

UDZIAŁ EKTOINY W TWORZENIU OCHRONNYCH STRUKTUR WODNYCH WOKÓŁ BIOMOLEKUŁ

THE ROLE OF ECTOINE IN FORMATION OF PROTECTIVE WATER STRUCTURES AROUND THE BIOMOLECULES

Zofia Dzierżewicz¹, Radosław Balwierz^{1*}, Beata Sarecka-Hujar²,
Agata Jasińska-Balwierz³, Barbara Dolińska²

¹ Śląska Wyższa Szkoła Medyczna w Katowicach, Wydział Ochrony Zdrowia,
40-085 Katowice, ul. Mickiewicza 29

² Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku,
41-200 Sosnowiec, ul. Kasztanowa 3

³ SPZOZ Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie, Oddział Chorób Wewnętrznych,
41-500 Chorzów, ul. Strzelców Bytomskich 11

*e-mail: radoslaw.balwierz@gmail.com

STRESZCZENIE

Ektoina jest iminokwasem wyizolowanym z ekstremofilnych, halofilnych, fototroficznych bakterii purpurowych. Ektoina wykazuje działanie ochronne w stosunku do różnych biomolekuł, może gromadzić się w komórkach w wysokich stężeniach i zabezpieczać je przed stresem środowiskowym np. temperaturowym lub osmotycznym. W warunkach fizjologicznych ektoina występuje w postaci jonu obojnaczego, wykazuje znaczne powinowactwo do cząsteczek wody. Zdolność ektoiny do wiązania cząsteczek wody skutkuje większą gęstością utworzonej trwałej sieci zorientowanych cząsteczek wody wokół biopolimerów, w tym enzymów oraz błon biologicznych. Celem pracy było omówienie budowy i właściwości ektoiny, ze szczególnym uwzględnieniem jej roli w tworzeniu struktur wodnych o charakterze ochronnym.

Słowa kluczowe: ektoina, ekstremofity, ochronne struktury wodne

ABSTRACT

Ectoine is an imino acid, isolated from extremophilic, halophilic, phototrophic purple bacteria. Ectoine shows a protective effect against various biomolecules. It can accumulate in cells at high concentrations and protect cell-important molecules against different stressors, e.g. temperature or osmosis. Under physiological conditions, ectoine occurs in the form of a zwitterion, and has also a significant affinity to water molecules. The ability of the ectoine to bind water molecules results in a higher density of the established stable network of oriented water molecules around biopolymers, including enzymes and biological membranes. The aim of the paper is show the structure and properties of ectoine, with emphasis on its role in the formation of water structures with significant protective importance.

Keywords: ectoine, extremophytes, protective water structures

1. Wstęp

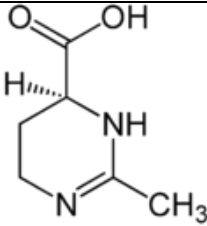
Poznanie mechanizmów przeżycia organizmów żyjących w nieprzyjaznych, wręcz zabójczych warunkach sprawia, że poznawane są wartościowe substancje o potencjalnym znaczeniu biologicznym, a także medycznym. Przykładem takiej substancji jest ektoina [1], którą wyizolowano w 1985 roku z ekstremofilnych, halofilnych, fototroficznych bakterii purpurowych *Ectothiorhodospira halochloris* żyjących w Wadi Natron w Egipcie [2]. Okazało się, że część mikroorganizmów, które produkują ektoinę ma zdolność do przekształcania jej w 5-hydroksyektoinę na drodze hydroksylacji. Zdolność ta jest uwarunkowana obecnością genu kodującego hydroksylazę ektoinową, który został dotychczas zidentyfikowany u 67 gatunków mikroorganizmów [1]. Uważa się, że synteza ektoiny zapoczątkowana jest ekstremalnymi czynnikami środowiska mikroorganizmów i hamowana jest, gdy bodziec stresowy zniknie. Wykorzystując technikę magnetycznego rezonansu jądrowego (ang. nuclear magnetic resonance; NMR) oraz spektroskopię mas, poznano strukturę ektoiny [2]. Jej cykliczny sześciopięciowy szkielet zawiera dwa atomy azotu w położeniu meta (charakterystyczny dla zasad pirymidynowych) oraz grupę iminową i karboksylową. Dlatego ektoinę można zaliczyć do iminokwasów oraz można uważać ją za pochodną kwasu 4-pirymidynowego. W organizmie ludzkim powstaje pochodna tego kwasu – kwas orotowy, który jest pośrednim metabolitem w szlaku syntezy de novo nukleotydów pirymidynowych, bywa nazywany witaminą B13 [3]. Natomiast witamina B1 (tiamina) zawiera również szkielet pirymidynowy z rodnikiem metylowym między atomami azotu, podobnie jak ektoina. Uważa się, że ektoina jest obiecującym czynnikiem ochronnym u ludzi i zwierząt, bowiem może gromadzić się w komórkach w wysokich stężeniach i zabezpieczać je przed stresem środowiskowym, w tym osmotycznym, temperaturowym i promieniowaniem [4].

Celem pracy było omówienie budowy i właściwości ektoiny, ze szczególnym uwzględnieniem jej roli w tworzeniu ochronnych struktur wodnych wokół biomolekuł.

2. Charakterystyka właściwości fizyko-chemicznych ektoiny

Ektoina (kwas 1,4,5,6-tetrahydro-2-metylo-4-pyrimidinokarboksylowy) jest iminokwasem ze względu na obecność grupy iminowej ($>C=NH$) oraz grupy karboksylowej ($-COOH$), należy do pochodnych kwasu 4-pirymidynowego, który zawiera rodnik metylowy pomiędzy atomami azotu. W tabeli 1 przedstawiono właściwości krystalicznej postaci ektoiny.

Tabela 1. Właściwości fizyko-chemiczne krystalicznej postaci ektoiny (opracowanie własne w oparciu [5])

Struktura chemiczna	
Postać	krystaliczna, lekko higroskopijna
Masa molowa	142,2 g/mol
Temperatura topnienia	280 °C
Temperatura wrzenia	124 °C
Rozpuszczalność w wodzie	ok. 550g/l
Stabilność	w szerokim zakresie pH (1–9), oraz w wysokich temperaturach: 6 godz. w 190 °C
Optymalna trwałość	w temperaturze 15–25 °C w ściśle zamkniętych pojemnikach

W warunkach fizjologicznych ektoina występuje w postaci jonu obojnaczonego, który w znacznym stopniu zachowuje konformację pierścienia ustaloną dla postaci stałej (konformacja półkrzesłowa z aksjalnie usytuowanym anionowym ugrupowaniem karboksylowym, co manifestuje się silnym momentem dipolowym pomiędzy jonem $-COO^-$, a pirymidynowym NH^+ ektoiny). Ten fakt skutkuje znacznym powinowactwem ektoiny do cząsteczek wody, które w stanie ciekłym i w postaci lodu są

zdolne do tworzenia pomiędzy sobą wiązań wodorowych. Występujące w stanie ciekłym struktury cząsteczek wody są trudne do badania. Niemniej jednak rozwój badań przyczynia się do coraz bliższego poznania asocjatyw wody (klastry), które znajdują się w stabilnej termodynamicznej równowadze. Za ich istnieniem przemawia wiele pośrednich danych doświadczalnych. Okazuje się m.in., że w roztworze wodnym cząsteczki wody nie zachowują się tak samo, jak w heksagonalnej strukturze lodu (oddziaływania z 4 cząsteczkami poprzez 4 silne wiązania wodorowe), ale oddziałują poprzez tworzenie dwóch silnych wiązań wodorowych, co stwarza możliwość budowania struktur łańcuchowych bądź pierścieniowych [6]. W roztworze wodnym występują obszary cząsteczek tworzących konfigurację tetraedryczną o niższej gęstości oraz obszary o większej gęstości zawierające odkształcone (zdeformowane) cząsteczki wody [7]. Sądzi się, że w wodzie jako cieczy współistnieją obok siebie wiele różnych elementarnych jednostek strukturalnych wykazujących znaczny stopień nieuporządkowania jej struktur.

Wiązania wodorowe powstają nie tylko pomiędzy cząsteczkami wody, ale również z wieloma polarnymi grupami funkcyjnymi związków organicznych. Z punktu widzenia biofizyki największe znaczenie odgrywają przy tym grupy: hydroksylowa, aminowa, amidowa, iminowa, karboksylowa, występujące w naturalnych makrocząsteczkach. Obecność wymienionych grup funkcyjnych w związkach naturalnych będzie sprzyjać tworzeniu sieci wiązań wodorowych. Dodatnio naładowana grupa iminowa i ujemnie grupa karboksylowa ektoiny pozwala na tworzenie sieci wiązań wodorowych ektoina-woda, ale uważa się, że ektoina może także stabilizować sieci wiązań wodorowych woda-woda. Hahn i wsp. [8] oceniali wpływ ektoiny i chlorku sodu na właściwości wody na podstawie pomiarów stosunków intensywności w widmach Ramana pasm charakteryzujących drgania rozciągające grupy hydroksylowej ($-OH$). Są to drgania o częstotliwości z zakresu 3000 cm^{-1} do 3700 cm^{-1} , które przypisuje się kolektywnym (3050 cm^{-1} i 3215 cm^{-1}) lub niekolektywnym (3412 cm^{-1} , 3560 cm^{-1} i 3630 cm^{-1}) oddziaływaniom rozciągającym. Ektoina zwiększała udział kolektywnych drgań rozciągających w stosunku do niekolektywnych, podczas gdy jednowartościowe sole typu chlorku sodowego wywoływały efekt przeciwny. Według autorów silna koordynacja cząsteczek wody do ugrupowania karboksylowego (COO^-) i pirymidynowego (NH^+) prowadzi do tworzenia stabilnej lokalnej struktury utrzymywanej licznymi wiązaniami wodorowymi, obejmującymi kompleks ektoina-woda. Wcześniejsze badania tego zespołu [9] wykazały, że wiązania wodorowe wody z ektoiną są energetycznie stabilniejsze w porównaniu z międzycząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi w czystej wodzie. Ten efekt manifestował się istotnym wydłużeniem średniego czasu życia połączeń wody z grupami karboksylowymi ektoiny. Autorzy wskazują, że efekty oddziaływania soli i ektoiny na struktury wody są niezależne i wzajemnie kompensujące się w zakresie porównywalnych stężeń. Uzyskane wyniki wyjaśniają dlaczego halofilne bakterie, które żyją w ekstremalnie zasolonych środowiskach charakteryzują się zarówno biosyntezą, jak i utrzymywaniem wysokich stężeń ektoiny w ich cytoplazmie [8, 9].

3. Mechanizm ochronnego działania ektoiny

Cząsteczki wody gwarantują utrzymanie prawidłowej struktury komórek, tkanek, narządów. Dostateczna zawartość wody w komórkach uwarunkowana jest obecnością w cytoplazmie odpowiednich stężeń jonów nieorganicznych, głównie K^+ i Cl^- oraz pewnych endogennych substancji organicznych. Jedne i drugie istotnie obniżają potencjał wody, zapobiegają jej wypływowi z komórki. Zarówno jony nieorganiczne, jak i substancje organiczne o małej masie cząsteczkowej należą do osmolitów; również zwanych jako kompatybilne substancje rozpuszczone lub kompatybilne soluty. Kompatybilność substancji objawia się harmonijnym współistnieniem z innym czynnikiem lub elementem.

Do badań struktur wody wokół osmolitów najczęściej wykorzystywana jest tzw. radialna funkcja dystrybucji (ang. *radial distribution function*, RDF) czyli liczba danego typu atomów rozpuszczalnika w jednostce objętości w pewnej odległości od wybranego atomu substancji rozpuszczonej. W badaniu RDF tlenu w czystej ciekłej wodzie, wykazano stabilizujący wpływ ektoiny na struktury wody [10]. Wynik ten upoważnia do stwierdzenia, że ektoina w przeciwieństwie do np. chlorku sodu, jest substancją silnie kosmotropową, czyli wykazującą zdolność przeorganizowania sieci molekuł wody, układając je wokół siebie. Sądzi się, że ta cecha ektoiny skutkuje mechanizmem zwanym uprzywilejowanym wykluczeniem. Zgodnie z tą teorią działanie stabilizujące biopolimerów wywierane przez osmolity, takie jak ektoina, wynika z jej wpływu na rozpuszczalnik – wodę. Prowadzi do uprzywilejowanego wykluczenia osmolitu z powierzchni białek i kwasów nukleinowych, a w konsekwencji do ich

preferencyjnego uwodnienia i do stabilizacji ich struktur przestrzennych. Wykazano, iż najsilniej zorientowaną jest pierwsza powłoka hydratacyjna, tworząca się wokół osmolu. W miarę wzrostu odległości, stopień zorientowania cząsteczek wody staje się coraz mniejszy i w końcu zanika. Wyjątkowa aktywność ektoiny do wiązania wody (ektoina-(H₂O)_n) skutkuje większą gęstością utworzonej trwałej sieci zorientowanych cząsteczek wody wokół biopolimerów. Dlatego można przyjąć, że za stabilność biopolimerów odpowiedzialny jest ektoinowy kompleks hydro (ang. *Ectoin-Hydro-Complex*) [10].

Badanie struktur wody metodą symulacji komputerowej z użyciem odpowiedniego programu dostarczyło dalszych faktów potwierdzających zdolność ektoiny do wzmacniania struktury wody wokół biopolimerów. Stwierdzono bowiem, że dyfuzja wody ze sfer wodnych biopolimeru istotnie malała po dodaniu cząsteczek ektoiny. Badania porównujące wartości całkowitej energii potencjalnej (E_{pot}) mieszaniny woda-ektoina i samych cząsteczek wody wykazały, że wartość E_{pot} woda-ektoina była niższa od wartości E_{pot} wody. Po czasie symulacji z wartości 200 ps do 1000 ps, liczba cząsteczek wody w kompleksie woda-ektoina wody pozostawała na stałym poziomie. Wskazuje to na silne organizujące i kompleksujące właściwości ektoiny w stosunku do wody. Przypuszcza się, że stabilizacja otoczki hydratacyjnej wokół białek i kwasów nukleinowych może wpływać na wzrost interakcji ich fragmentów hydrofobowych i w ten sposób stabilizować całą strukturę tych polimerów [11, 12].

Podjęto także ocenę wpływu ektoiny na obecność w wodzie dwuwarstwy lipidowej, która jest stabilizowana hydrofobowymi interakcjami apolarnych łańcuchów kwasów tłuszczowych oraz hydrofilowymi interakcjami polarnych elementów pochodnych fosfoglicerolu. Dokonując nacisku powierzchniowego o wartościach 4, 5, 7, 10 mM/m na monowarstwę filmu powstałego z dipalmitoylofosfatydylocholino (DPPC) stwierdzono, że obecność samej wody na filmie DPPC przy nacisku z największą z badanych sił skutkowało tym, że warstwa lipidowa składała się niemal wyłącznie z domen sztywnych. Natomiast z ektoiną obserwowano dominującą ilość domen płynnych. Im wyższe było ze stężeniem ektoiny tym mniej było sztywnych domen w warstwie lipidowej.

Zaobserwowano, że w roztworze ektoiny oddziaływania hydrofobowe uległy wzmocnieniu przez kompleks ektoina-woda przez hydrofobowe fragmenty biopolimerów, powodując zwiększoną ruchliwość apolarnych łańcuchów kwasów tłuszczowych (lipidów), wpływających na płynność dwuwarstwy lipidowej. Skuteczność ochrony i stabilizacji błon lipidowych przez ektoinowy kompleks hydro badano na systemach nie tylko modelowych, ale również w hodowlach komórkowych. Graf i wsp. [11] badali wpływ stężenia i czasu na stabilizujący efekt ektoinowego kompleksu hydro na błony erytrocytów. Erytrocyty poddawano wstępnej obróbce z zastosowaniem 1% roztworu ektoiny lub lecytyny (α -fosfatydylocholina) jako kontroli dodatniej przez okres godziny, a następnie poddawano je działaniu środków powierzchniowo czynnych, takich jak: siarczan dodecyłu sodu, betaina kokamido-propylowa, alkilopoliglukozyd, siarczan sodowy eteru laurylowego, chlorek benzalkoniowy. Wykres zależności różnicy w liczbie komórek nieuszkodzonych w porównaniu z kontrolą niepoddawaną obróbce wykazał, że im wyższe było stężenie ektoiny, tym silniejsze był wpływ zapobiegający uszkodzeniu błony. Dłuższa inkubacja skutkowała wzmocnieniem stabilności błony o 30% po 6 godzinach i o 60% po 24 godzinach. Oceniając ektoinowy kompleks hydro w kontekście jego wpływu na błonę erytrocytów, można stwierdzić, że jest on odpowiedzialny za efektywną izolację dwuwarstwy lipidowej przed negatywnym wpływem pewnych czynników w tym surfaktantów np. laurylosiarczan sodu, dodecylosiarczan sodu lub tenzydami np. amidopropylobetina kokosową, chlorek benzalkonium [11, 12, 13, 14].

Ektoina i hydroksyektoina pod względem chemicznym są do siebie bardzo podobne i oba związki pełnią funkcje kompatybilnych substancji rozpuszczonych. Ich oddziaływanie na makromolekuły komórki może się jednak różnić, np. zaobserwowano, że interakcja ektoiny z DNA obniża jego temperaturę topnienia, podczas gdy jej pochodna, hydroksyektoina – podwyższa. Przypuszcza się, że mikroorganizmy narażone na działanie wysokich temperatur syntetyzują właśnie hydroksyektoinę [15].

4. Ochronny wpływ ektoiny na białka i DNA

Cechą kompatybilnych substancji rozpuszczonych (ekstremolitów), jest to, że mogą łagodzić negatywne skutki środowiska cechującego się ekstremalnymi warunkami. Ektoina ze względu na swój unikatowy charakter wykorzystywana jest jako cząsteczka chroniąca białka, kwasy nukleinowe, biomembrany, a nawet całe komórki w przebiegu niektórych procesów biotechnologicznych, charakteryzujących się wysokimi lub niskimi temperaturami, zasoleniem, brakiem równowagi pomiędzy działaniem reak-

tywnych form tlenu a biologiczną zdolnością do szybkiej ich detoksykacji, obecnością niepożądanych substancji stanowiących zanieczyszczenia po procesie izolowania biopolimerów czy komórek. Wśród różnorodnych kompatybilnych solutów zbadanych do tej pory, ektoiny mają największe właściwości stabilizujące w stosunku do ekstremalnych czynników środowiska [16, 17].

Lippert i Galinski [18] oceniali wpływ ektoiny i hydroksyektoiny na dwa wrażliwe enzymy: dehydrogenazę mleczanową (ang. *lactatedehydrogenase*; LDH) i fosfofruktokinazę. Jako organiczne osmolity będące odnośnikami w stosunku do ektoiny wybrano: betainę, glicynę oraz trzy disacharydy: sacharozę, trehalozę, maltozę. Badane kompatybilne soluty okazały się godne uwagi ze względu na właściwości pozwalające stabilizować biopolimery. Jednak stopień ochrony zależał zarówno od rodzaju osmolitu, jak i od enzymu stosowanego jako system testowy. Najbardziej znaczącymi środkami ochronnymi badanych enzymów były trehaloza, ektoina i hydroksyektoina. Te osmolity bardzo często występują w przyrodzie pojedynczo lub w połączeniu jako część kompatybilnej substancji rozpuszczonej w postaci "koktajlu" u umiarkowanych halofilnych eubakterii. Badane enzymy ogrzewano, zamrażano oraz suszono. Ochrona enzymów przez ektoiny była zauważalna nawet w obecności mocznika.

W innych badaniach [19] analizowano wpływ czynników stresujących na izoenzym dehydrogenazy mleczanowej, składającej się z czterech podjednostek M (M4-LDH). W badaniu nad M4-LDH wykazano, że dodatek kompatybilnych substancji rozpuszczonych (betaina glicyna, hydroksyektoina) odpowiada za przesunięcie maksimum krzywej aktywności badanego enzymu ku wyższym wartościom temperatury. Do monitorowania zmian strukturalnych LDH w warunkach zamrażania-rozmrażania i traktowania mocznikiem w obecności badanych solutów wykorzystano spektroskopię fluorescencyjną. Wszystkie badane organiczne soluty wykazywały niezwykle właściwości stabilizujące, chociaż stopień stabilizacji zależał zarówno od rodzaju substancji rozpuszczonej, jak i od wybranego czynnika stresowego. Zauważono, że siarczan amonu działał również bardzo dobrze jako stabilizator w działaniu ciepła i mocznika, podczas gdy dodatek soli nieorganicznych podczas zamrażania-rozmrażania najwyraźniej destabilizował strukturę enzymu w zastosowanych warunkach stresowych [17].

Zhang i wsp. [20] badali wpływ suplementacji kompatybilnych substancji rozpuszczonych na termostabilność fitazy. Gdy enzym rozpuszczony w buforze octanowym ogrzewano w 90 °C przez 15 minut, to dodanie ektoiny spowodowało zachowanie ponad 80% aktywności resztkowej. Ponadto obecność ektoiny doprowadziła do wzrostu względnej szybkości hydrolitycznej fitynianu sodu o 15,7% przy ogrzewaniu w temperaturze 80 °C przez 15 minut. Stwierdzono, że ektoina jest najskuteczniejszym związkiem ochronnym przed działaniem wysokich temperatur. Produkcja fitaz jest bardzo szybko rozwijającą się gałęzią przemysłu enzymatycznego. Spośród wszystkich enzymów paszowych, fitazy odgrywają szczególną rolę. Ich dodatek do pasz nie tylko zwiększa zaopatrzenie organizmu zwierzęcego w fosfor, ale także ogranicza ryzyko zanieczyszczenia gleby i wód powierzchniowych fosforanami.

Barth i wsp. [21] opracowali nową strategię ekspresji rekombinowanego białka typu immunotoksyn w przestrzeni peryplazmatycznej szczepu *Escherichia coli*. Immunotoksynę pozyskiwano przez zamrażanie-rozmrażanie peletek z kulturą bakterii hodowanych w stresie osmotycznym (4% NaCl, 0,5 M sorbitol) w obecności kompatybilnych solutów. Dodanie 10 mM betainy i glicyny do hodowli *E. coli* w warunkach stresu osmotycznego nie tylko pozwoliło bakteriom wzrastać w tych niekorzystnych warunkach, ale także umożliwiło na wytworzenie mikrośrodowiska peryplazmatycznego do generowania poprawnie sfałdowanej immunotoksyny w wysokich stężeniach. Natomiast obecność w roztworze 1 M hydroksyektoiny chroniło immunotoksynę przed kilkoma etapami zamrażania-rozmrażania, nawet przy bardzo niskich jej stężeniach.

Różne substancje, takie jak sulfotlenek dimetylu, sulfotlenek tetrametylenu, 2-pirolididon oraz naturalnie występujący kompatybilny solut, jak betaina, wzmacniają amplifikację matrycy bogatych w pary GC charakteryzujących się wysokimi temperaturami topnienia w łańcuchowej reakcji polimerazy (ang. *polymerase chain reaction*; PCR). Zainteresowanie naukowców budziły kompatybilne soluty o cyklicznej strukturze chemicznej. W związku z tym zbadano wpływ takich solutów i ich pochodnych na temperaturę topnienia dwuniciowego DNA (ang. *double stranded*, dsDNA) i amplifikację różnych matryc. Badania wykazały, że L-ektoina, betaina i pochodna L-ektoiny obniżały temperaturę topnienia dsDNA, natomiast beta-hydroksyektoina powodowała jej wzrost. Zdolność do obniżenia temperatury topnienia DNA była największa w obecności homoektoiny, nowej syntetycznej pochodnej L-ektoiny. Homoektoina zwiększała ponadto specyficzność reakcji PCR do 100% oraz wzmacniała amplifikację DNA bogatego w pary GC [22], unikając przy tym kontaminacji produktami

towarzyszącymi ektoinie. Niskie stężenia (w zakresie od 10 do 25 mM) hydroksyektoiny, mannozyloglicerynianu potasu i fosforanu digliceryny potasu w buforze do hybrydyzacji pozytywnie wpływało na parametry hybrydyzacji i lepsze wyniki mikromacierzy. To odkrycie ma duży potencjał w zakresie poprawy eksperymentów z mikromacierzami DNA [23].

Miejscowe stosowanie ektoiny na zdrową skórę poprawia jej nawilżenie [24], co z dużym prawdopodobieństwem wynika ze sposobu stabilizacji struktur wodnych wokół korneocytów, a szczególnie ich błon komórkowych. Ponadto, z uwagi na fakt, że kompleks ektoina-woda wpływa również na oddziaływania hydrofobowe, może odpowiadać za stabilizację tych fragmentów w przestrzeni pozakomórkowej warstwy rogowej. Krem zawierający ektoinę stosowano w grupie 65 pacjentów z atopowym zapaleniem skóry i wykazano, że efekty jego działania były porównywalne z niesteroidowym kremem przeciwzapalnym, co sugeruje, że może związki ektoiny mogą mieć opcjonalny potencjał terapeutyczny [25].

5. Podsumowanie

Według aktualnej wiedzy ektoina jest substancją egzogenną organizmu ludzkiego. Synteza szkieletu pirymidyny z amfifobicznych związków pośrednich przebiega w komórkach w sposób ciągły. Dlatego można domniemywać, że biosynteza ektoiny może zachodzić w organizmie człowieka w odpowiedzi na nieznaną dotąd szlak transdukcji odbierający bodźce związane z niekorzystnymi warunki środowiska. Ektoina jako amfoter tworzy struktury przestrzenne z kompleksów ektoina-woda silnie wiążących wodę. Dzięki temu pełni pośrednią rolę w stabilizacji protein i modyfikowaniu ich rozpuszczalności, stabilizuje także inne naturalne struktury polimerowe i lipidowe (kwasy nukleinowe, błony biologiczne). Ektoina wykazuje również zdolność minimalizowania degradacji biopolimerów powodowaną przez utratę wody, co sprawia, że jest to substancja o ważnym znaczeniu biologicznym.

LITERATURA

- [1] J.M. Pastor, M. Salvador, M. Argandona, V. Bernal, M. Reina-Bueno, L.N. Csonka, J.L. Iborra, C. Vargas, J.N. Nieto, M. Canovas: *Ectoines in cell stress protection: Uses and biotechnological production*, Biotechnology Advances, vol. 28, 2010, s. 782–801.
- [2] A.E. Galiński, H. Pfeiffer, G.H. Truper: *1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid A novel cyclic amino acid from halophilic phototrophic bacteria of the genus Ectothiorhodospira*, European Journal of Biochemistry, vol. 149, 1985, s. 135–139.
- [3] M. Löffler, E.A. Carrey, E. Zameitat: *Orotic acid, more than just an intermediate of pyrimidine de novo synthesis*, Journal of Genetics and Genomics vol. 42, 2015, s. 207–219.
- [4] A. Bownik, Z. Stępniewska: *Ectoine as a promising protective agent in humans and animals*, Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, vol. 67(4), 2016, s. 260–265.
- [5] Z. Stępniewska, A. Kuźniar, A. Pytlak, J. Ciepelski: *Ektoina — przeciwstresowa cząsteczka przyszłości*, Kosmos-problemy nauk biologicznych, vol. 63, 2014, s. 25–35.
- [6] P.H. Werner, D. Nordlund, U. Bergmann, M. Cavallieri, M. Odelius, H. Ogasawara, L.A. Naslund, T.K. Hirsch, L. Ojamae, P. Glatzel, L.G.M. Petterssen, A. Nilsson: *The structure of the first coordination shell in liquid water*, Science, vol. 304, 2004, s. 995–999.
- [7] T. Tokushima, Y. Harada, O. Takahashi, Y. Senda, H. Ohashi, L.M. Petterssen, A. Nilsson, A. Shin: *High resolution X-ray emission spectroscopy of liquid water: the observation of two structural motif*, Chemical Physics Letters, vol. 460, 2008, s. 387–400.
- [8] M.B. Hahn, F. Uhlig, T. Solomun, U.J. Smiatek, H. Sturm: *Combined influence of ectoine and salt: spectroscopic and numerical evidence for compensating effects on aqueous solutions*, Physical Chemistry Chemical Physics, vol. 18, 2016, s. 28398–28402.
- [9] M.B. Hahn, T. Solomun, R. Wellhausen, S. Hermann, H. Seitz, S. Meyer, H.J. Kunte, J. Zeman, F. Uhlig, J. Smiatek, H. Sturm: *Influence of the Compatible Solute Ectoine on the Local Water Structure: Implications for the Binding of the Protein G5P to DNA*, The Journal of Physical Chemistry B, vol. 119(49), 2015, s. 15212–15220.
- [10] C. Held, D. Paschek, G. Sadowski: *Eigenschaften von Ectoinen in wässrigen Lösungen*, Universität, Dortmund 2008.
- [11] R. Graf, S. Anzali, J. Buenger, F. Pfluecker, H. Driller: *The multifunctional role of ectoine as a natural cell protectant*, Clinics in Dermatology, vol. 26(4), 2008, s. 326–333.
- [12] D. Bünger, J. Degwert: *The protective function of compatible solute ectoine on the skin cells and its biomolecules with respect to UV-radiation, immunosuppression and membrane damage*, IFSCC Magasine, vol. 4(2), 2001, s. 1–6.
- [13] R.K. Harishchandra, S. Wulff, G. Lentzen, T. Neuhaus, H.J. Galla: *The effect of compatible solute ectoines on the structural organization of lipid monolayer and bilayer membranes*, Biophysical Chemistry, vol. 150, 2010, s. 37–46.
- [14] M.B. Burg, J.D. Ferraris: *Intracellular organic osmolytes: function and regulation*, Journal of Biological Chemistry, vol. 283(12), 2008, s. 7309–7313.

- [15] K. Reuter, M. Pittelkow, J. Bursy, A. Heine, T. Craan, E. Bremer: *Synthesis of 5-hydroxyectoine from ectoine: crystal structure of the non-heme iron (II) and 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase EctD*, PLoS One, vol. 5(5), 2010, e10647.
- [16] M.A. Schröter, S. Meyer, M.B. Hahn, T. Solomun, H. Sturm, H.J. Kunte: *Ectoine protects DNA from damage by ionizing radiation*, Scientific Reports, vol. 7(1), 2017, s. 15272–15274.
- [17] G. Lentzen, T. Schwarz: *Extremolytes: natural compounds from extremophiles for versatile applications*, Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 72, 2006, s. 623–634.
- [18] K. Lippert, E.A. Galinski: *Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying*, Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 37, 1992, s. 61–65.
- [19] K. Göller, E.A. Galinski: *Protection of a model enzyme (lactate dehydrogenase) against heat, urea and freeze-thaw treatment by compatible solutes additives*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, vol. 7, 1999, s. 37–45.
- [20] L. Zhang, Y. Wang, C. Zhang, Y. Wang, D. Zhu, C. Wang, S. Nagata: *Supplementation effect of ectoine on thermostability of phytase*, Journal of Bioscience and Bioengineering vol. 102(6), 2006, s. 560–563.
- [21] S. Barth, M. Huhn, B. Matthey, A. Klimka, E.A. Galinski, A. Engert: *Compatible-solute-supported periplasmic expression of functional recombinant proteins under stress conditions*, Applied and Environmental Microbiology, vol. 66(4), 2000, s. 1572–1579.
- [22] M. Schnoor, P. Voss, P. Cullen, T. Böking, H.J. Galla, E.A. Galinski, S. Lorkowski: *Characterization of the synthetic compatible solute homoectoine as a potent PCR enhancer*, Biochemical and Biophysical Research Communications vol. 322, 2004, s. 867–872.
- [23] N. Mascellani, X. Liu, S. Rossi, J. Marchesini, D. Valentini, D. Arcelli, C. Taccioli, M. Helmer Citterich, C.G. Liu, R. Evangelisti, G. Russo, J.M. Santos, C.M. Croce, S. Volinia: *Compatible solutes from hyperthermophiles improve the quality of DNA microarrays*, BMC Biotechnology, vol. 7, 2007, s. 82.
- [24] U. Heinrich, B. Garbe, H. Tronnier: *In vivo assessment of Ectoin: a randomized, vehicle-controlled clinical trial*, Skin Pharmacology and Physiology, vol. 20(4), 2007, s. 211–218.
- [25] A. Marini, K. Reinelt, J. Krutmann, A. Bilstein: *Ectoine-containing cream in the treatment of mild to moderate atopic dermatitis: a randomised, comparator-controlled, intra-individual double-blind, multi-center trial*, Skin Pharmacology and Physiology, vol. 27(2), 2014, s. 57–65.

otrzymano / submitted: 26.02.2018
wersja poprawiona/revised: 01.03.2018
zakceptowano / accepted: 28.03.2018