role of ectoine as a natural cell protectant. *Clin. Dermatol.* 2008, 26, 326-333.
- Hahn M. B., Meyer S., Schröter M. A., Kunte H. J., Solomun T., Sturm H.: DNA protection by ectoine from ionizing radiation: molecular mechanisms. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017, 19, 25717-25722.
- Hofmann N., Sun H., Chatterjee A., Saha D., Glasmacher B.: Thermal pretreatment improves viability of cryopreserved human endothelial cells. *Biopreserv. Biobank.* 2015, 13, 348-355.
- Hoymann H. G., Bilstein A., Bernal F., Stoehr T., Lentzen G.: Therapeutic effect of ectoine in an experimental model of allergic asthma. XXVIII EAACI Congress, Warsaw 2009.
- Jamwal V. S., Mishra S., Kumar Reddy D. S., Bansal D. D., Javed S., Singh A., Kumar Gautam H., Arora R.: Evaluation of antioxidant and radioprotective properties of hydroxyectoine. *Trakia J. Sci.* 2013, 10, 25-33.
- Jorge C. D., Borges N., Bagyan I., Bilstein A., Santos H.: Potential applications of stress solutes from extremophiles in protein folding diseases and healthcare. *Extremophiles* 2016, 20, 251-259.
- Kanapathipillai M., Lentzen G., Sierks M., Park C. B.: Ectoine and hydroxyectoine inhibit aggregation and neurotoxicity of Alzheimer's β -amyloid. *FEBS letters* 2005, 579, 4775-4780.
- Kunte H. J., Lentzen G., Galinski E. A.: Industrial production of the cell protectant ectoine: Protection mechanisms, processes, and products. *Curr. Biotechnol.* 2014, 3, 10-25.
- Lentzen G., Schwarz T.: Extremolytes: natural compounds from extremophiles for versatile applications. *App. Microbiol. Biot.* 2006, 72, 623-634.
- Lippert K., Galinski E. A.: Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1992, 37, 61-65.
- Ma Y., Wang Q., Xu W., Liu X., Gao X., Zhang Y.: Stationary phase-dependent accumulation of ectoine is an efficient adaptation strategy in *Vibrio anguillarum* against cold stress. *Microbiol. Res.* 2017, 205, 8-18.
- Müller D., Lindemann T., Shah-Hosseini K., Scherner O., Knop M., Bilstein A., Mösges R.: Efficacy and tolerability of an ectoine mouth and throat spray compared with those of saline lozenges in the treatment of acute pharyngitis and/or laryngitis: a prospective, controlled, observational clinical trial. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2016, 273, 2591-2597.
- Pastor J. M., Bernal V., Salvador M., Argandoña M., Vargas C., Csonka L., Cánovas M.: Role of central metabolism in the osmoadaptation of the halophilic bacterium *Chromohalobacter salinarum*. *J. Biol. Chem.* 2013, 288, 17769-17781.
- Patel T. R., Winzor D. J., Scott D. J.: Allowance for radial dilution in evaluating the concentration dependence of sedimentation coefficients for globular proteins. *Eur. Biophys. J.* 2018, 47, 291-295.
- Pollock K., Budenske J. W., McKenna D. H., Dosa P. I., Hubel A.: Algorithm-driven optimization of cryopreservation protocols for transfusion model cell types including Jurkat cells and mesenchymal stem cells. *J. Tiss. Eng. Regen. M.* 2017, 11, 2806-2815.
- Refaat R., Sarhan D., Kotb M., El-Abd E., El-Bassiouni E.: Post-irradiation protective effects of ectoine on brain and testicles in male mice. *Pharmacol. Rep.* 2017.
- Reshetnikov A. S., Khmelenina V. N., Trotsenko Y. A.: Characterization of the ectoine biosynthesis genes of haloalkalotolerant obligate methanotroph "Methylobacterium alcaliphilum 20Z". *Arch. Microbiol.* 2006, 184, 286-297.
- Reshetnikov A. S., Khmelenina V. N., Mustakhimov I. I., Kalyuzhnaya M., Lidstrom M., Trotsenko Y. A.: Diversity and phylogeny of the ectoine biosynthesis genes in aerobic, moderately halophilic methylotrophic bacteria. *Extremophiles* 2011, 15, 653.
- Reuter S., Gupta S. C., Chaturvedi M. M., Aggarwal B. B.: Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biol. Med.* 2010, 49, 1603-1616.
- Salmannejad F., Nafissi-Varcheh N.: Ectoine and hydroxyectoine inhibit thermal-induced aggregation and increase thermostability of recombinant human interferon Alfa2b. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2017, 97, 200-207.
- Schwibbert K., Marin-Sanguino A., Bagyan I., Heidrich G., Lentzen G., Seitz H., Oesterheld D.: A blueprint of ectoine metabolism from the genome of the industrial producer *Halomonas elongata* DSM 2581T. *Environ. Microbiol.* 2011, 13, 1973-1994.
- Sheikhpour M., Hatamian A., Yazdian F., Sadeghi A., Azizi M.: OTAntiproliferative effects OTST of ST Ectoine and Hydroxyectoine 5 Ton human OT5Tlung cancer cells. I. Ch.E. C. Kish, Iran 2014, 2, 24-27.
- Stiller L. M., Galinski E. A., Witt E. M.: Engineering the Salt-Inducible Ectoine Promoter Region of *Halomonas elongata* for Protein Expression in a Unique Stabilizing Environment. *Genes* 2018, 9, 184.
- Sun H., Glasmacher B., Hofmann N.: Compatible solutes improve cryopreservation of human endothelial cells. *Cryoletters* 2012, 33, 485-493.
- Sydlik U., Peuschel H., Paunel-Görgülü A., Keymel S., Krämer U., Weissenberg A., Bilstein A.: Recovery of neutrophil apoptosis by ectoine: a new strategy against lung inflammation. *Eur. Respir. J.* 2013, 41, 433-442.
- Widderich N., Kobus S., Höppner A., Riclea R., Seubert A., Dickschat J. S., Bremer E.: Biochemistry and crystal structure of ectoine synthase: a metal-containing member of the cupin superfamily. *PLoS one* 2016, 11, e0151285.
- Witt E. M., Davies N. W., Galinski E. A.: Unexpected property of ectoine synthase and its application for synthesis of the engineered compatible solute ADPC. *App. Microbiol. Biot.* 2011, 91, 113.
- Zaccari G., Bagyan I., Combet J., Cuello G. J., Demé B., Fichou Y., Gallat F.-X., Josa V. M. G., von Gronau S., Haertlein M., Martel A., Moulin M., Neumann M., Weik M., Oesterheld D.: Neutrons describe ectoine effects on water H-bonding and hydration around a soluble protein and a cell membrane. *Sci. Rep.* 2016, 6, 31343.

Adres autora: mgr Aleksandra Szabelak, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin; e-mail: szabelak.aleksandra@gmail.com