

М.В. Хайтович, д.м.н., професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації
Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, м. Київ

Ектоїн: механізми респіраторної цитопротекції

Для розуміння механізмів цитопротекції насамперед слід розглянути види клітинної смерті. Сьогодні виокремлюють декілька типів клітинної смерті: без значних порушень клітинної мембрани (апоптоз, автофагія та аноїкіс (apoikis, із грецької *án-* «без», *oikos* – «будинок»)) – окремий випадок клітинної загибелі шляхом апоптозу, яка настає у відповідь на неправильну адгезію клітин або її втрату); з літичною та запальною формами клітинної загибелі (піроптоз, некроптоз і фероптоз) [6].



М.В. Хайтович

Неконтрольовано клітини гинуть унаслідок їхнього раптового структурного ушкодження під впливом екстремальних фізико-хімічних або механічних факторів. Такий незворотний біологічно неконтрольований варіант клітинного руйнування зазвичай називають випадковою смертю клітини. Так, некроз – це патологічна форма загибелі клітин, що з'являється при гострому ушкодженні та спричиняє руйнування клітинних і внутрішньоклітинних мембран, у т. ч. мембран лізосом, що обумовлює вихід лізосомальних ферментів, протеоліз і ушкодження ядра клітини – каріолізис [20].

Водночас у більшості випадків смерть клітини ініціюється генетично зумовленим механізмом (регульована загибель клітин – regulated cell death, RCD). RCD може вважатися частиною фізіологічної програми та містить чітко структуровані сигнальні каскади й молекулярно визначені ефекторні механізми, а також використовується організмом у разі неспроможності адаптивної відповіді на вплив несприятливих внутрішньоклітинних і позаклітинних факторів [1].

Нерідко програмована загибель клітин прирівнюється до апоптозу, однак відомі й неапоптичні форми клітинної смерті – автофагія, некроптоз, піроптоз, фероптоз, ентоз, нетоз, партанатоз, залежна від лізосом загибель клітин, залежна від автофагії загибель клітин, алкаліптоз, оксейптоз тощо [20]. Поглиблене розуміння кожної з цих летальних підпрограм і їхніх міжклітинних наслідків може виявити нові терапевтичні цілі для уникнення патогенної втрати клітин [9].

Недостатній транспорт кисню (особливо на тлі високих метаболічних потреб) швидко виснажує енергетичні системи клітини та запускає механізми її загибелі, при цьому гіпоксія є одним з пускових факторів розвитку як апоптозу, так і некрозу клітин [1]. На рисунку 1 продемонстровано каскад клітинних і молекулярних подій, як-от генерація активних форм кисню (АФК) і ушкодження лізосом, які зумовлюють некроз, апоптоз, піроптоз. Через оксидативний стрес МАРК-шляхом з'являються залежні від мітохондрій апоптичні каскади. АФК активують низку транскрипційних факторів, у т. ч. NF-κB, який регулює запальну відповідь. Унаслідок індукції проникності лізосомальних мембран (lysosomal membrane permeabilization, LMP) відбувається транслокація катепсину до цитоплазми.

Відомо про цитопротекторну роль автофагії [11], однак масивна проникність лізосомальних мембран спричиняє дисфункцію автофагії. В результаті активації каспази-1 вивільняється велика кількість інтерлейкіну 1β, що зумовлює запалення, порушення цілісності плазматичної мембрани та швидке вивільнення назовні вмісту клітини (інфламасома-залежний піроптоз) [23].

Ефективне пригнічення процесів, які зазвичай розглядають як причину регульованої клітинної смерті, як-от активація ефекторних каспаз у процесі апоптозу, не забезпечує справжнього захисного ефекту в організмі ссавців, а лише змінює кінетику смерті клітин унаслідок порушення клітинного морфологічного, а також біохімічного зв'язку [1]. Натомість справжньої цитопротекції можна досягти за допомогою пригнічення летальної сигналізації у ранній фазі процесу, коли адаптивні реакції ще здатні до регульовального впливу [9].

Отже, сучасні уявлення про цитопротекцію припускають можливість і необхідність раннього впливу на фактори, що запускають процеси загибелі клітин.

Різні організми з метою цитопротекції розробили різноманітні механізми захисту від стресу, спричиненого чинниками зовнішнього середовища, як-от посуха чи екстремальні температури. Також відомо, що коливання осмотичності навколишнього середовища є фактором стресу в багатьох природних середовищах існування мікроорганізмів, оскільки вони зумовлюють осмотично спричинені потоки води через напівпроникну цитоплазматичну мембрану.

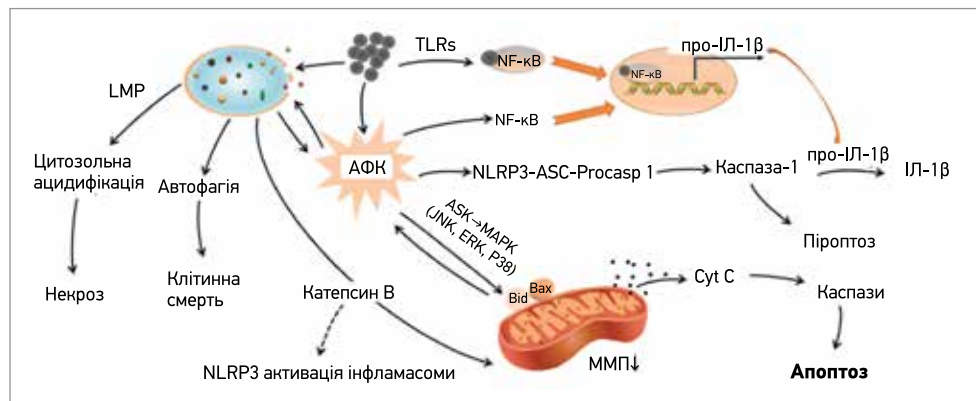


Рис. 1. Механізми індукованої цитотоксичності макрофагів [23]

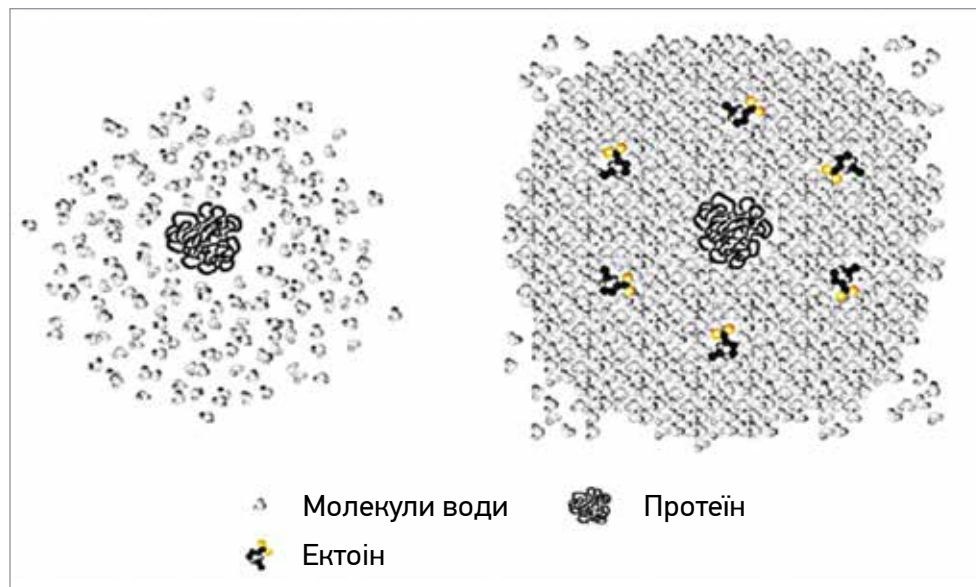


Рис. 2. Вплив на молекули води та білки: за наявності ектоїну структура води змінена й компактніша, білки стабілізовані [2]

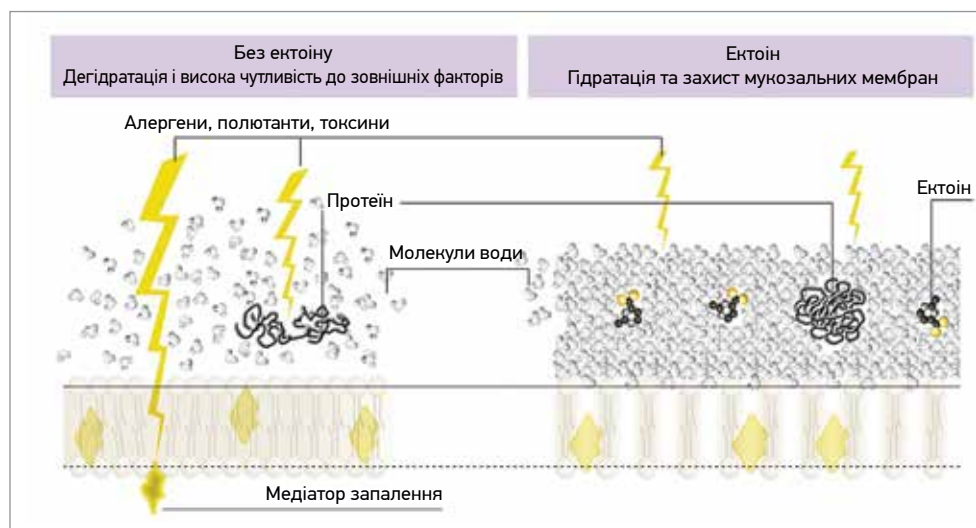


Рис. 3. Механізми дії ектоїну: вплив молекул води (зліва) та водного розчину ектоїну (справа) на ліпідний бішар [4]

Примітка: під впливом ектоїну спостерігається стабілізація рецепторів, попереджаються проникнення шкідливих факторів усередину клітини та розвиток запалення.

Бактерії (особливо ті, що живуть в екстремальних умовах) мають здатність виробляти сполуки невеликої молекулярної маси, відомі як сумісні розчинені речовини чи осмоліти (осмопротектори), які не перешкоджають клітинним процесам. Натомість через накопичення осмолітів у гіперосмолярних умовах мікроорганізмів чинить опір згубним наслідкам виходу із клітини води та подальшого зневоднення цитоплазми і зниження тургору [5].

За структурою сумісні розчинені речовини належать до таких груп: цукри (сахароза, трегалоза), поліолі (сорбіт, гліцерин, маніт,

манозилгліцерамід, манозилгліцерин), N-ацетильовані діамінокислоти (N-ацетилглутамінілглутаміновий амід), бетаїни (бетаїн, гліцин, деривати), амінокислоти та їхні похідні (пролін, глутамат, глутамін, аланін, ектоїн, гідроксiekтоїн) [3].

Ектоїн – це низькомолекулярний циклічний тетрагідропіримідиновий органічний осмоліт, який уперше був ідентифікований у галофільній бактерії *Ectothiorhodospira halochloris*, але відтоді його знаходили в інших екстремофільних мікроорганізмах (здебільшого аеробних), хемогетеротрофних і галофільних бактеріях, як-от α-, γ-протеобактерії та *Actinobacteridae*, в яких він

стабілізує клітинні мембрани, ферменти, нуклеїнові кислоти при екстремальних температурах або високих концентраціях солі [3].

Синтез ектоїну з його попередника (L-аспарат-β-семіальдегіду) каталізується ферментами, включаючи ацетилтрансферазу діаміномасляної кислоти (DABA) (ectA), амінотрансферазу DABA (ectB) і синтазу ектоїну (ectC). Гени, що кодують ці ферменти, організовані в оперонах ectABC або ectABC-ask [3].

Ектоїн посилює зв'язки між сусідніми молекулами води та збільшує їхню кількість, перетворюючи воду з хаотичної рідини в структурований гідроксид, що оточує клітини слизових оболонок захисним шаром, забезпечуючи бар'єрний захист слизових оболонок. За результатами низки біофізичних досліджень встановлено, що ектоїн зв'язує молекули води краще за деякі інші осмопротектори (як-от гліцерин), зберігає потужні гідраційні властивості навіть при високих концентраціях NaCl, добре переноситься людьми, тваринами та різними культурами клітин [3], зокрема, може запобігти старінню шкіри [16].

Хоча механізм дії ектоїну остаточно невідомий, існує декілька гіпотез, що пояснюють біофізичні принципи, за якими він діє. Найбільш загальноприйнятою гіпотезою є модель преференційного виключення (або пільгового зволоження), згідно з якою осмопротектори не взаємодіють безпосередньо з макромолекулою у водному розчині, а лише з молекулами води, що прилягають до поверхні білка, збільшуючи гідрацію макромолекули, внаслідок чого спостерігається відштовхування білка, який складається компактніше, краще зберігає свою структуру, менше зазнає термодинамічного зв'язування (рис. 2). Отже, ектоїн має стабілізувальну роль у рецепторних структурах [3]. Остаточного не з'ясовано, чи ектоїн, який зовнішньо застосовується, діє ззовні, чи поглинається, оскільки здійснює ефективний захист від осмотичного стресу [14].

Проведено багато експериментальних досліджень з вивчення цитопротекторної дії ектоїну. Встановлено, що ектоїн (але не гідроксiekтоїн або бетаїн) за токсичності, спричиненої поліглутаміном, зменшував загальну кількість агрегатів, чисельність великих цитоплазматичних включень та збільшував частоту ядерних включень. Незважаючи на наявність ядерних включень, після застосування ектоїну рідше спостерігалися апоптотичні зміни [23].

Ектоїн ефективно полегшував нейтрофільне запалення легень щурів, зумовлене вуглецевими наночастинами, через пригнічення прозапальної сигналізації [17]; водночас він пом'якшував у мишей запальні реакції в епітеліальних клітинах легень після вдихання вуглецевих наночастинок. Однак цей ефект не спостерігався при запаленні, індукваному бактеріальним ліпополісахаридом [10]. Установлено, що інгаляційний вплив наночастинок вуглецю спричиняв накопичення керамідів у ліпідних плотах клітинних мембран, активацію рецептора епідермального фактора росту (EGFR) і запалення легень [13]. Однак у тварин, які додатково отримували ектоїн, спостерігалися м'якші алергічні реакції, оскільки ектоїн пригнічував опосередковане керамідом фосфорилування EGFR. Знижений рівень IL-6 у сироватці крові свідчив про вплив ектоїну щодо попередження системного запалення (рис. 3) [22].

Доведено профілактичний ефект ектоїну на індукцію антиапоптотичної сигналізації. Нейтрофільне запалення легень, спричинене одноразовим або багаторазовим впливом на тварин токсичними наночастинами, було зменшено після введення ектоїну. Аналіз нейтрофілів із бронхоальвеолярного промивання свідчить про те, що ефект *in vivo* обумовлений попередженням апоптозу нейтрофілів [18]. Ці висновки були підтверджені та розширені в експериментах з культивованими клітинами бронхіального епітелію людини, в яких ектоїн пригнічував сигналізацію клітин, зумовлену наночастинами, й індукцію IL-8 [17].

Результати інших досліджень довели, що ектоїн і гідроксiekтоїн підсилювали поверхнево-активні речовини легень, що свідчить про їхнє потенційне використання як допоміжних факторів при інгаляційній терапії [8].

Накопичено результати клінічних досліджень з оцінки ефективності та безпечності застосування ектоїну як допоміжного засобу при лікуванні запальних захворювань верхніх дихальних шляхів, у т. ч. оцінювався вплив на алергічне запалення. Під час порівняння впливу (в пацієнтів з алергічним ринітом) топічних засобів зі вмістом ектоїну, як-от назальний спрей, очні краплі, з впливом засобів на основі азеластину й кромогліцинової кислоти виявлено високу ефективність ектоїну, при цьому не спостерігалось побічних ефектів [21]. За результатами подвійного сліпого рандомізованого плацебо-контрольованого перехресного дослідження 46 пацієнтів з алергічним ринокон'юнктивітом очні краплі та назальний спрей, що містили ектоїн, суттєво зменшували такі специфічні симптоми, як чхання, слюзотеча, свербіж очей ($p \leq 0,021$), а також «свербіж вуха / піднебіння» ($p = 0,036$). Водночас продемонстровано високий профіль безпеки ектоїну [15]; його ефективність за алергічного риніту доведена й іншими дослідниками [12].

Для оцінки ефективності застосування ектоїну при лікуванні гострого бронхіту до клінічного дослідження було залучено 135 пацієнтів (79 отримували інгаляційний розчин ектоїну, а щодо 56 осіб застосовували сольовий інгаляційний розчин). Після лікування прояви симптомів захворювання суттєво зменшилися в обох групах ($p < 0,05$), але ефект у групі ектоїну був більшим і спостерігався раніше, ніж у групі фізіологічного розчину. Відмінності в площі під кривою симптомів задишки та результатів аускультатії були на користь ектоїну ($p < 0,05$). Після лікування більша кількість пацієнтів і лікарів із групи ектоїну оцінювали стан як «повністю відновлений» або «значно покращений» (порівняно із групою фізіологічного розчину). Майже всі хворі та лікарі оцінювали переносимість обох способів лікування як «хорошу» або «дуже хорошу». Було зроблено висновок, що інгаляційний розчин ектоїну є ефективнішим за сольовий розчин при лікуванні бронхіту [19].

Отже, ектоїн належить до органічних осмолітів, які широко синтезуються деякими бактеріями у відповідь на високу солоність / осмолярність та/або екстремальне підвищення температури. Перенесений до біологічних систем ектоїн через формування «ектоїн-гідрокомплексу» оточує себе (як і сусідні білки та клітинні мембрани) водним шаром, протидіючи інтенсивним впливам на клітину несприятливих факторів зовнішнього середовища (попереджуючи некроз). Окрім зволожувальних властивостей, ектоїн обмежує каскад запальних реакцій на мембранному рівні (попереджає регульовану загибель клітин), зокрема в клітинах епітелію дихальних шляхів.

Ектобріс (ТОВ «Юрія-Фарм») – перший на фармацевтичному ринку України інгаляційний Ектоїн®. Ця натуральна молекула є оригінальною німецькою розробкою в сфері біотехнологій; виробляється компанією Bitor AG Germany з 1993 р. Молекула не взаємодіє з білками, а завдяки утворенню структурованого гідрокомплексу здатна захищати клітини від алергенів, вірусів, бактерій та хімічних агентів.

Література

1. Федорова О.А. Цитопротекция в хирургии. Потенциал клинического применения препарата Метамакс. Український медичний часопис. 2014; 104 (6). <https://www.umj.com.ua/article/82937>.
2. Bilstein A. et al. Ectoine in the Treatment of Irritations and Inflammations of the Eye Surface. BioMed Research International. 2021; 2021. Article ID 8885032, 16 pages <https://doi.org/10.1155/2021/8885032>.
3. Bownik A., Stepniewska Z. Ectoine as a promising protective agent in humans and animals Arh Hig Rada Toksikol 2016; 67: 260-265.
4. Casale M. et al. Topical Ectoine: A Promising Molecule in the Upper Airways Inflammation – A Systematic Review. HindawiBioMed Research International. 2019; 2019, Article ID 7150942, <https://doi.org/10.1155/2019/7150942>.
5. Czech L. et al. Role of the Extremolytes Ectoine and Hydroxyectoine as Stress Protectants and Nutrients: Genetics, Phylogenomics, Biochemistry, and Structural Analysis. Genes 2018, 9, 177; doi: 10.3390/genes9040177.
6. FitzGerald E.S. Competitive Cell Death Interactions in Pulmonary Infection: Host Modulation Versus Pathogen Manipulation. Front. Immunol. 11:814. doi: 10.3389/fimmu.2020.00814.
7. Furusho K. et al. Ectoine alters subcellular localization of inclusions and reduces apoptotic cell death induced by the

truncated Machado-Joseph disease gene product with an expanded polyglutamine stretch. Neurobiol Dis. 2005; 20 (1): 170-178. doi: 10.1016/j.nbd.2005.02.011.

8. Harishchandra R.K. et al. Compatible solutes: Ectoine and hydroxyectoine improve functional nanostructures in artificial lung surfactants. Biochim Biophys Acta 2011; 1808: 2830-40. doi: 10.1016/j.bbame.2011.08.022.
9. Galluzzi L. et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death & Differentiation (2018) 25: 486-541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>.
10. Kroker M. et al. Preventing carbon nanoparticle-induced lung inflammation reduces antigen-specific sensitization and subsequent allergic reactions in a mouse model. Part Fibre Toxicol 2015; 12: 20. doi: 10.1186/s12989-015-0093-5.
11. Moreau K. et al. Cytoprotective roles for autophagy. Current Opinion in Cell Biology 2010, 22: 206-211.
12. Mrukwa-kominek E., Janiszewska-Salamon J., Luboń W. Ectoine in the treatment of ocular allergy. Ophthalmol J. 2016; 1, supl. 1, 1-3. doi: 10.5603/OJ.2016.0014.
13. Peuschel H. et al. Carbon nanoparticles induce ceramide- and lipid raft-dependent signalling in lung epithelial cells: a target for a preventive strategy against environmentally-induced lung inflammation. Part Fibre Toxicol 2012; 9: 48. doi: 10.1186/1743-8977-9-48.
14. Rieckmann T. et al. The inflammation-reducing compatible solute ectoine does not impair the cytotoxic effect of ionizing radiation on head and neck cancer cells. Scientific RepoRts. 2019; 9: 6594 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43040-w>.
15. Salapatek A.M., Werkhäuser N., mail B, Mösges R., Raskopf E., Bilstein A. Effects of ectoine containing nasal spray and eye drops on symptoms of seasonal allergic rhinoconjunctivitis. Clin Transl Allergy. 2021; 11: e12006. <https://doi.org/10.1002/ctlt.12006>.
16. Singh O.V., Gabani P. Extremophiles: radiation resistance microbial reserves and therapeutic implications. Journal of Applied Microbiology. 2011. 110, 851-861. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.04971.x.
17. Sydlík U. et al. The Compatible Solute Ectoine Protects against Nanoparticle-induced Neutrophilic Lung Inflammation. Am J Respir Crit Care. 2009; 180: 29-35. doi: 10.1164/rccm.200812-1911OC.
18. Sydlík U. Recovery of neutrophil apoptosis by ectoine: a new strategy against lung inflammation. Eur Respir J 2013; 41: 433-442. doi: 10.1183/09031936.00132211.
19. Tran B-H. et al. Ectoine-Containing Inhalation Solution versus Saline Inhalation Solution in the Treatment of

Acute Bronchitis and Acute Respiratory Infections: A Prospective, Controlled, Observational Study. BioMed Research International. 2019; 2019, Article ID 7945091, 8 pages <https://doi.org/10.1155/2019/7945091>.

20. Tan D. et al. The molecular machinery of regulated cell death. Cell Research. 2019; 29: 347-364; <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0164-5>.
21. Werkhäuser N. et al. Treatment of Allergic Rhinitis with Ectoine Containing Nasal Spray and Eye Drops in Comparison with Azelastine Containing Nasal Spray and Eye Drops or with Cromoglycic Acid Containing Nasal Spray Journal of Allergy. 2014; 2014, Article ID 176597, 13 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/176597>.
22. Unfried K. et al. The Compatible Solute Ectoine Reduces the Exacerbating Effect of Environmental Model Particles on the Immune Response of the Airways. Journal of Allergy. 2014; 2014, Article ID 708458, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/708458>.
23. Yuan X. et al. Cellular Toxicity and Immunological Effects of Carbon-based Nanomaterials Particle and Fibre Toxicology (2019) 16:18 <https://doi.org/10.1186/s12989-019-0299-z>.

3

ЕКТОБРИС - РЕСПІРАТОРНИЙ ЦИТОПРОТЕКТОР

Перший в Україні
оригінальний інгаляційний Ectoin®



- Усуває запалення, утворюючи Ectoin® Hydro Complex, що служить бар'єром на поверхні слизових оболонок дихальних шляхів
- Захищає слизові оболонки від впливу вірусів, бактерій та алергенів
- Сприяє відновленню слизових оболонок дихальних шляхів



Від перших симптомів до повного відновлення дихальних шляхів

Стисла інструкція до медичного застосування ЕКТОБРИС

Склад: Ectoin®, вода, морська сіль. **Показання до застосування:** допоміжний засіб для зменшення запалення і полегшення симптомів захворювань дихальних шляхів, у разі алергічної або неалергічної астми, бронхіту або хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), захист і зволоження слизової оболонки дихальних шляхів, наприклад, при впливі твердих частинок, квіткового пилю, пилу або сухого повітря в опалювальних або кондиціонованих приміщеннях, запобігання симптомам алергічних реакцій дихальної системи при алергічній астмі, викиданні, наприклад, домашнім пилом або квітковим пилом, допоміжного засобу при лікуванні і для профілактики симптомів бронхіту. **Противопоказання:** підвищена чутливість до Ectoin® або будь-якого іншого компонента виробу. **Декларація про відповідність:** NPAR-037 дійсна до 26.05.2024

Цей матеріал призначений тільки для фахівців охорони здоров'я і для розповсюдження під час спеціалізованих медичних заходів. ТОВ «Юрія-Фарм» не рекомендує використовувати виріб медичного призначення з метою, яка відрізняється від зазначеної в інструкції. Перед використанням виробу медичного призначення, ознайомтеся з повною інструкцією щодо медичного застосування.



ЮРІЯ-ФАРМ

WWW.UF.UA 33038, м. Київ, вул. М. Амосова, 10. Тел./факс: (044) 275-01-08, 275-92-42