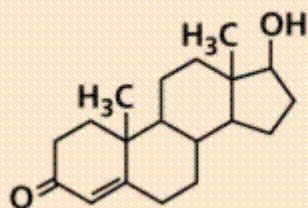


Steroidy

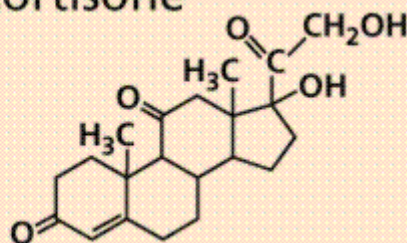
Steroidy

Organické molekuly zahrnující nejen cholesterol, ale také steroidní hormony (estradiol, testosteron, kortikosteroidy).

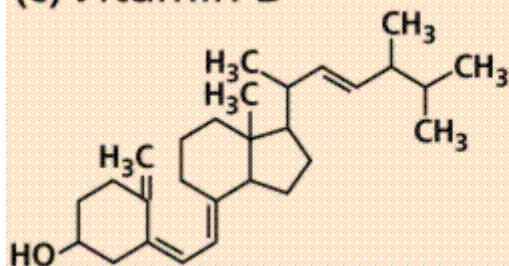
(a) Testosterone



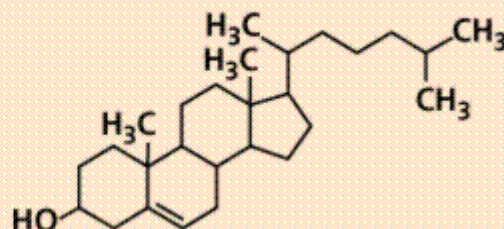
(b) Cortisone



(c) Vitamin D



(d) Cholesterol



Steroidy jsou látky odvozené od molekuly steranu (cyklopentano-perhydrofenantrenu). Její molekula je složena ze 3 cyklohexanů (kruhy A, B, C) a jednoho cyklopentanu (kruh D).

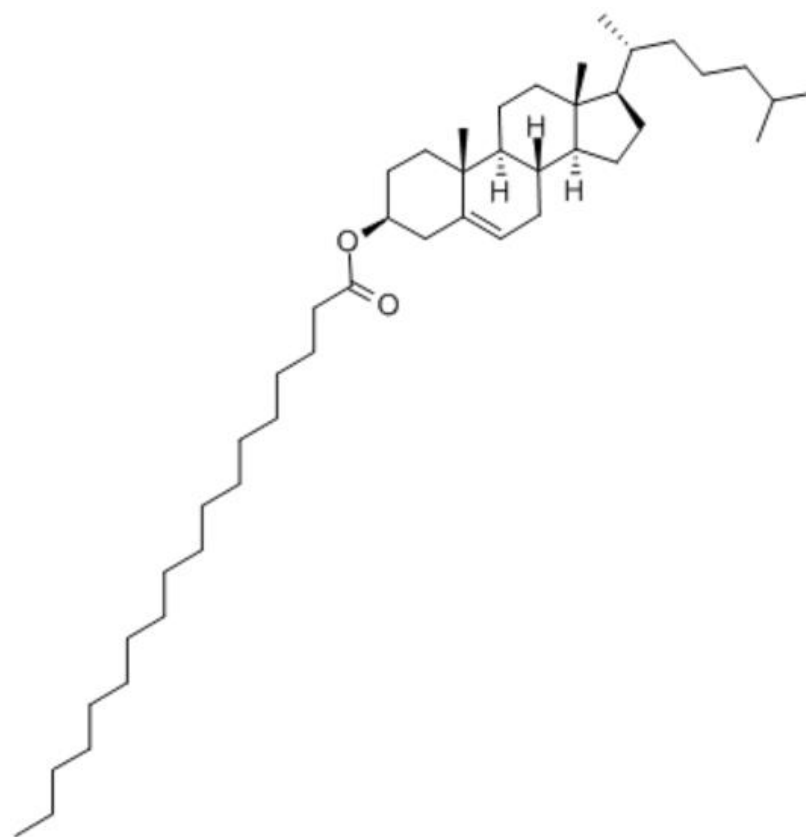
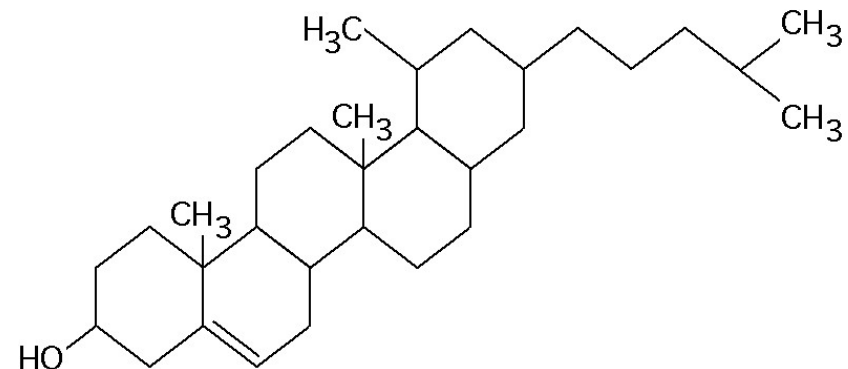
Steroidy se mezi sebou liší rozdílnými funkčními skupinami, které se na molekulou vážou. Také se mohou lišit oxidačním stavem uvnitř cyklů (dvojně vazby mezi uhlíky).

Hlavním představitelem steroidů je **cholesterol**.

Molekula cholesterolu je silně nepolární, s výjimkou hydroxylové skupiny, která přináší částečnou polaritu na molekulu. Podobně jako fosfolipidy je cholesterol amfipatická molekula.

V organismu se ale vyskytuje také ve formě esteru s mastnou kyselinou. Reakci katalyzuje enzym **Acyl-CoA cholesterol acyltransferáza**, která přenáší zbytek MK na hydroxylovou skupinu. Estery tak ztrácejí amfipatický charakter.

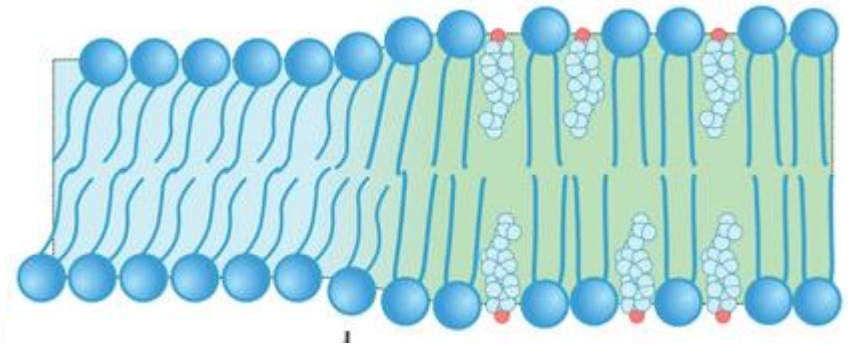
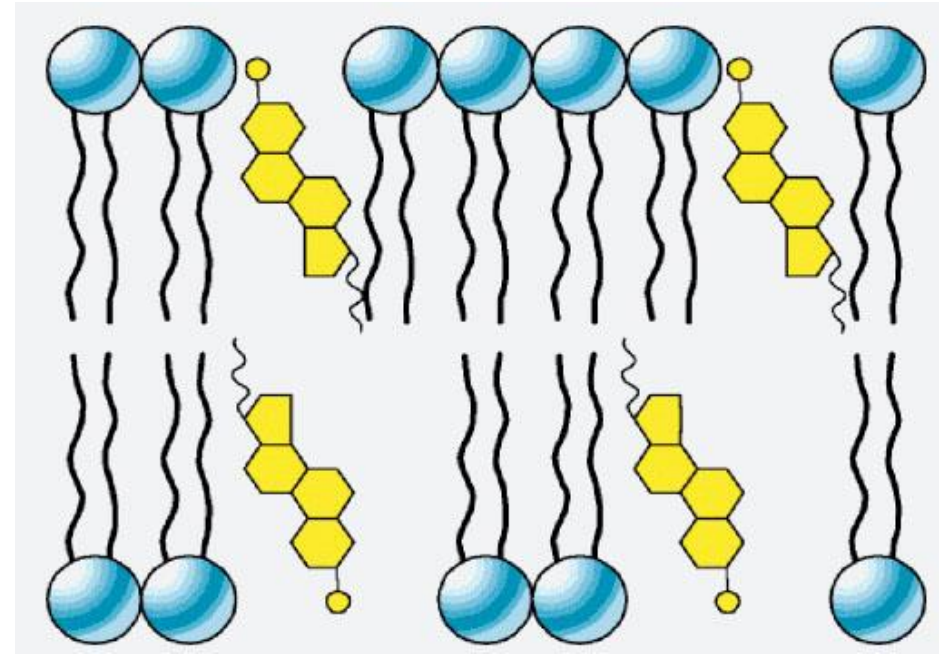
Estery cholesterolu jsou transportní formou cholesterolu – neobsahují hydrofilní část a dokáží se účinněji poskládat do lipoproteinů, které cholesterol transportují v krvi.



Cholesterol je klíčová součást buněčných membrán. Na 2 molekuly fosfolipidů připadá 1 molekula cholesterolu. Do membrány se zanoří svojí nepolární (hydrofobní částí) a ven kouká hydroxylová skupina (podobně jako fosfáty fosfolipidů).

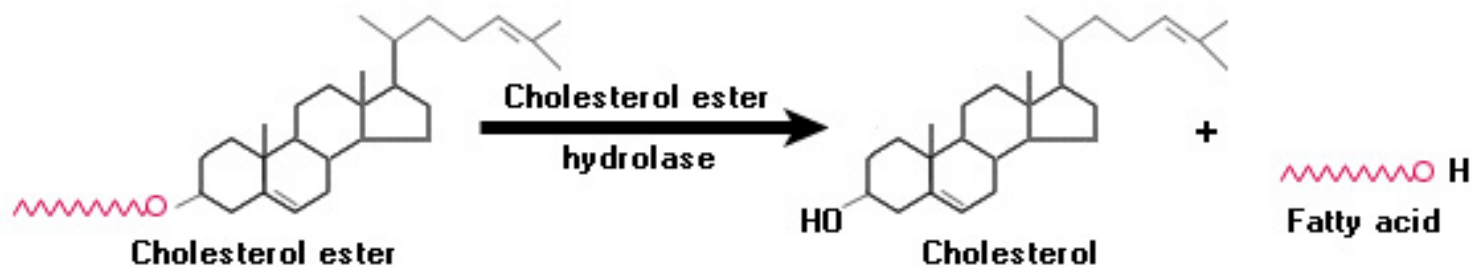
Cholesterol stabilizuje membránu. Hydrofobní část molekuly odděluje od sebe zbytky MK z fosfolipidů a brání jejich vzájemné interakci. Ty se nemohou k sobě efektivně naskládat a znemožňuje jim vytvářet krystalickou (tuhou) fázi.

Cholesterol tak zajišťuje, že se membrána chová jako tekutý krystal. Navíc zvyšuje i větší permeabilitu membrán.



Cholesterol je primárně získáván syntézou. Přesto průměrný člověk dokáže denně nasyntetizovat 1g cholesterolu, z potravy přijímá v průměru okolo 0,3g. Pokud ale tělo má dostatečný nebo vysoký příjem cholesterolu potravou, syntéza molekuly v buňce je zablokována.

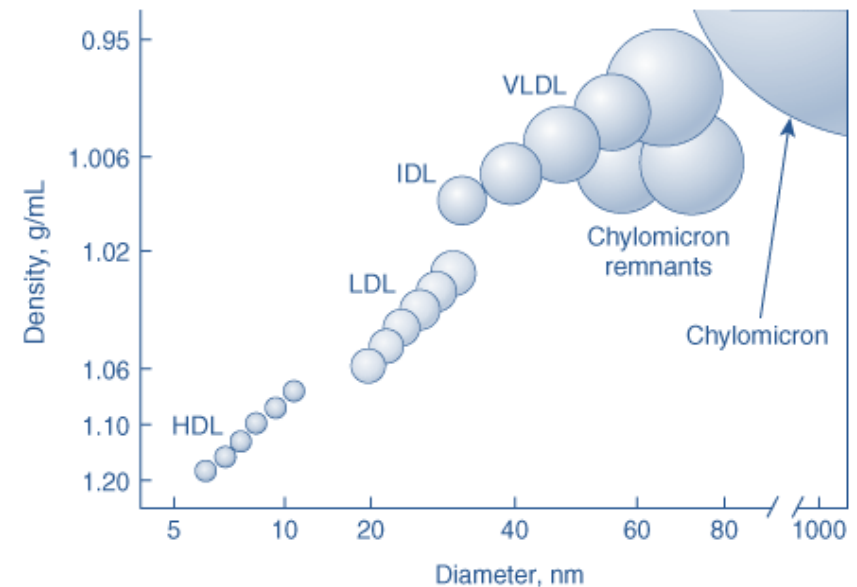
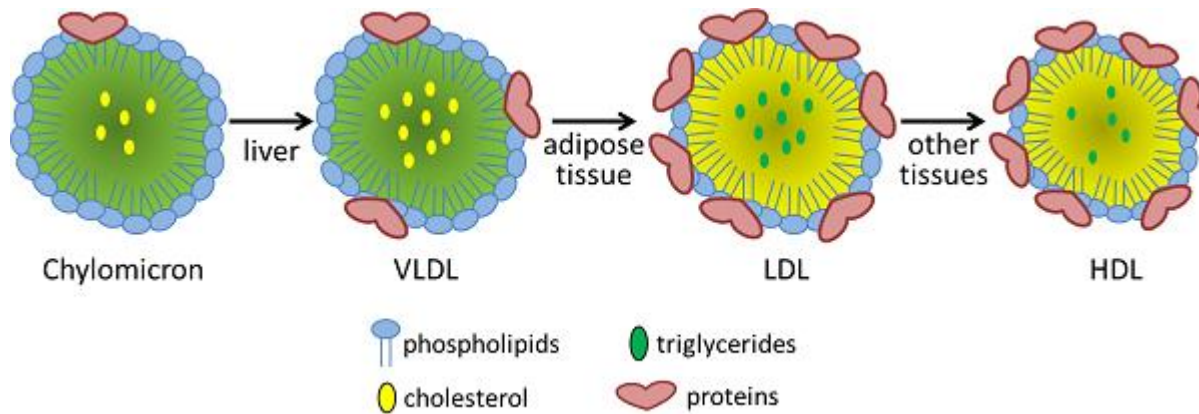
Velká část cholesterolu přijímána potravou je ve formě esteru a je špatně absorbována epitelu trávicího traktu. Proto je ester štěpen pankreatickým enzymem – **Cholesterol esterázou** na cholesterol a MK.



Cholesterol esteráza potřebuje pro svoji aktivitu **žlučové kyseliny**. Žlučové kyseliny stabilizují polymerní a aktivní formu enzymu a brání jeho degradaci proteázami. Enzym není specifický a štěpí i triacylglyceroly (TAG) a fosfolipidy. Volný cholesterol pak je snadno vychytáván enterocyty tenkého střeva.

Lipidy nejsou transportovány volně krví – protože nejsou rozpustné ve vodném prostředí. Výjimkou jsou MK s menším uhlíkatým řetězcem než 14C – vstupují rovnou do krve a jsou vychytávány játry.

MK s delším řetězcem jsou znovu esterifikovány do TAG a fosfolipidů a vytváří **lipoproteiny chilomikrony**, které jsou transportovány mizními cévami do krevního řečiště. **Lipoproteiny** jsou proteiny zajišťující transport lipidu v krvi.

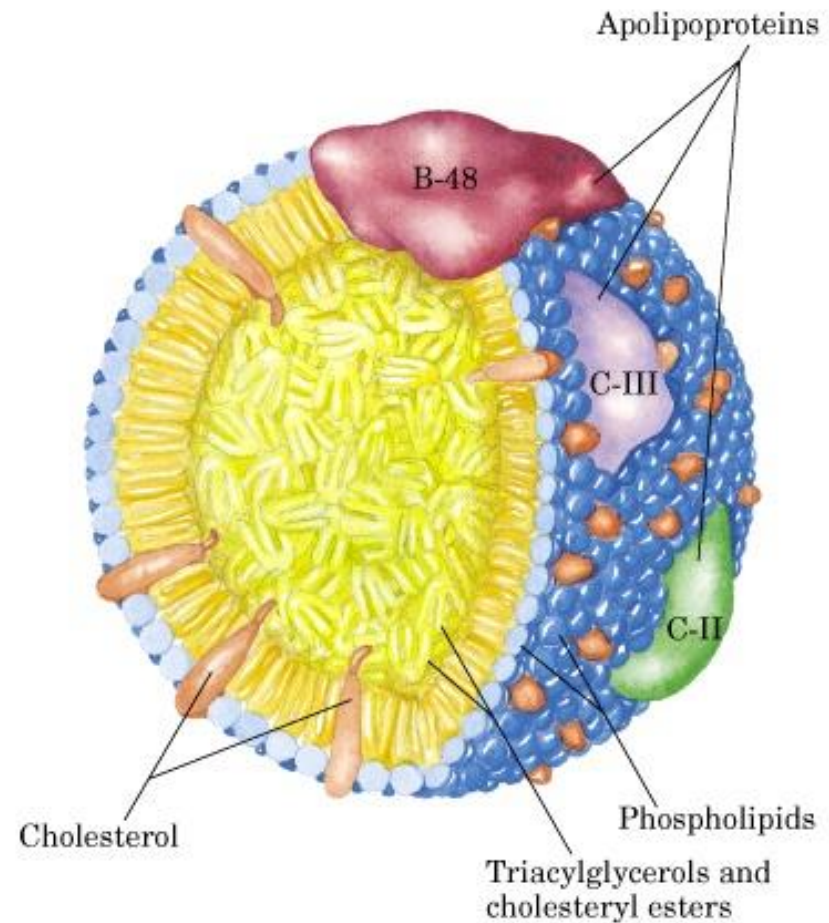


Chilomikron je částice obsahující okolo 89% TAG, 8% fosfolipidů, 2% cholesterol esteru a 1% speciálních proteinů určených pro transport lipidů – **apolipoproteiny**.

Chilomikron je jedním typem lipoproteinu. Transportuje lipidy – primárně TAG z enterocytů do tukových, srdečních a svalových buněk. Ty produkují lipázy a odštěpují jednotlivé komponenty z chilomikronů a vstřebávají je pro svoji potřebu.

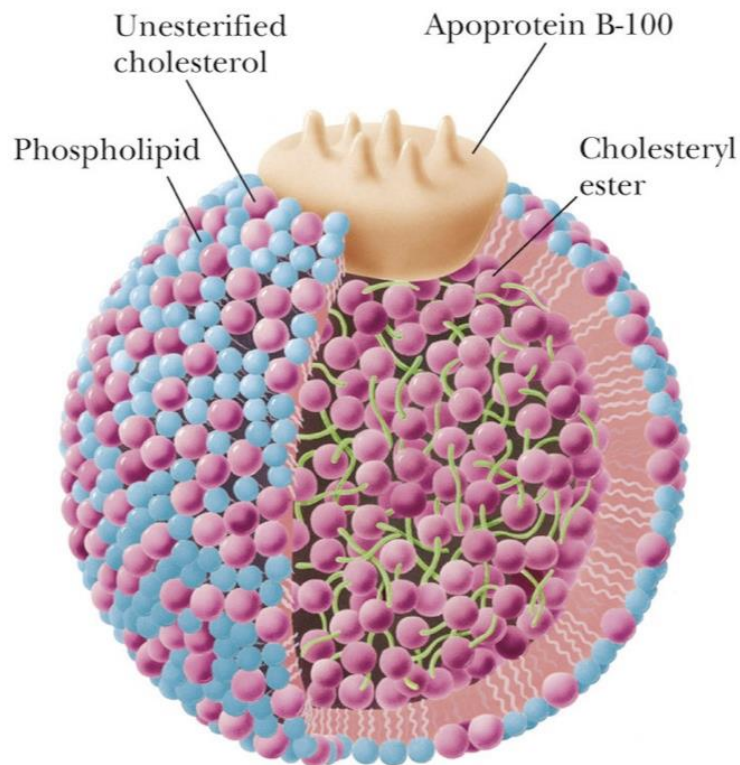
Chilomikron v krvi vyměňuje lipidický náklad s dalším typem lipoproteinu – **HDL (high density lipoprotein)**. Na oplátku dostává další apolipoproteiny – které slouží jako kofaktory **lipoproteinových lipáz (LPL)**.

Vyčerpaný chilomikron s nízkou hladinou TAG předává apolipoproteiny zpět HDL a následně je z krve vychytáván játry.



HDL je nejmenší z lipoproteinů s nejvyšším poměrem apolipoproteinů vůči lipidům. Apolipoproteiny jsou syntetizovány v játrech a společně s fosfolipidy vytváří nascentní HDL. Ten v membráně obsahuje minimální množství cholesterolu a díky tomu má plochý tvar.

Lipoproteiny transportují lipidy do buněk, HDL naopak lipidy z buněk do jater nebo do buněk metabolizující hormonální steroidy (vaječníky, varlata, nadledvinky).

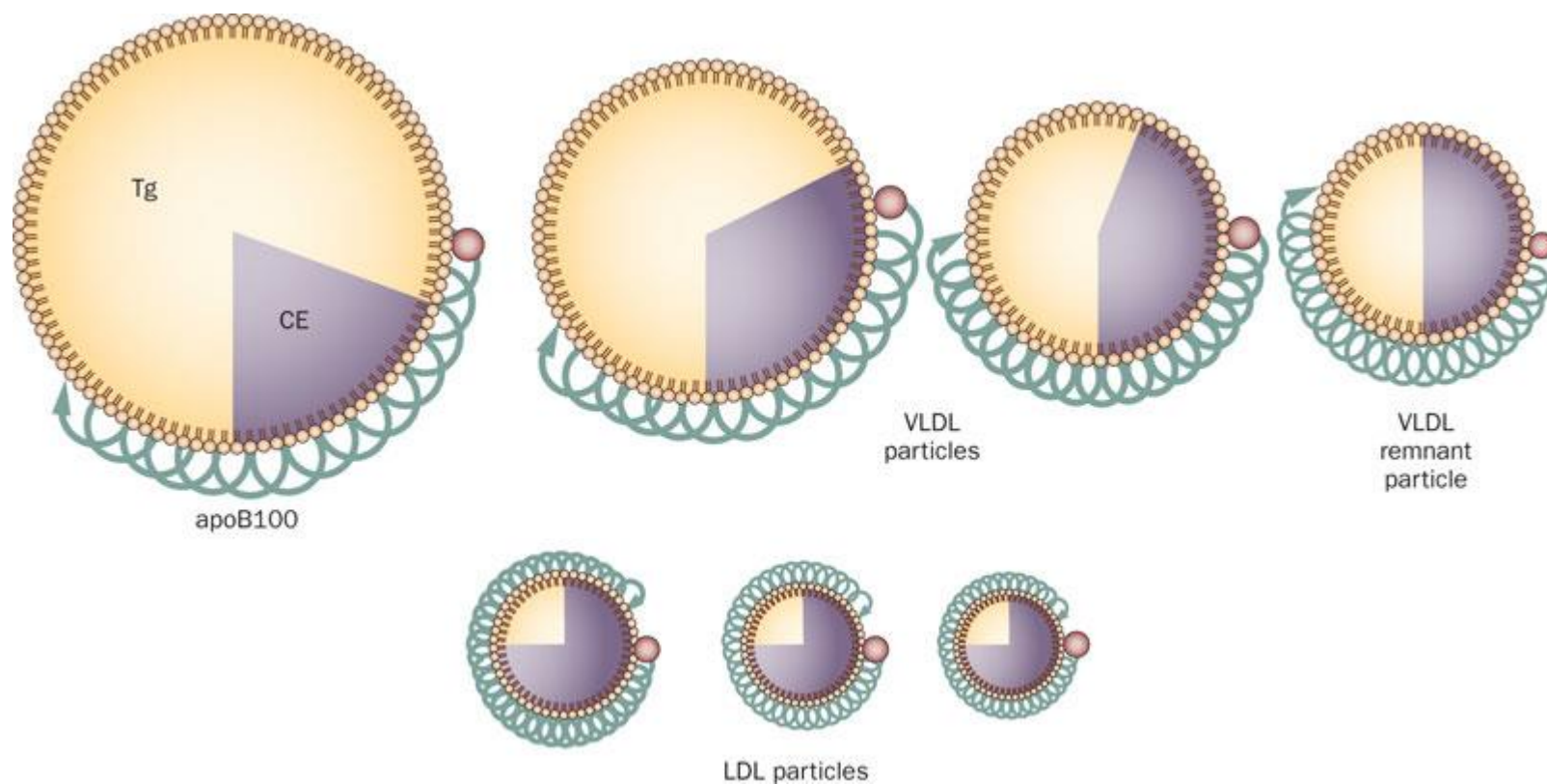


HDL je zachycen buněčnými receptory a sbírá z buněk TAG, fosfolipidy a cholesterol. HDL obsahuje enzym **Lecitin-cholesterol acyltransferázu** a konvertuje jej na estery cholesterolu. Ty se následně ukládají uvnitř HDL.

Zbylý cholesterol se ukládá do fosfolipidické membrány, dochází k zvětšení jejího povrchu a získává kulovitý tvar.

VLDL (very low density lipoprotein). VLDL je pravým opakem HDL a jak jeho název napovídá obsahuje vysoké procento nízkohustotních lipidů. Je produkován v játrech z TAG, cholesterolu, fosfolipidů a apolipoproteinů (některé z nich jako Apo C-II nebo ApoB získává až v krvi z HDL).

Oproti chilomikronům netransportuje lipidy z enterocytů, ale z jater. VLDL je zachycen receptory buněk adipocitů nebo kosterní a srdeční svaloviny. Lipoproteinové lipázy pak z nich rozkládají TAG na MAG a volné MK.

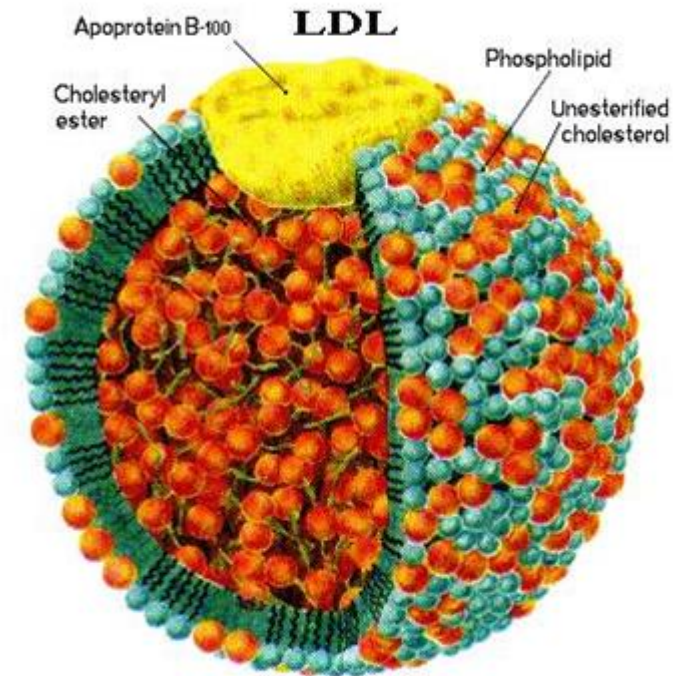


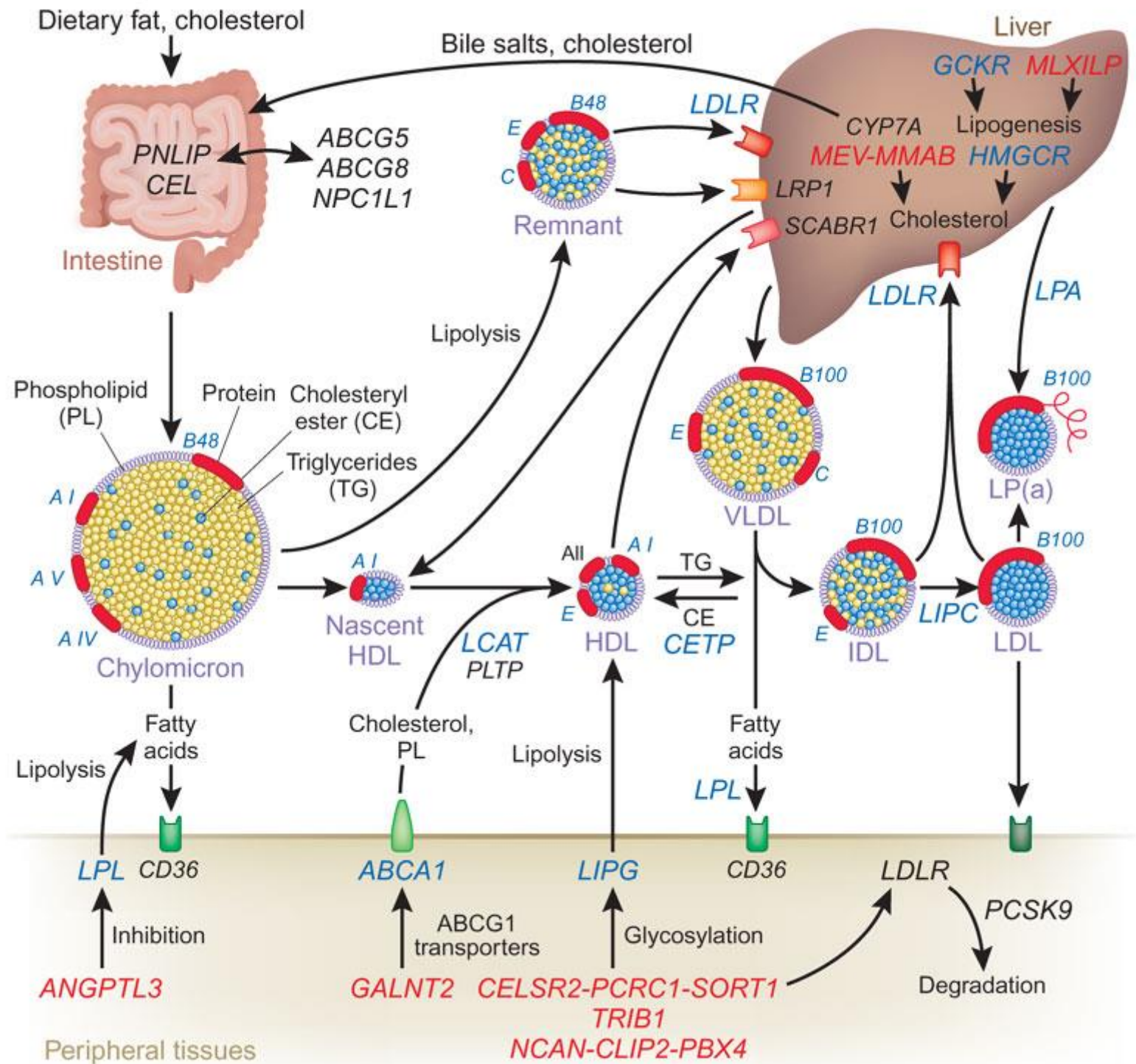
Po částečném vyčerpání TAG zásob se v krvi setkává znovu s HDL a předává mu Apo C-II. HDL naopak předává VLDL estery cholesterolu výměnou za fosfolipidy a zbylé TAG.

Vzniká nová lipoproteinová částice – **IDL (intermediate density lipoprotein)**.

Pokud je v lipoproteinu zásoba cholesterolu vyšší než TAG vzniká **LDL (low density lipoprotein)**.

IDL a LDL je zpětně vstřebáván játry. LDL navíc transportuje cholesterol k buňkám, kde slouží pro syntézu buněčných membrán. Pokud je ale hladina cholesterolu v krvi vysoká, dochází k blokaci tvorby receptorů, kterými játra LDL vychytávají.

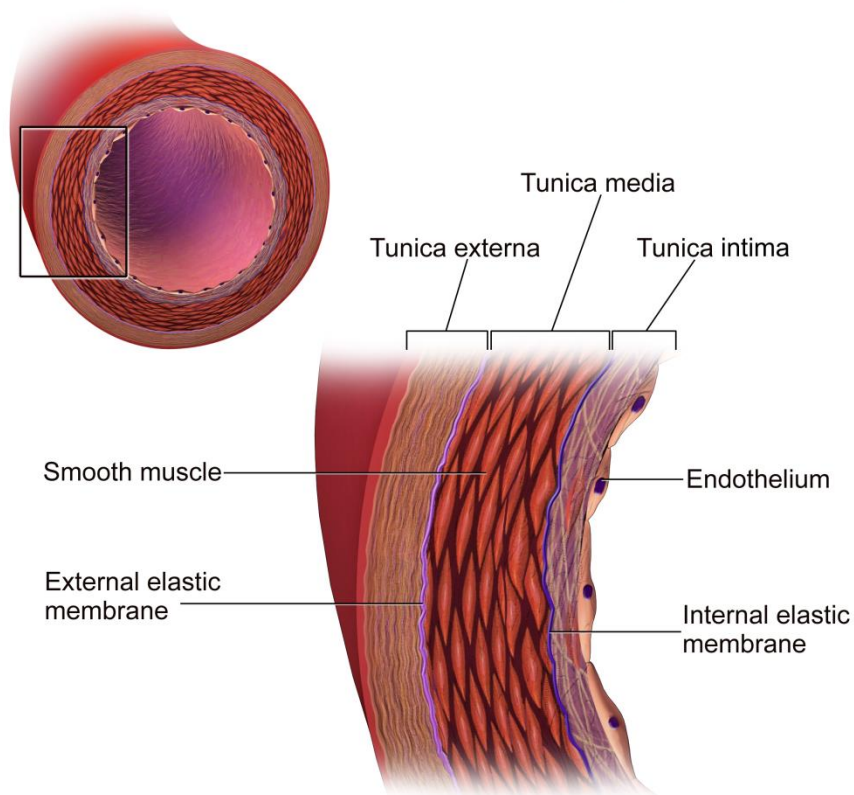




Pokud je v krvi vysoká hladina cholesterolu, blokuje produkci receptoru pro LDL. Ten se nezachytí na buňku a nedokáže transportovat cholesterol z buněk a LDL se hromadí v krvi.

LDL mají jednu velmi negativní vlastnost. Jsou natolik malé, že dokáží procházet vrstvou endoteliálních buněk (buněk tvořící vnitřní vrstvu cév). Pod endoteliálními buňkami se akumulují.

The Structure of an Artery Wall

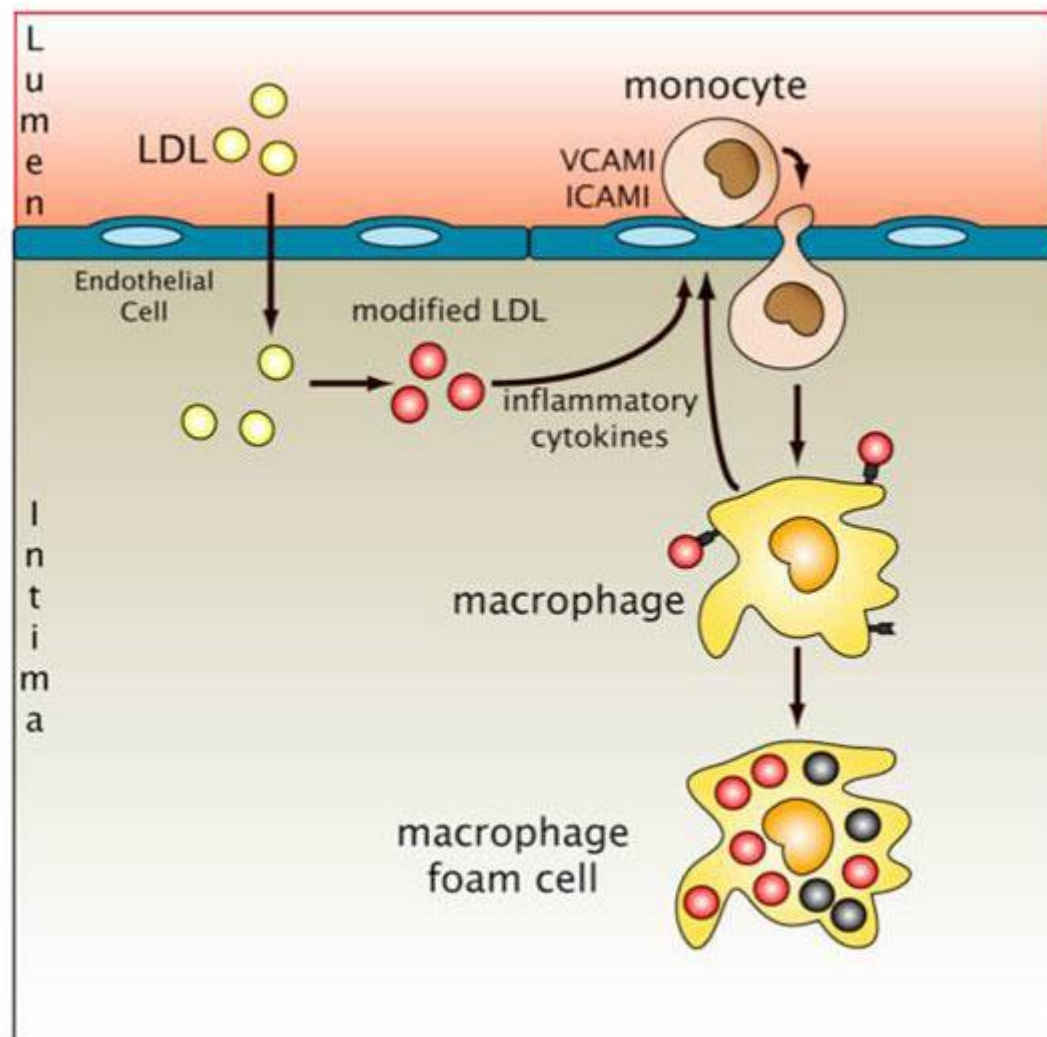


Steroly jsou molekuly náchylné k oxidaci, procesu během kterého mohou být do okolí LDL vypouštěny volné radikály. Steroly oxidují i v buněčných membránách, ale v LDL jsou pro jejich oxidaci příznivější podmínky.

Kyslíkové radikály aktivují endoteliální buňky, které přilákají do místa akumulace monocyty.

Monocyty pronikají k LDL a transformují se na specializovaný makrofág, který začne LDL požírat.

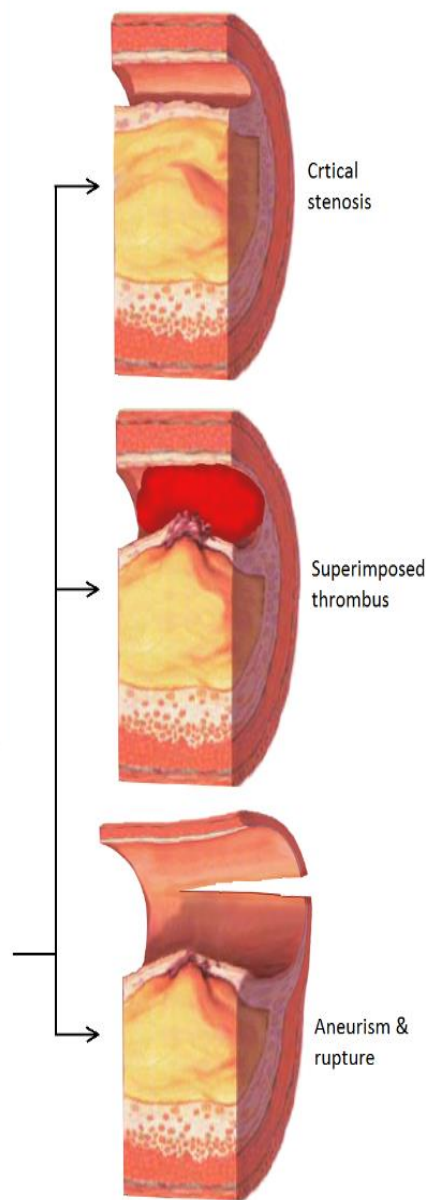
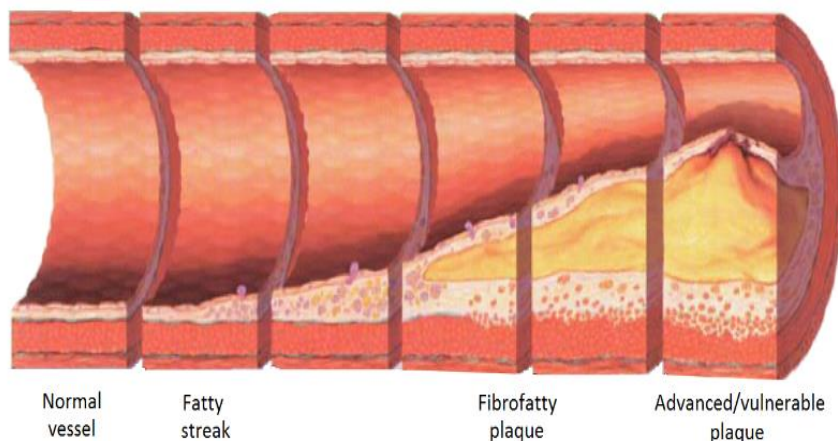
Začínají se plnit lipidy a vznikají tzv. **Pěnové buňky**. Ty se snaží společně s HDL cholesterol dostat zpět do oběhu.



Přesto pokud je množství LDL příliš vysoké, pěnová buňka se stává součástí plaku. Absorbují další LDL částice, které oxidují a vytváří větší množství kyslíkových radikálů. Jsou nalákány další makrofágy a počet pěnových buněk narůstá.

Oblast plaku může být obaleno fibrozním krytem, čímž se v cévě lokálně zvyšuje hladina kolagenu a mění se fyzikální vlastnosti její stěny (kornatění cév).

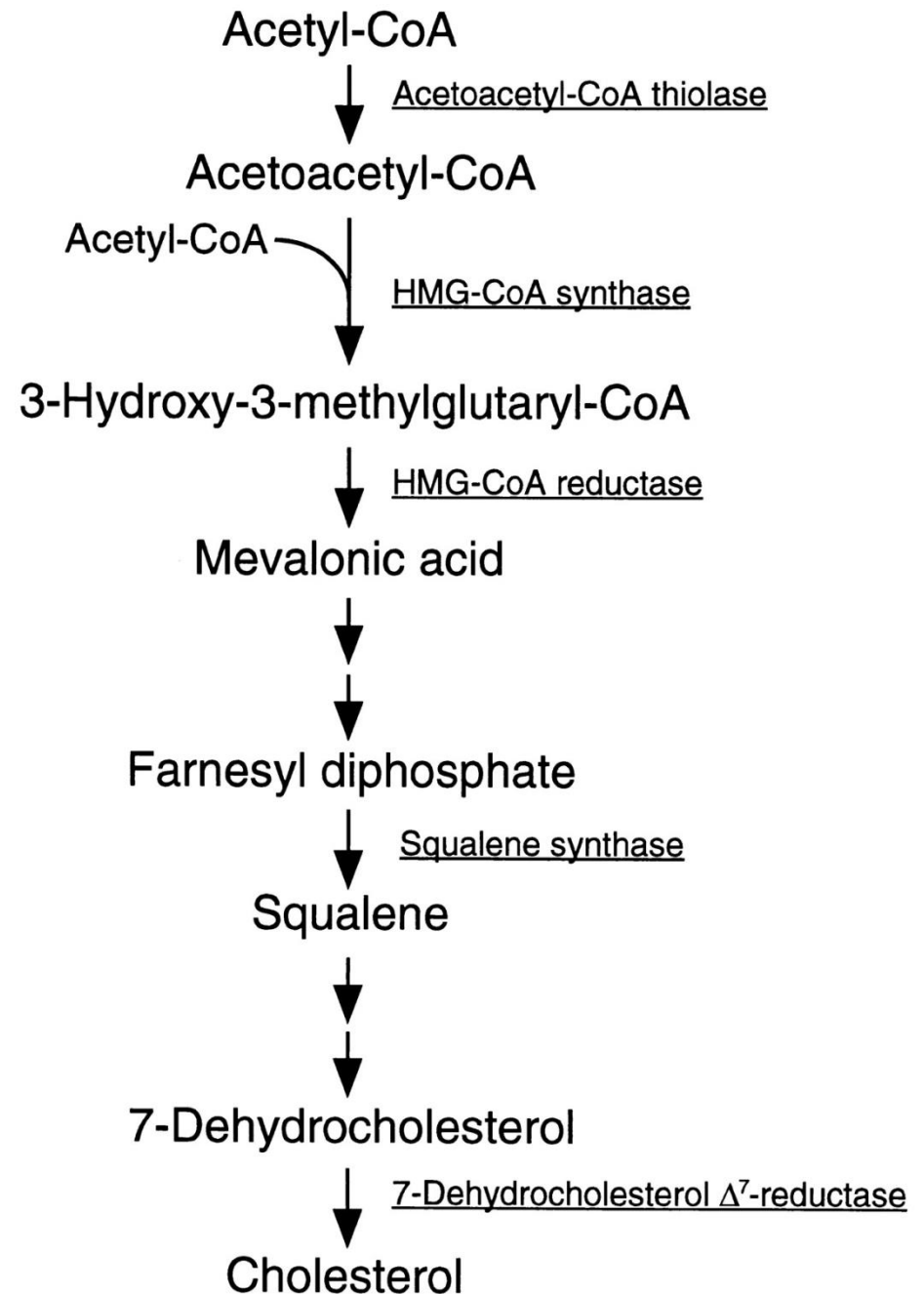
Aterosklerotický plak může postupem času cévu ucpat nebo jeho narušením vznikat trombóza – krevní sraženina, která se může uvolnit a vyvolat embolii.



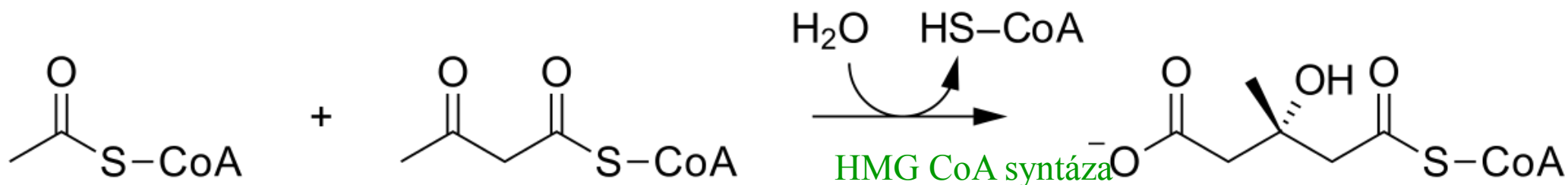
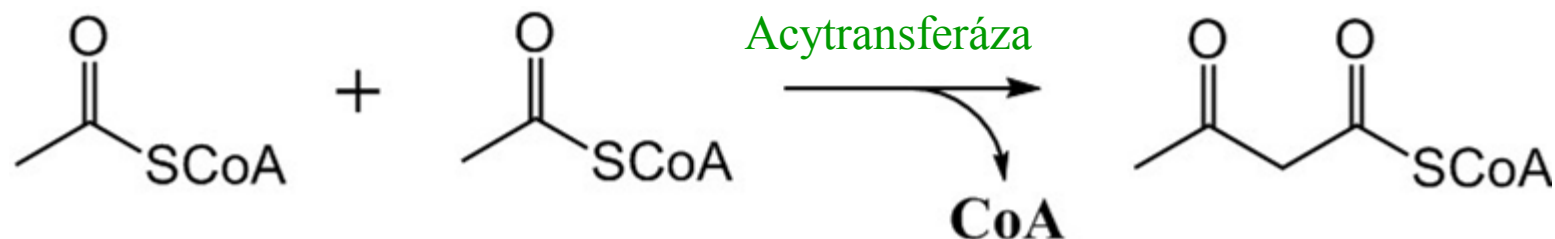
Syntéza cholesterolu

Kromě cholesterolu z potravy si buňky dokáží molekulu syntetizovat sami (nejčastěji ve střevních a jaterních buňkách).

Syntéza cholesterolu probíhá částečně v cytosolu a endoplazmatickém retikulu. Vstupní molekulou je **Acetyl-CoA**.



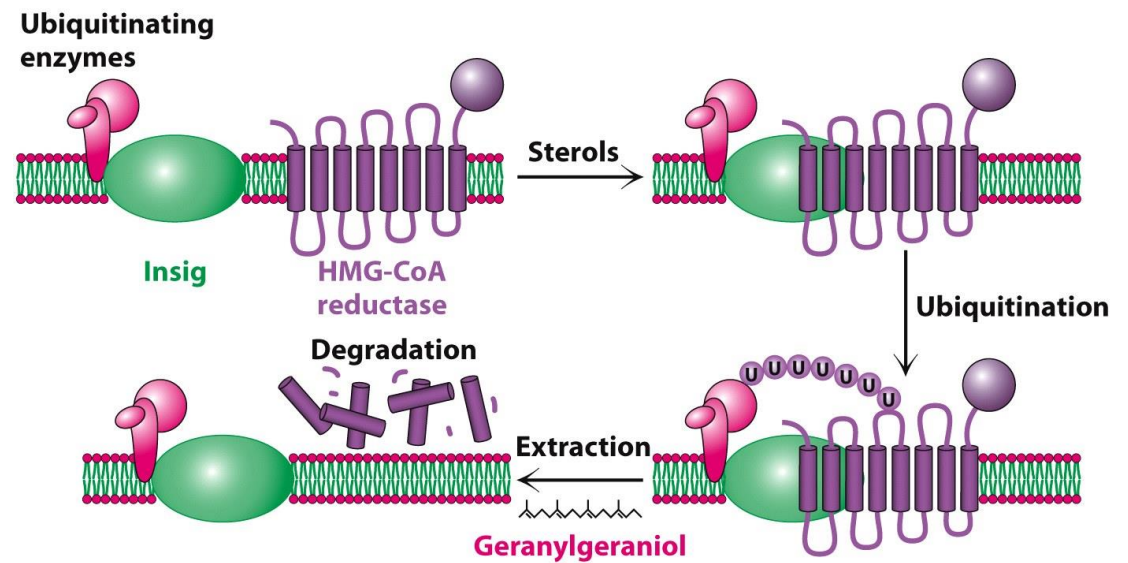
Cholesterol je složitá molekula a proto je jeho syntéza rozložena do velkého množství enzymatických reakcí. V první fázi dochází k sloučení 3 acetylových zbytků a vzniku **3-hydroxy-3-metyl glutaryl CoA (HMG-CoA)**.



V další fázi je **HMG-CoA** redukována enzymem **HMG-CoA reductázou**. Během redukce dochází k oxidaci dvou molekul NADPH na NADP⁺. CoA se uvolňuje z enzymu a vzniká produkt – **Mevalonát**.

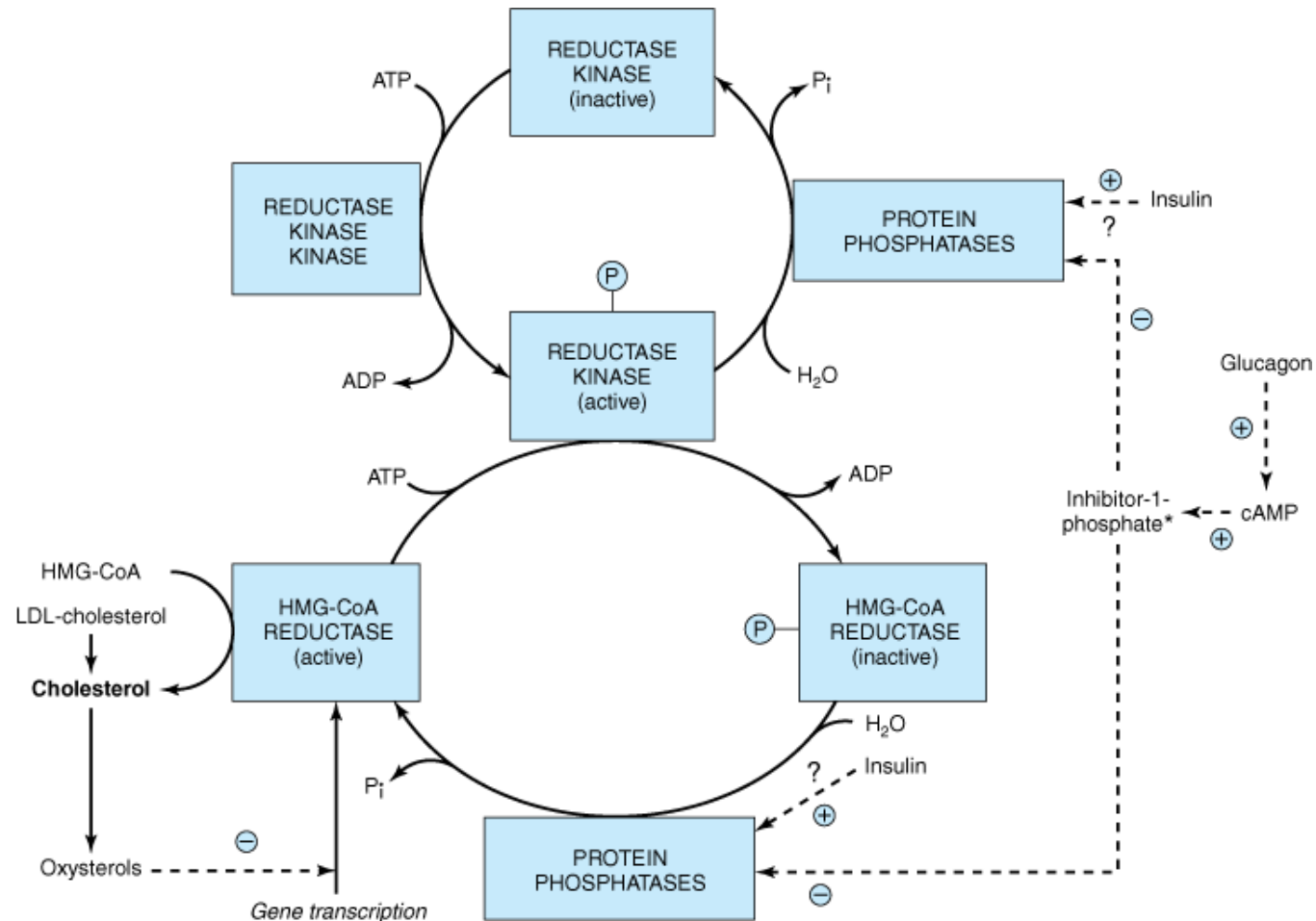


Reakce je nevratná a slouží jako klíčový krok v regulaci syntézy cholesterolu. Enzym je inhibován vysokou koncentrací cholesterolu. Protein je ukotven v membráně ER a obsahuje doménu citlivou na přítomnost cholesterolu. Cholesterol aktivuje vazbu ubiquitinu (malého proteinu, který značí proteiny určené k degradaci).

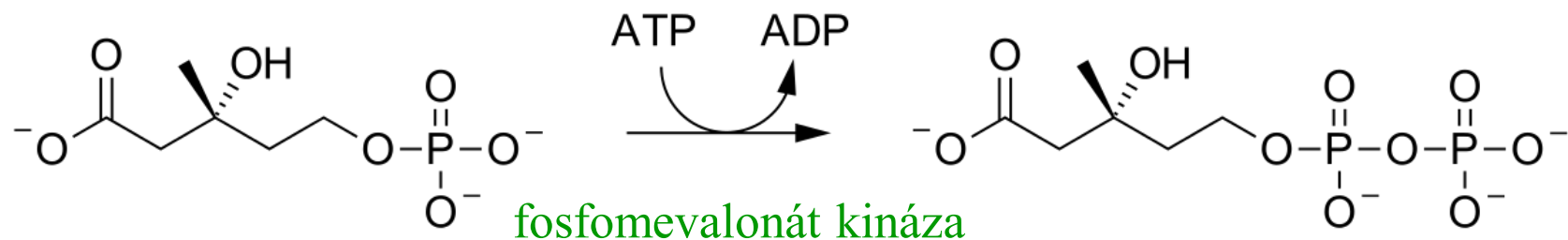
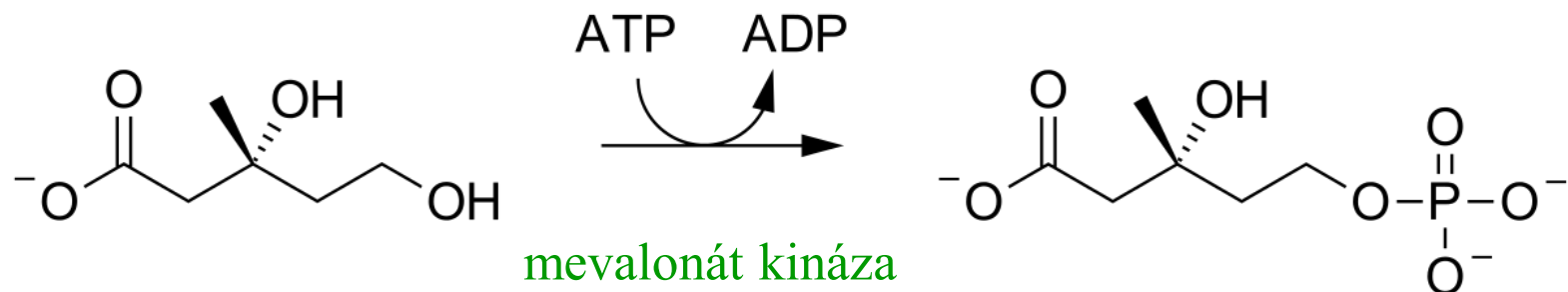


HMG-CoA reductáza je inhibována také při nízké hladině v krvi přes hormony. Inzulín a tyroxin aktivují přes vazbu k buněčnému receptoru signální dráhu a fosforylaci enzymu kinázou. Odstranění fosfátu a inhibici enzymu zase zprostředkovává glukagon a glukokortikoidy.

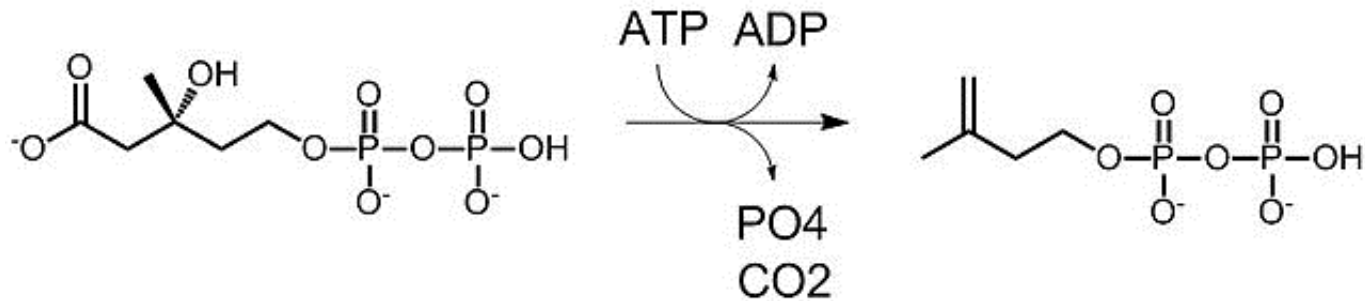
Statiny jsou látky, které inhibují HMG-CoA reductázu a zabraňují buňkám si syntetizovat vlastní cholesterol. Ty musí využívat více cholesterolu z krve.



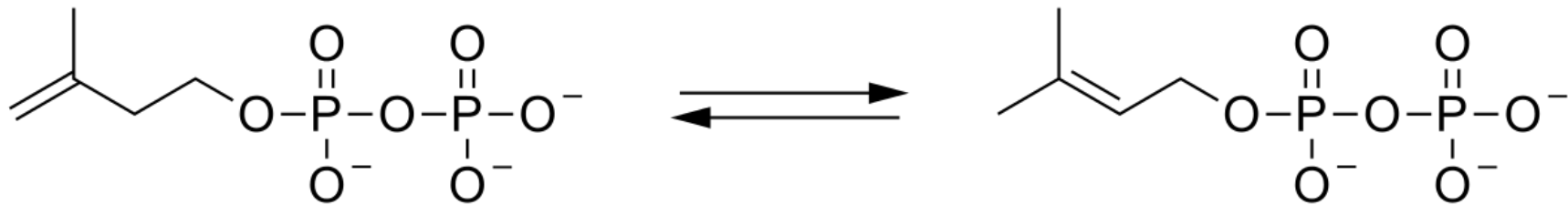
Biosyntéza cholesterolu pokračuje fosforylaci **mevalonátu** dvěmi molekulami ATP na **5-difosfomevalonát**. Fosforylaci zajišťují dva rozdílné enzymy – první fosfát připojuje **mevalonát kináza**, druhý **fosfomevalonát kináza**.



Aktivovaná molekula **5-difosfomevalonátu** je podrobena dekarboxylaci (odštěpení CO_2) **difosfomevalonát karboxylázou**. Reakce vyžaduje hydrolyzu další molekuly ATP. Produktem je **Isopentenyldifosfát**. Ten společně s **dimetylallyldifosfátem** slouží jako stavební kámen pro cyklickou molekulu sterolu (izoprenoidní jednotky).



Isopentenyldifosfát a **dimetylallyldifosfát** jsou izomery, lišící se polohou dvojných vazby v molekule. Jejich vzájemná přeměna je katalyzována **Isopentenyldifosfát Izomerázou**.



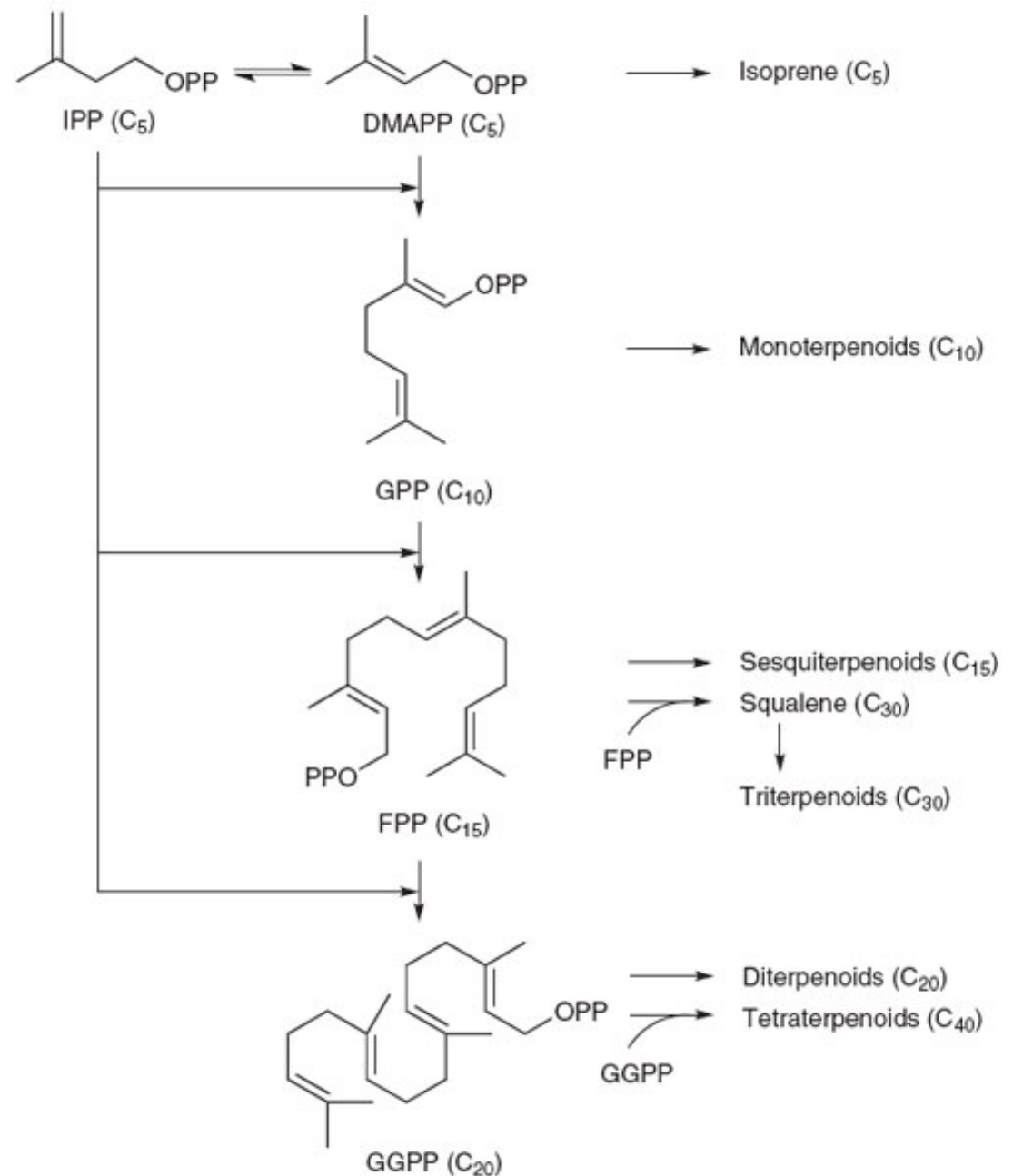
Isopentenyldifosfát

dimetylallyldifosfát

V dalších krocích vzniká sloučením **Isopentenyl-difosfátu** a **dimethyl-allyl-difosfátu** doprovázená hydrolýzou koncového pyrofosfátu (PPi) – 10C izoprenoid **Geranyl-difosfát**.

Poté se naváže další Isopentenyl-difosfát a vzniká 15C **farnesyl-fosfát**.

2 molekuly **farnesyl-fosfátu** jsou enzymem **Skvalen syntázou** spojeny a vzniká dlouhá lineární molekula – **skvalen** (30C). Během reakce dochází k redukci NADPH na NADP+.

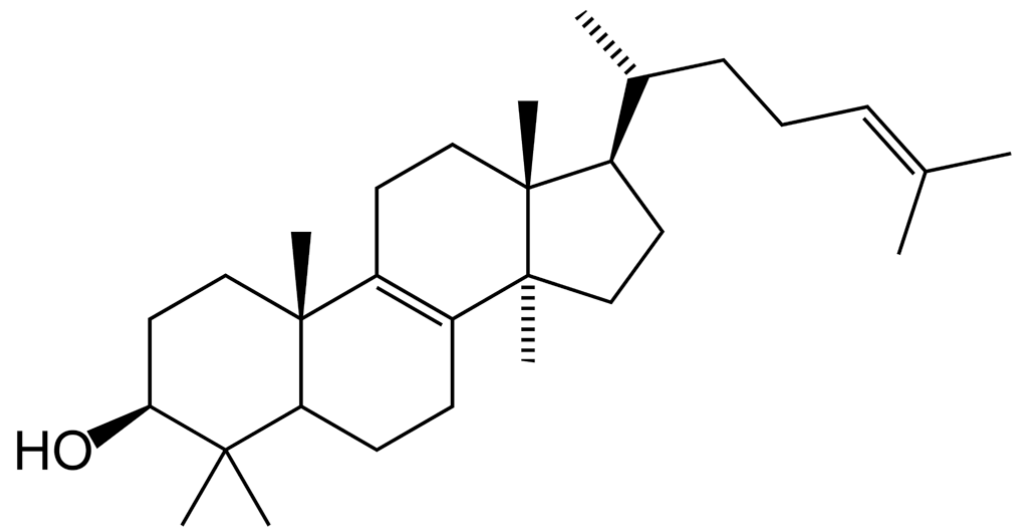
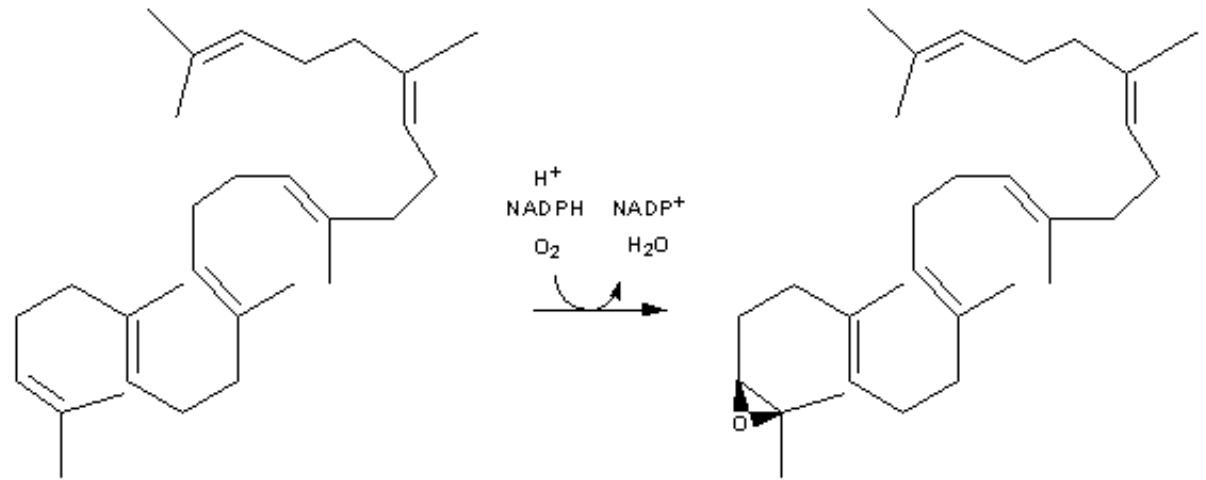


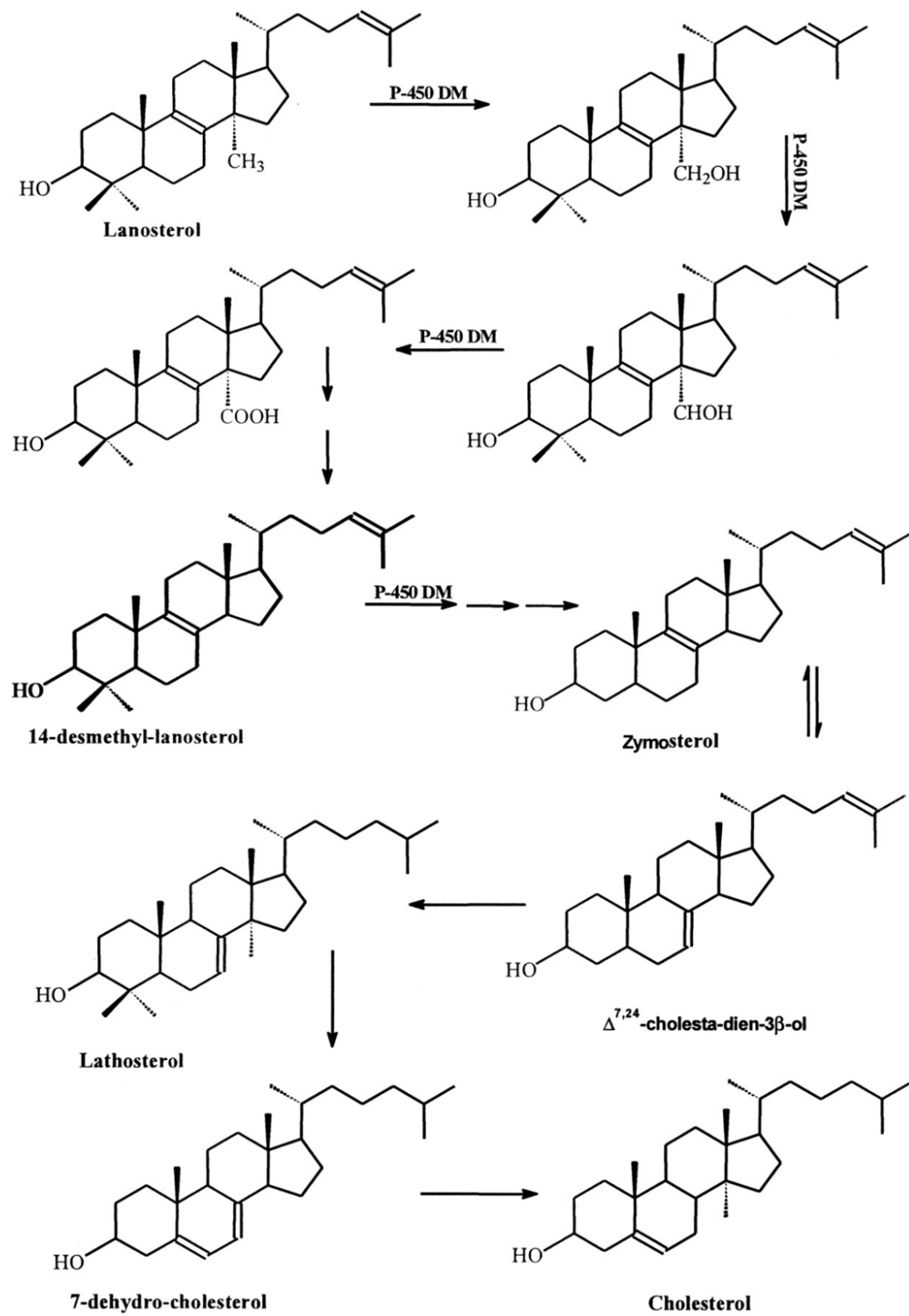
Další fáze reakce nejsou příliš prozkoumané. Enzym **Skvalen monooxygenáza** váže na molekulu kyslík – vzniká **skvalen epoxid** (*epoxid je atom kyslíku vázající se dvěma vazbami k uhlíkům, které jsou také propojeny vzájemnou vazbou*).

Druhý atom kyslíku je redukován NADPH a H^+ na H_2O .

Skvalen se pak cyklizuje **Skvalen syntázou** a vytváří první molekulu podobnou sterolu, **lanosterol**.

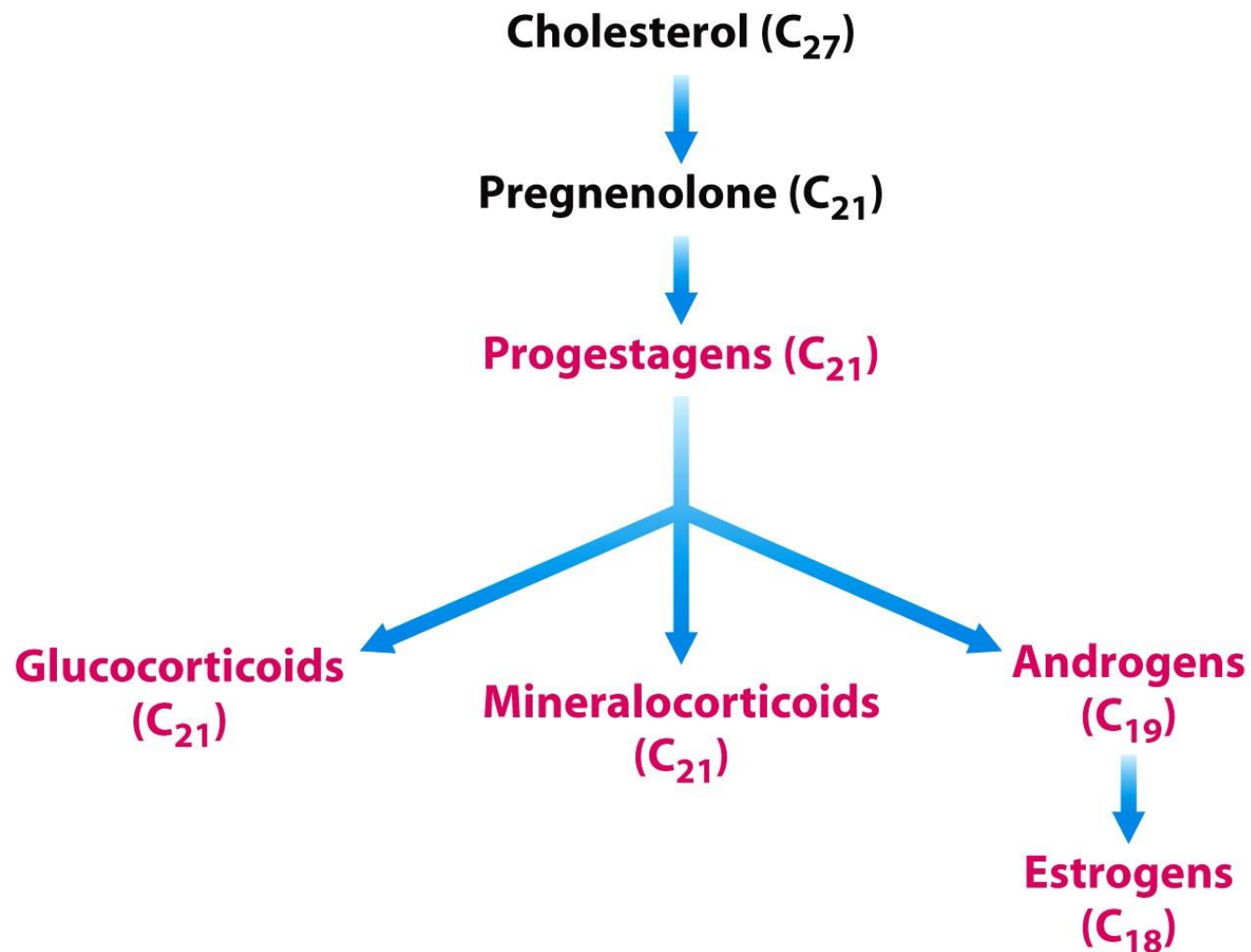
Lanosterol je následně v dalších 19 enzymatických reakcích přeměněn na **cholesterol**.



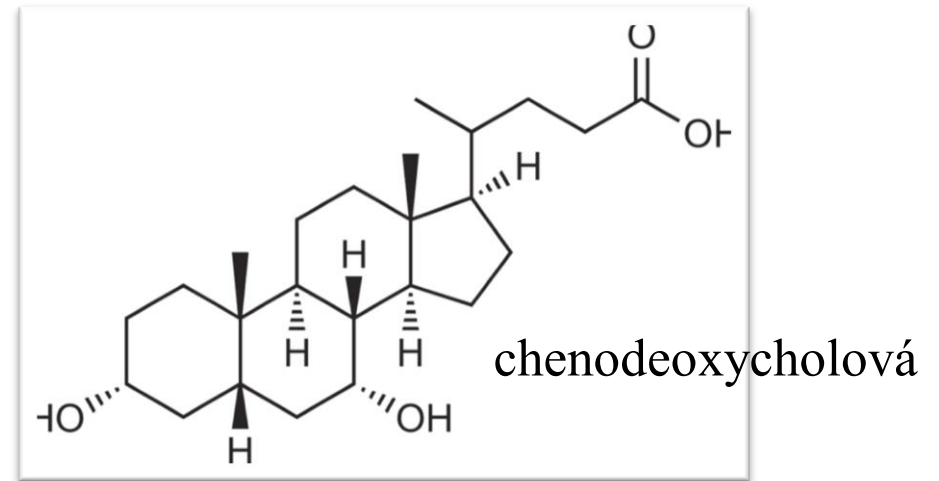
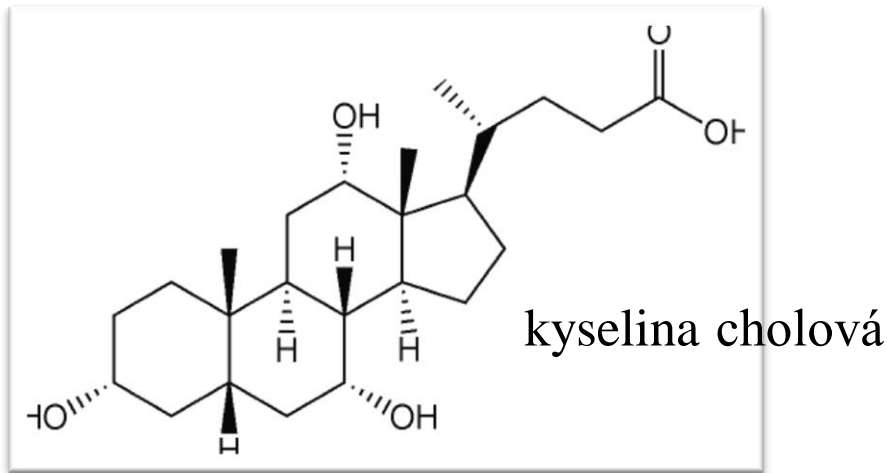


Cholesterol není v buňkách degradován. V případě jeho nadbytku může být využita dvěma cestami – buďto využity pro syntézu **steroidních hormonů** (které jsou pak v játrech konjugovány s glukuronovou kyselinou a dostávají se ven z těla močí).

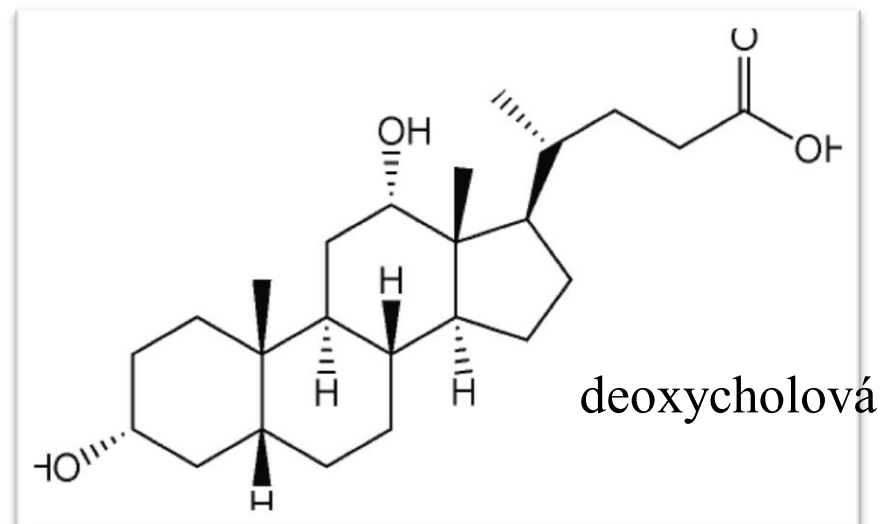
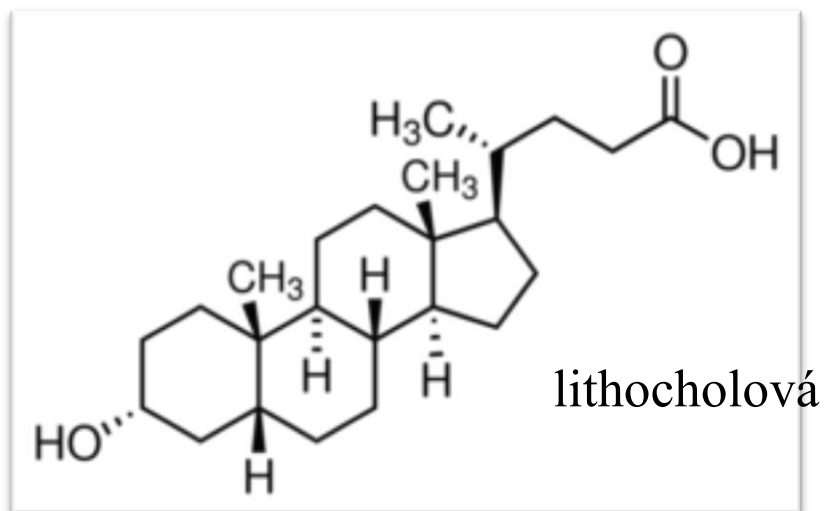
Nebo slouží v játrech pro syntézu **žlučových kyselin**.



Žlučové kyseliny (kyselina cholová a chenodeoxycholová) jsou syntetizovány v játrech z cholesterolu a následně skladovány ve žlučníku. Ještě před tím ale vytváří konjugované soli s taurinem nebo glycínem.

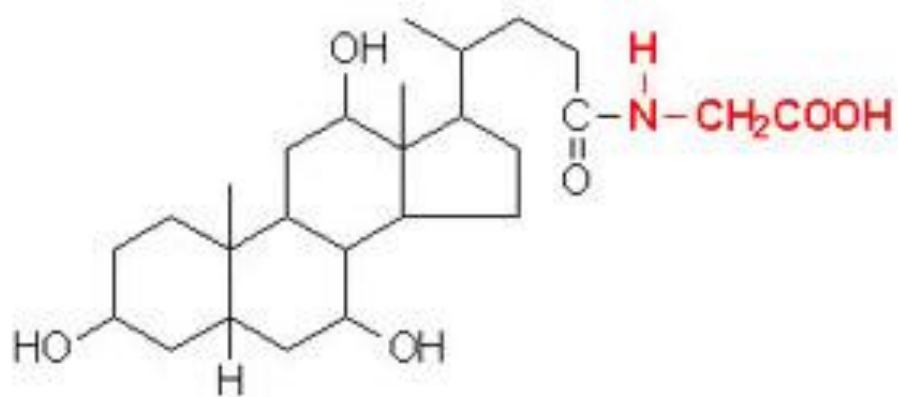


Ve střevě jsou soli žlučových kyselin pohlcovány bakteriemi, které využívají svůj metabolický aparát ke vzniku tzv. Sekundárních žlučových kyselin (**kyselině lithocholové a deoxycholové**).

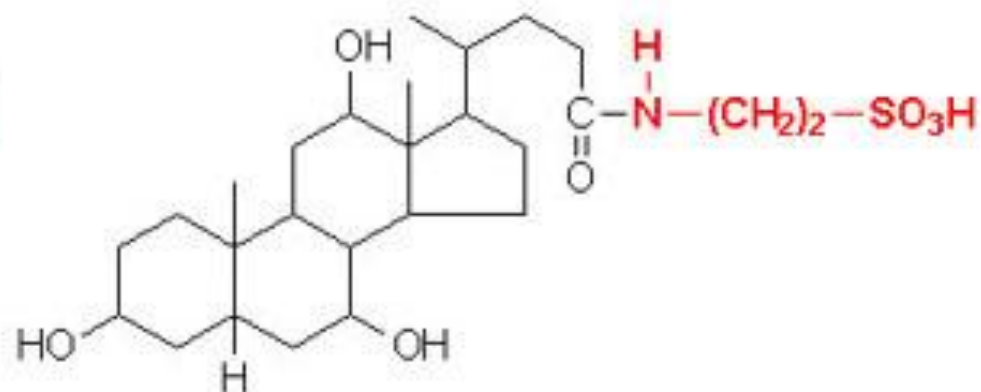


Žlučové kyseliny mají hodnotu pKa 5-6,5. V místě svého působení, dvanáctníku je ale pH podstatně nižší (3 – 5). Proto by se zde nacházeli v protonované formě HA, která má nízkou rozpustnost ve vodě.

Konjugací a vznikem solí se pKA sníží na 1-4 a ve dvanáctníku se chovají jako kyseliny. Deprotonovaná formy A⁻ dává molekule náboj a zvyšuje její rozpustnost.



Glycocholic acid

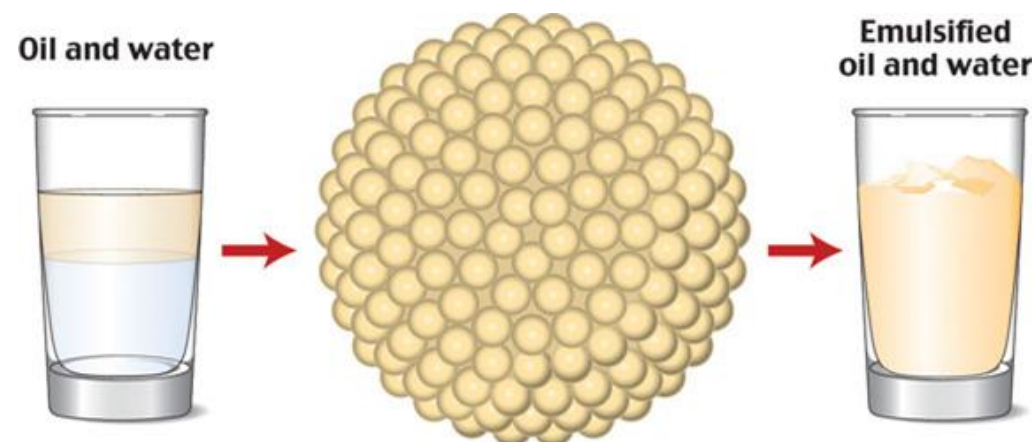
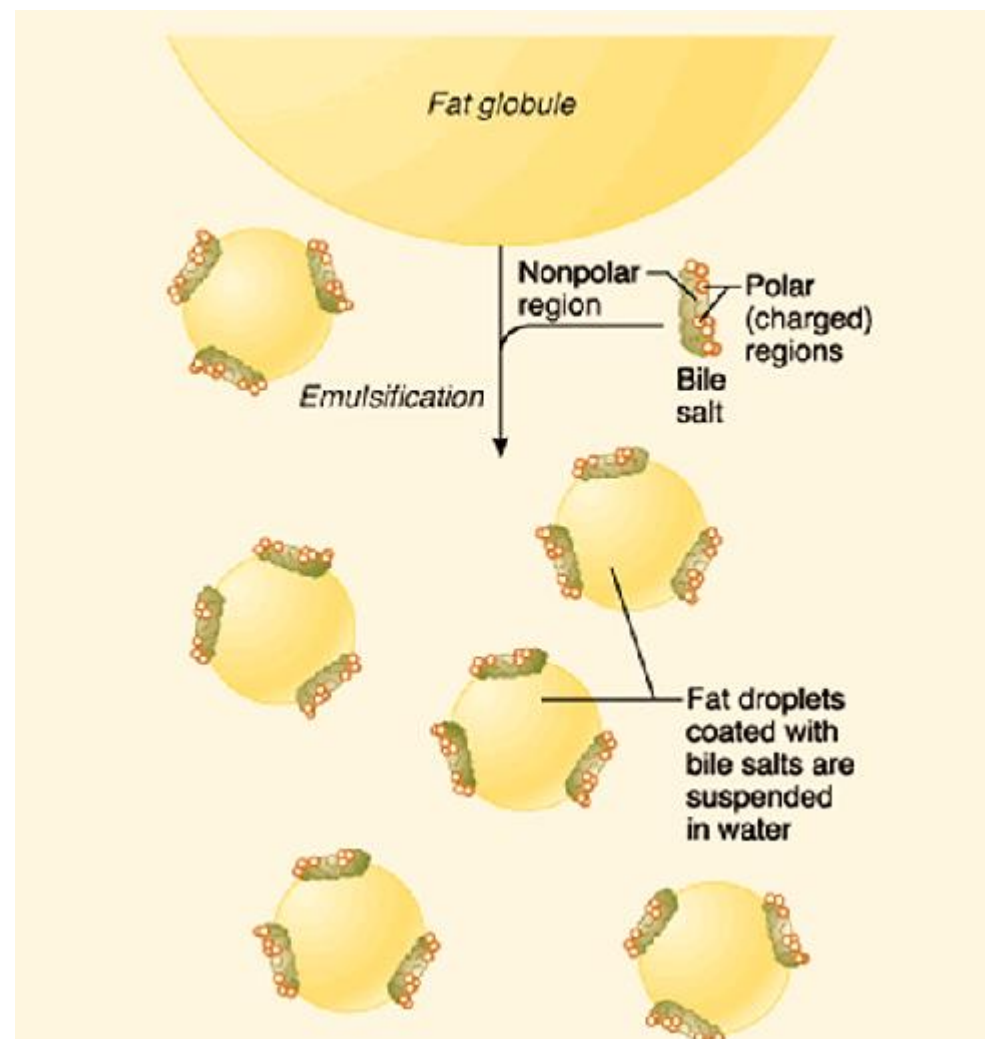


Taurocholic acid

Žlučové kyseliny jsou amfipatické molekuly. Hydrofobní region tvoří steroidní část molekuly, hydrofilní část tvoří hydroxylové skupiny a glycin/taurin.

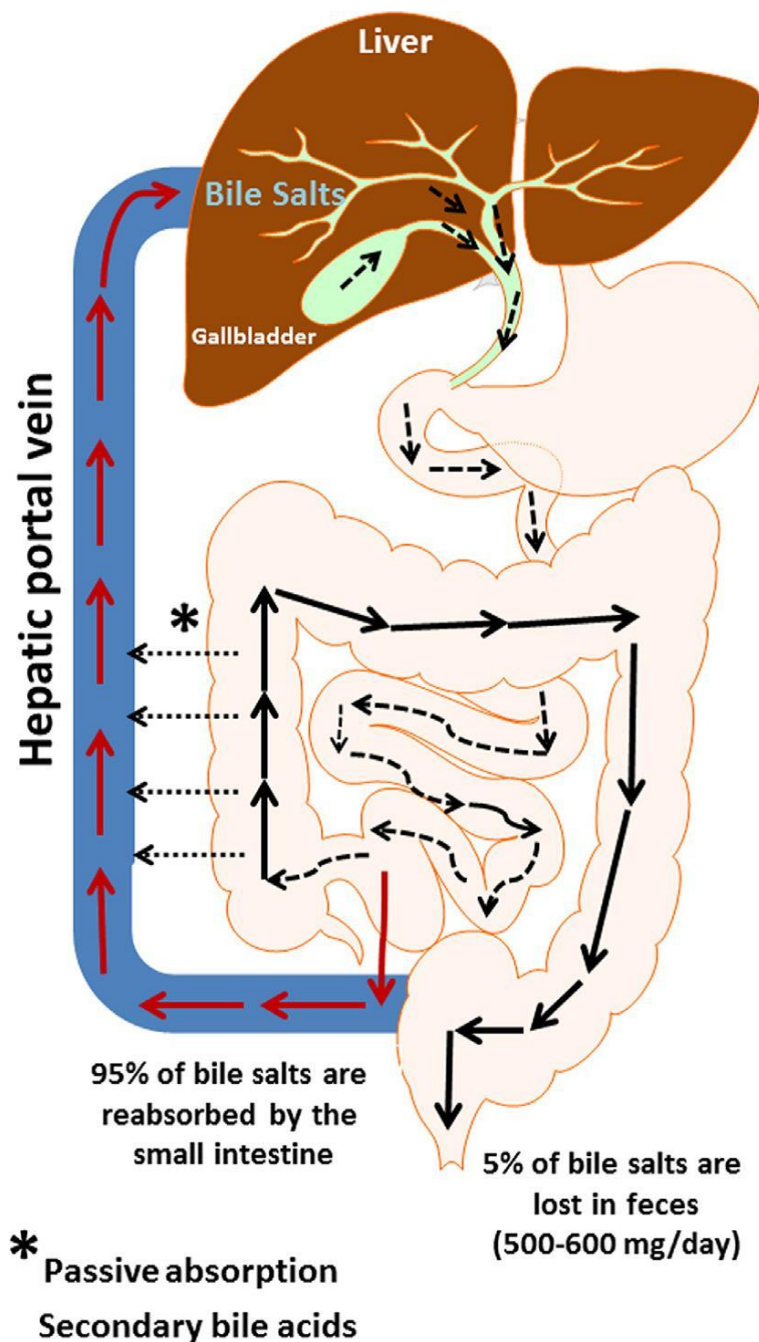
Žlučové kyseliny se podílejí na emulzifikaci tukových kapiček, zvětšení jejich povrchu a usnadnění štěpení TAG a fosfolipidů lipázami. Dělají to tak, že se vnoří do lipidické části svojí hydrofobní částí molekuly. Hydrofilní část je orientovaná ven.

Vazba dalších žlučových kyselin vede ke snížení povrchového napětí v tukové kapce a její defragmentaci do menších lipidických micel. V micelách je glycerolová část TAG orientovaná směrem k vodné fázi a přístupná k vazebným místům **Lipáz**.



Až polovina nově syntetizovaného cholesterolu je využita k produkci žlučových kyselin. Játra sekretují 12 – 18 g, ale v těle se nachází pouze 6g (tzn. Že kyseliny jsou recyklovány).

95% žlučových kyselin jsou ve střevě zpětně resorbovány přes enterocyty do krve a vychytávány játry. Zbytek společně s malým množstvím cholesterolu je metabolizována bakteriemi a vylučována stolicí.



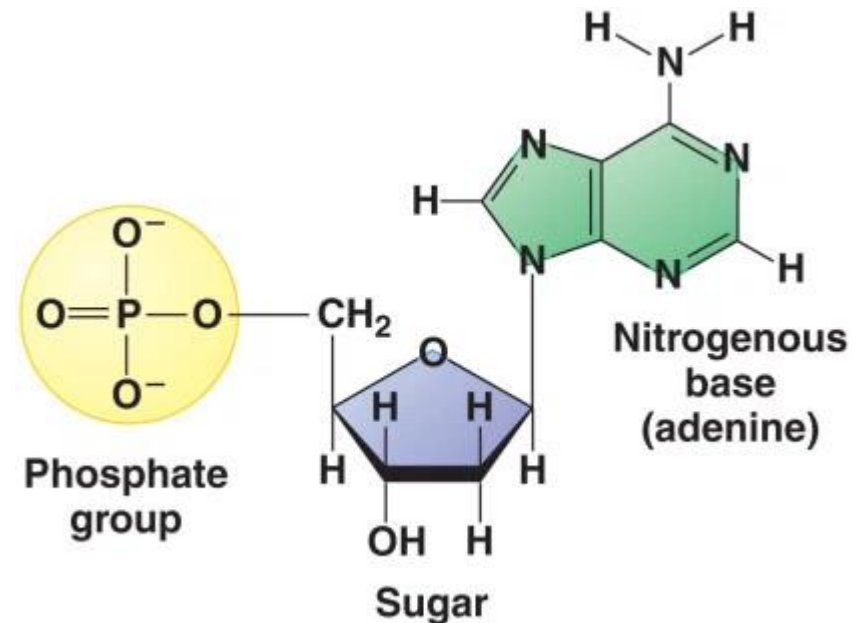
Metabolismus nukleových kyselin

Nukleové kyseliny

Makromolekula DNA a RNA jsou nositeli genetické informace.

Skládá se z **nukleotidů**, jejíž hydrolýzou dostaneme 3 základní složky - **dusíkatou bázi, pentózu (ribóza, deoxyribóza) a fosfát**.

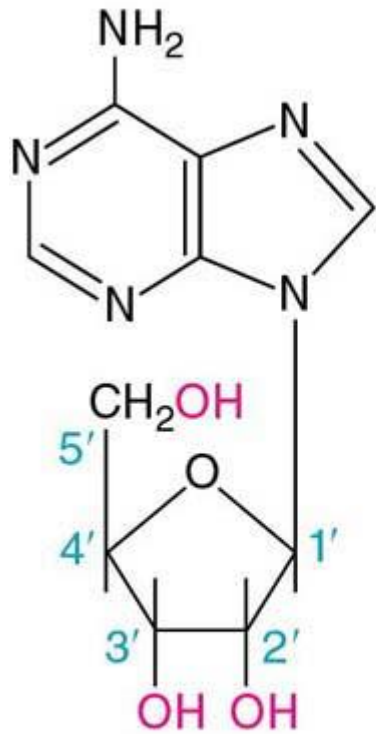
Nukleotid s chybějícím fosfátem se nazývá nukleosid.



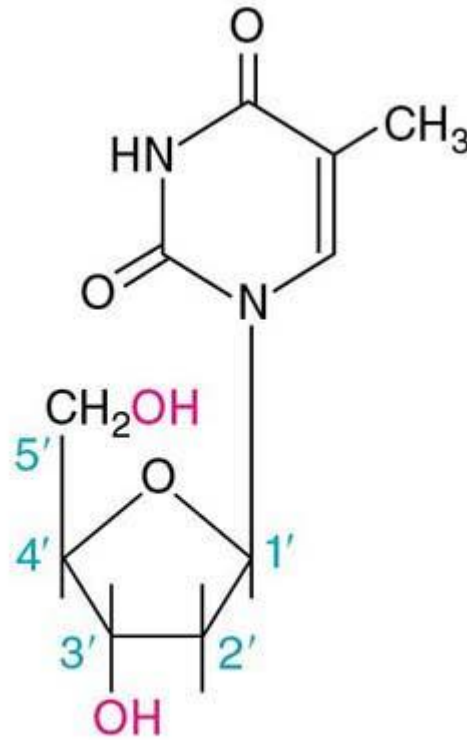
DNA (deoxyribonukleová kyselina).

RNA (ribonukleová kyselina).

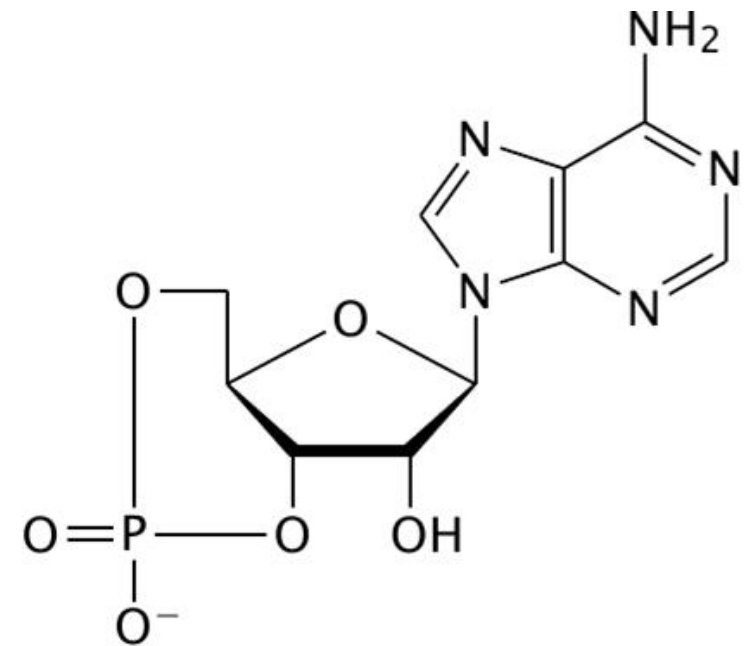
Kromě genetické informace jsou nukleotidy využívány jako zásoba energie (**ATP, GTP, UTP, CTP**), jsou součástí signálních drah (**cAMP, cGMP**) a kofaktorů (**FAD, FMN, NADH, NADPH, CoA**).



Adenosine



2' -deoxythymidine



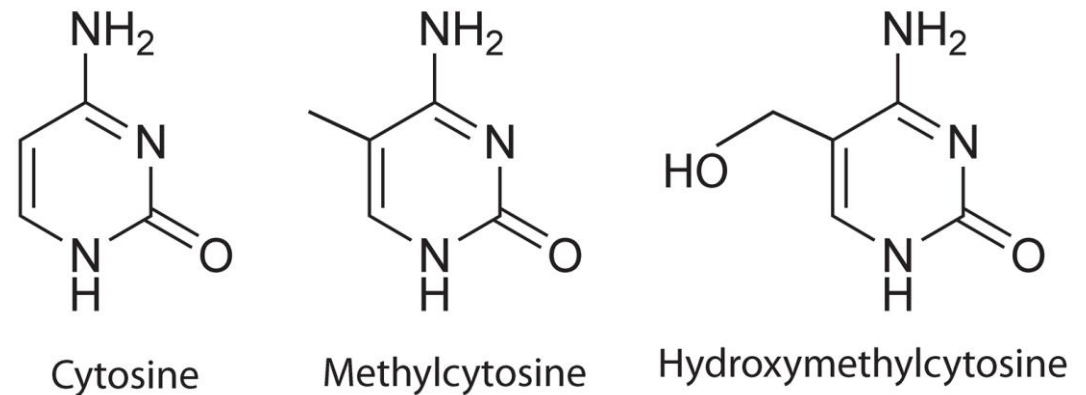
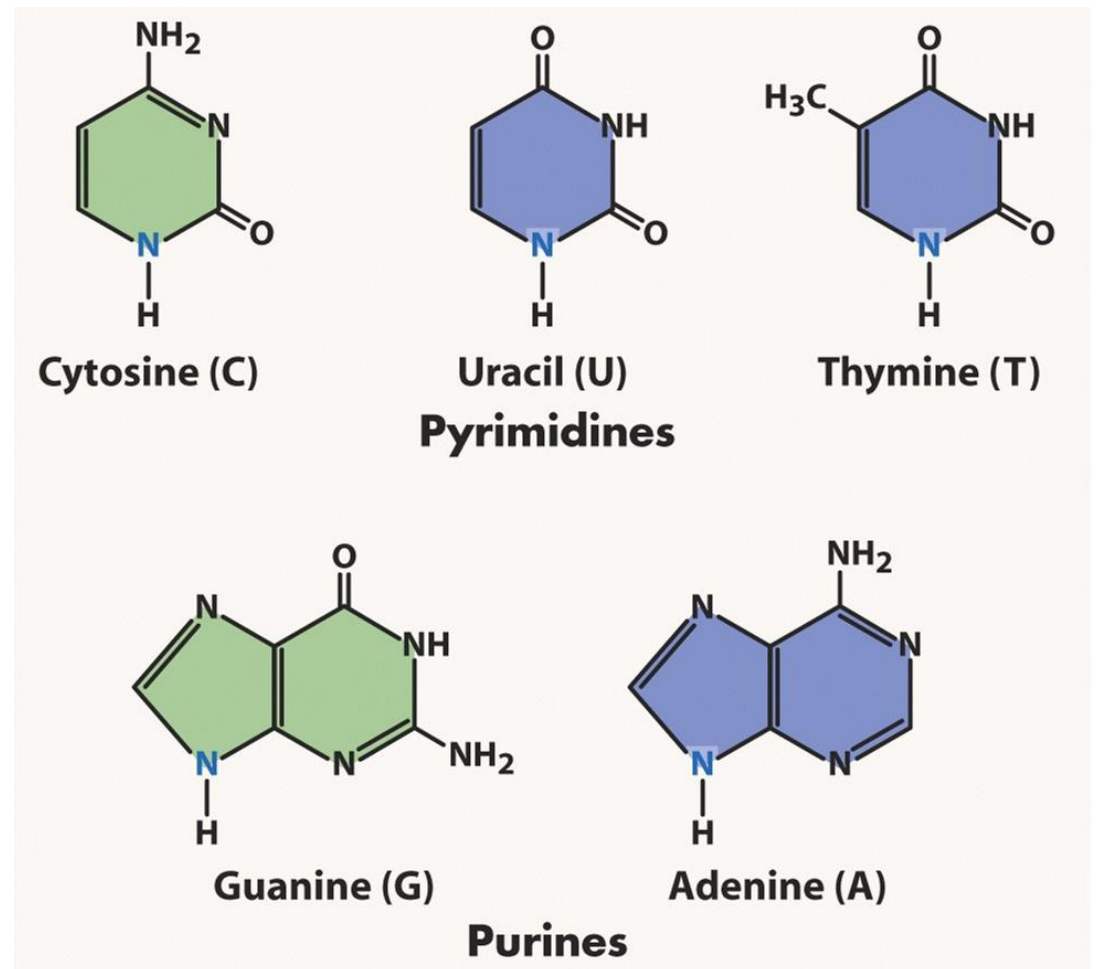
cyclic 3',5'-AMP (cAMP)

Dusíkaté báze a jejich vzájemné uspořádání je klíčové pro čtení genetické informace.

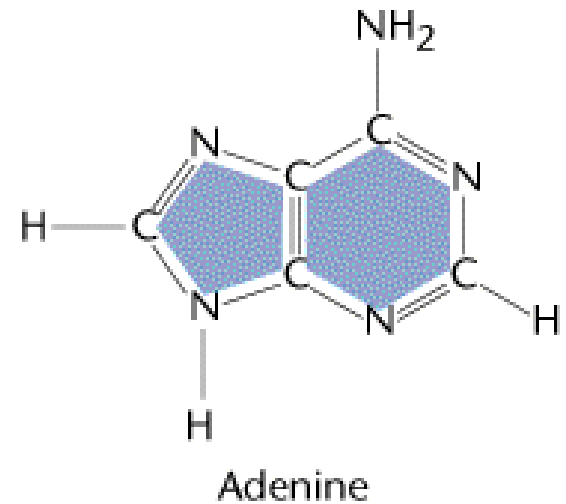
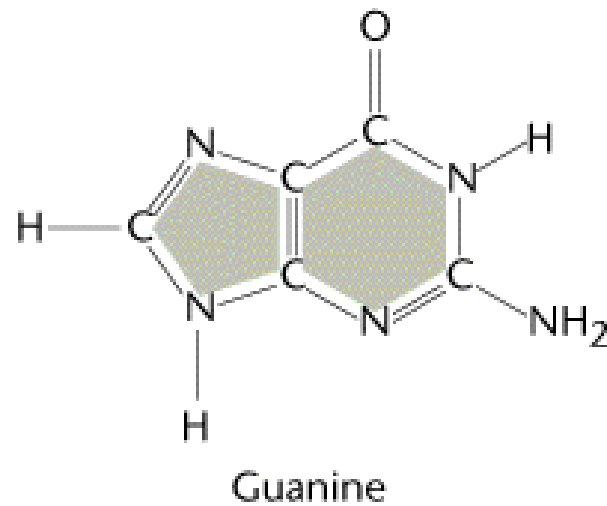
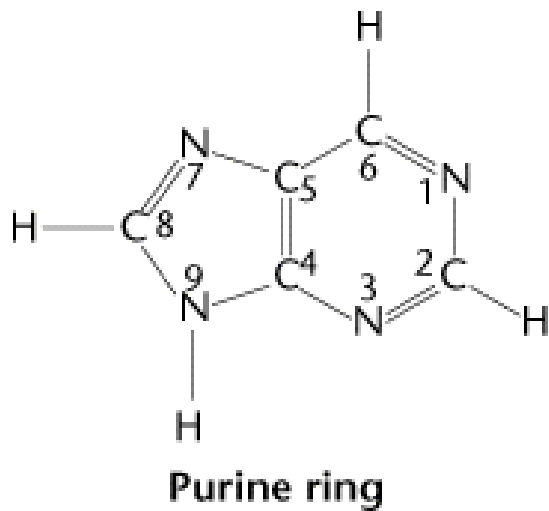
Mezi základní báze patří:

Cytosin (C), Guanin (G), Adenin (A), Thymin (T) a Uracyl (U). Uracyl se od Thyminu liší nepřítomností methylové skupiny.

U se vyskytuje v RNA, T v DNA. Ostatní báze, např. Metylovaný cytosin vznikají až po navázání nukleotidů do makromolekuly DNA.

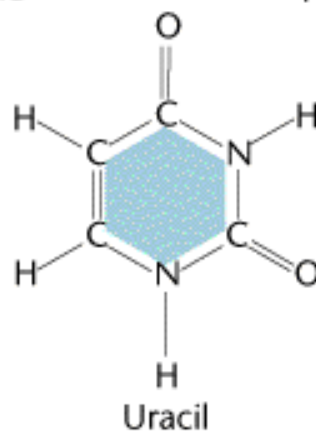
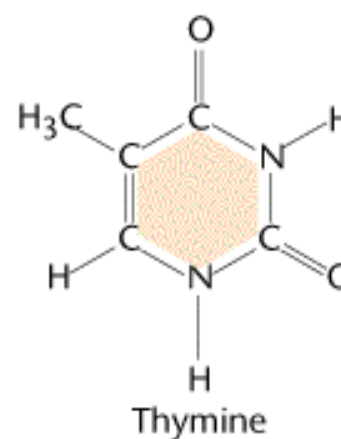
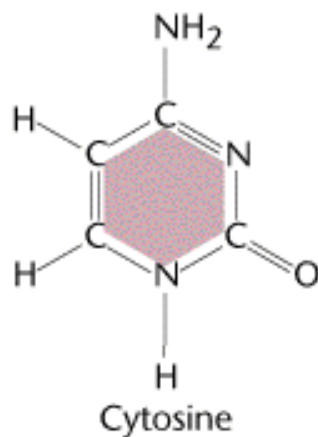
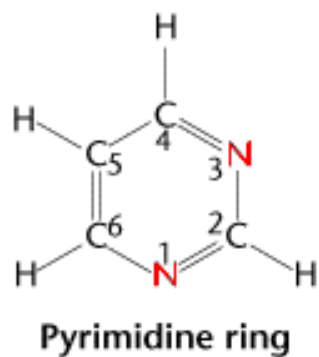


A a **G** patří mezi purinové báze – jejich molekula je odvozena od heterocyklu purinu. Purin vzniká fúzí pyrimidinového a imidazolového cyklu.



(Klug & Cummings 1997)

C, T a U obsahují ve své molekule pyrimidin – patří mezi pyrimidinové báze.



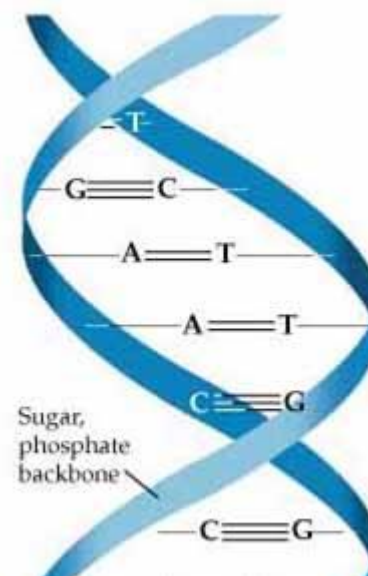
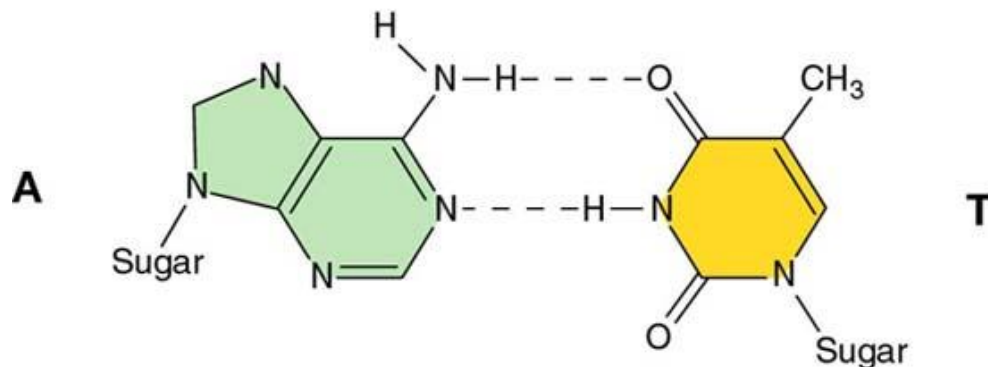
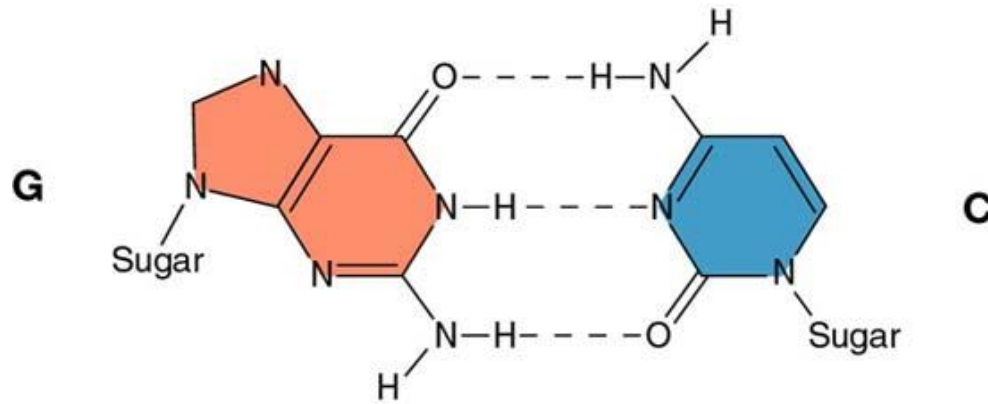
(Klug & Cummings 1997)

Pyrimidinové a purinové báze jsou donory a akceptory vodíkových můstku. Díky nim je DNA (RNA) stabilní ve dvou a víceřetězcových strukturách.

Ve dvouřetězcové DNA (DNA helix) se vodíkové můstky vytváří mezi komplementárními páry bází.

A (purin) je donátorem a akceptorem vodíkových můstků a vytváří dvě vazby s komplementárními pyrimidinovými bazemi (**T v DNA a U v RNA**).

G (purin) je donátorem jedné a akceptorem 2 vodíkových můstků, stabilizující komplementární pár s **Cytosinem**.

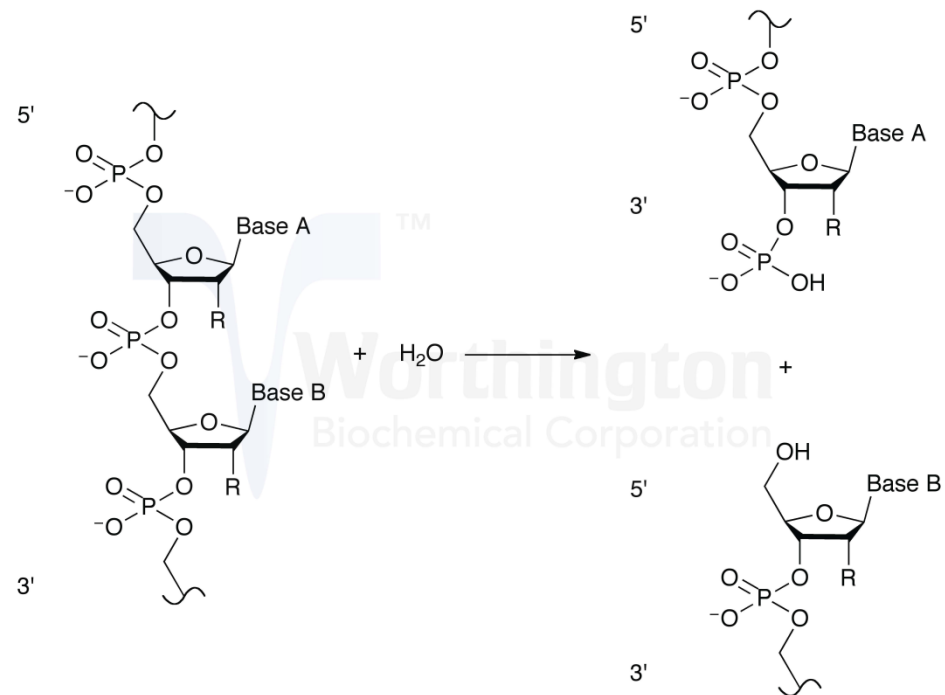


DNA z potravy je štěpena **nukleázami** a **fosforylázami** na jednotlivé nukleotidy. Ty jsou vstřebány enterocyty a využity pro syntézu nukleových kyselin.

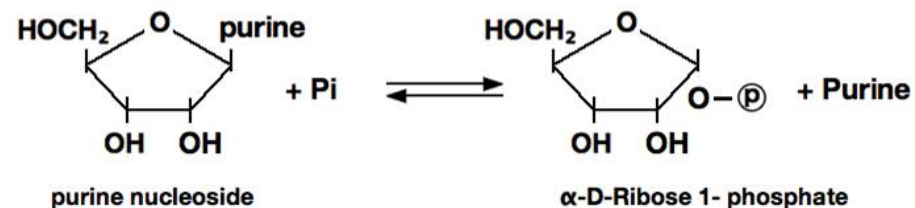
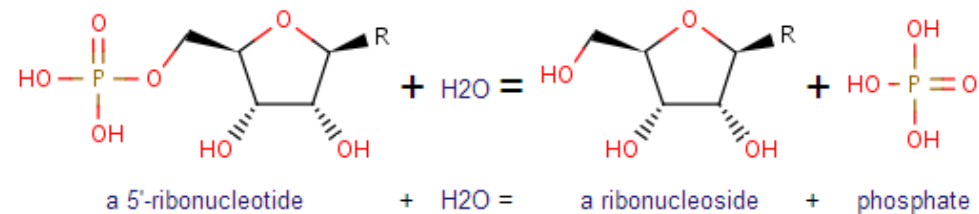
Nukleotidy obsahují nabitý fosfát, který znemožňuje jejich transport přes membránu enterocytů – proto musí být odstraněn. **Nukleotid fosforylázy** katalyzují hydrolytické odštěpení fosfátu. Jiné enzymy **nukleosidázy** zase odštěpí dusíkatou bázi od fosforylovaného sacharidu.

Nedávné poznatky ukazují, že dokonce známá žaludeční proteáza (pepsin) dokáže štěpit DNA.

Z potravy je získáno jen velmi malé množství nukleotidů.



Reaction catalyzed by 5'-nucleotidase (3.1.3.5)



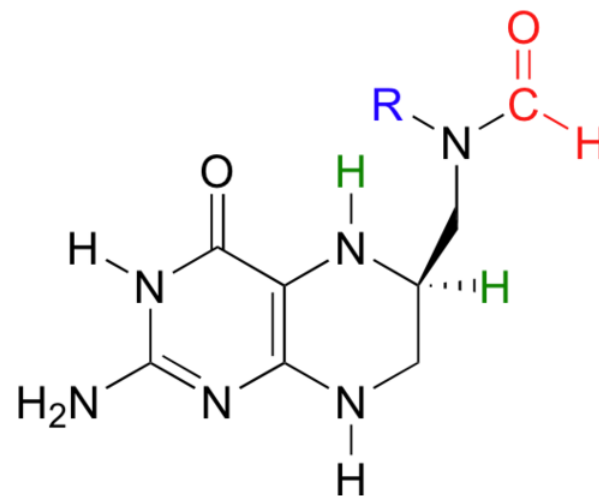
Buňky ale dokáží nukleotidy syntetizovat *de novo*. Cesta syntézy purinového a pyrimidinového cyklu je odlišná.

Purinový kruh je syntetizován z několika aminokyselin (**glycinu, asparagové kyseliny a glutaminu**).

Také jsou do molekuly vkládány dvě formylové skupiny (**-CH=O**). Formylová skupina vzniká enzymaticky z HCO_3^- , kde je přenesena na kofaktor **tetrahydrofolát (THF)**.

Blokace syntézy THF z vitamínu kyseliny listové je terapeuticky využívána k léčbě nádorových onemocnění. Nádorové buňky mají aktivní buněčný cyklus a potřebují replikovat DNA.

Nedostatek THF vede k zastavení syntézy nukleových bazí.

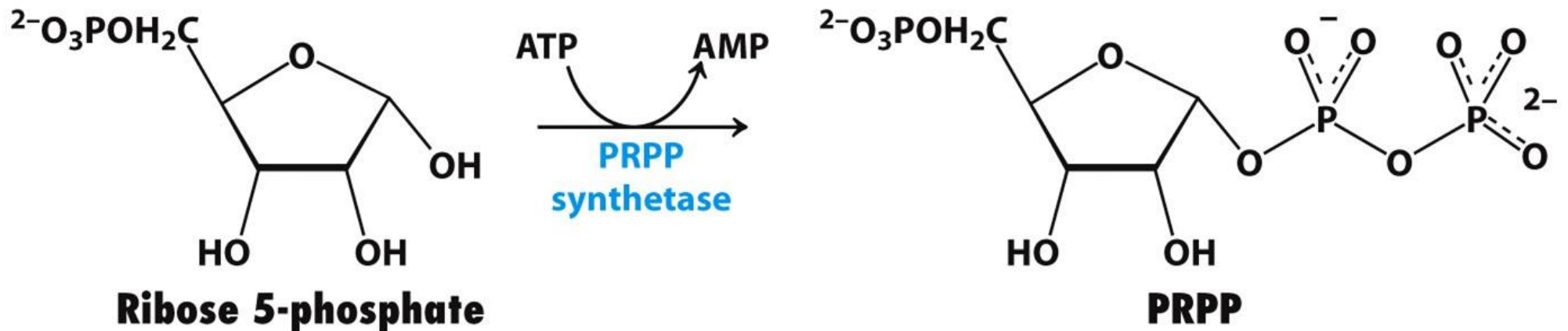


10-**formyl**tetrahydroformate
(**f**-THF)

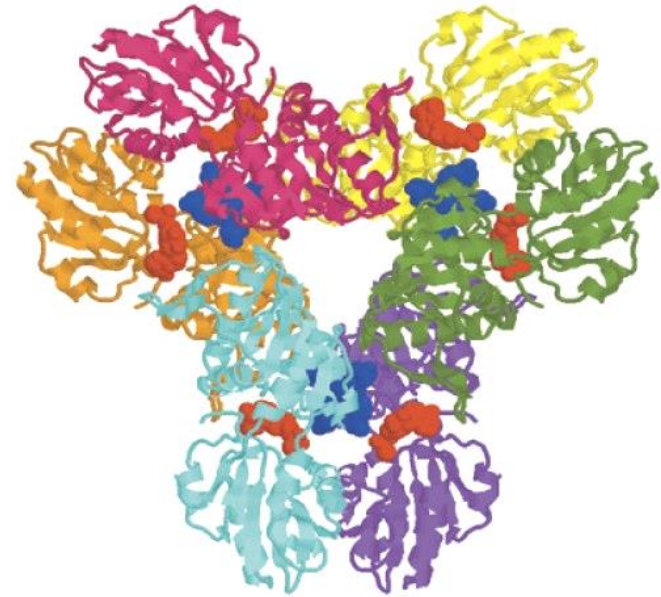
Výchozí látkou pro vznik purinových bazí je **ribóza-5-fosfát (R5P)**. Purinový kruh se staví přímo na sacharidu.

R5P je dále aktivován fosforylací (vazbou pyrofosfátu - P₂i) na C1 uhlíky enzymem **Ribosafosfát pyrofosfát kináza (nebo PRPP syntáza)**.

Aktivovaná molekula fruktózy, **5'-fosforibosyl-1'-difosfát (PRPP)** je připravena pro syntézu nukleotidů, ale i kofaktorů a aminokyselin histidinu a tryptofanu.



Ribosafosfát pyrofosfát kináza je klíčový enzym pro regulaci syntézy nukleotidů. Enzym je regulován fosforylací i allostericky. Pro aktivitu je klíčová hladina **volného fosfátu** v buňce – při normální hladině se váže do allosterického místa a enzym aktivuje. Ale při vysoké koncentraci se váže navíc do katalytického místa a brání vazbě **R5P**.



Dalším alosterickým inhibitorem je výsledný produkt syntézy, ADP.

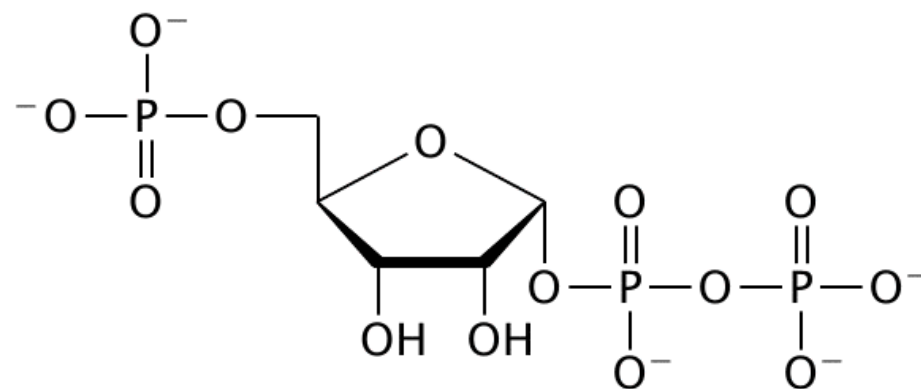
Dalším krokem syntézy je přenos **prvního atomu dusíku** na molekulu **PRPP**. Dusík aminoskupiny pochází z AMK **glutaminu** a je základem pro imidazolový cyklus. Reakce je katalyzována **Amidofosforibosyl Transferázou**.

Produktem je **5-fosforibosylamin**.

Reakce probíhá ve 2 krocích. V prvním kroku dochází k uvolnění molekuly amoniaku (NH_3) hydrolyzou glutaminu (z glutaminu vzniká glutamát). Volný NH_3 se váže k PRPP za současného uvolnění pyrofosfátu, PP_i .

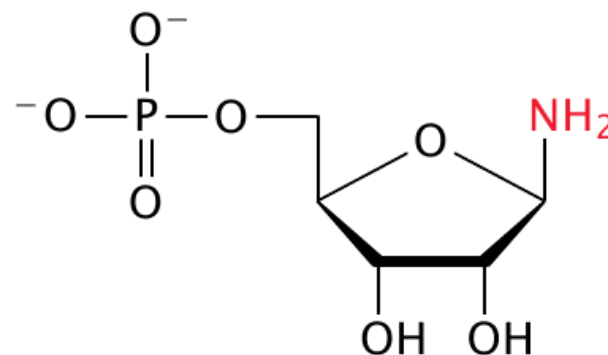
Enzym je inhibován produkty syntézy – AMP, GMP, GDP a ADP.

PRPP



glutamine

glutamate + PP_i

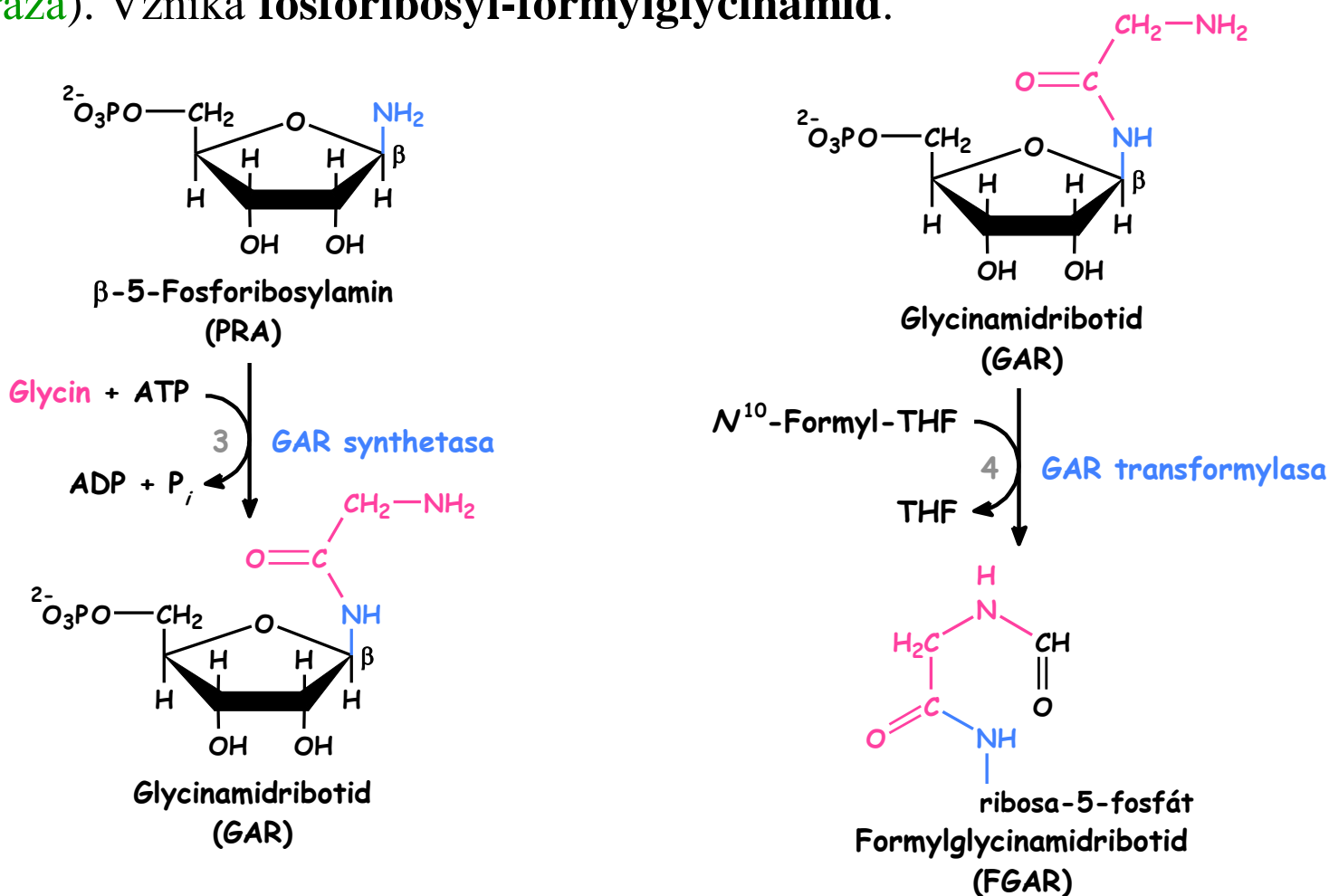


phosphoribosylamine

Následné kroky katalyzují postupné budování imidazolového kruhu. Syntéza je doprovázena spotřebou ATP molekul.

AMK **glycin** se váže na **5-fosforibosylamin** enzymem **fosforibosylamin glycin ligázou** (spotřeba ATP).

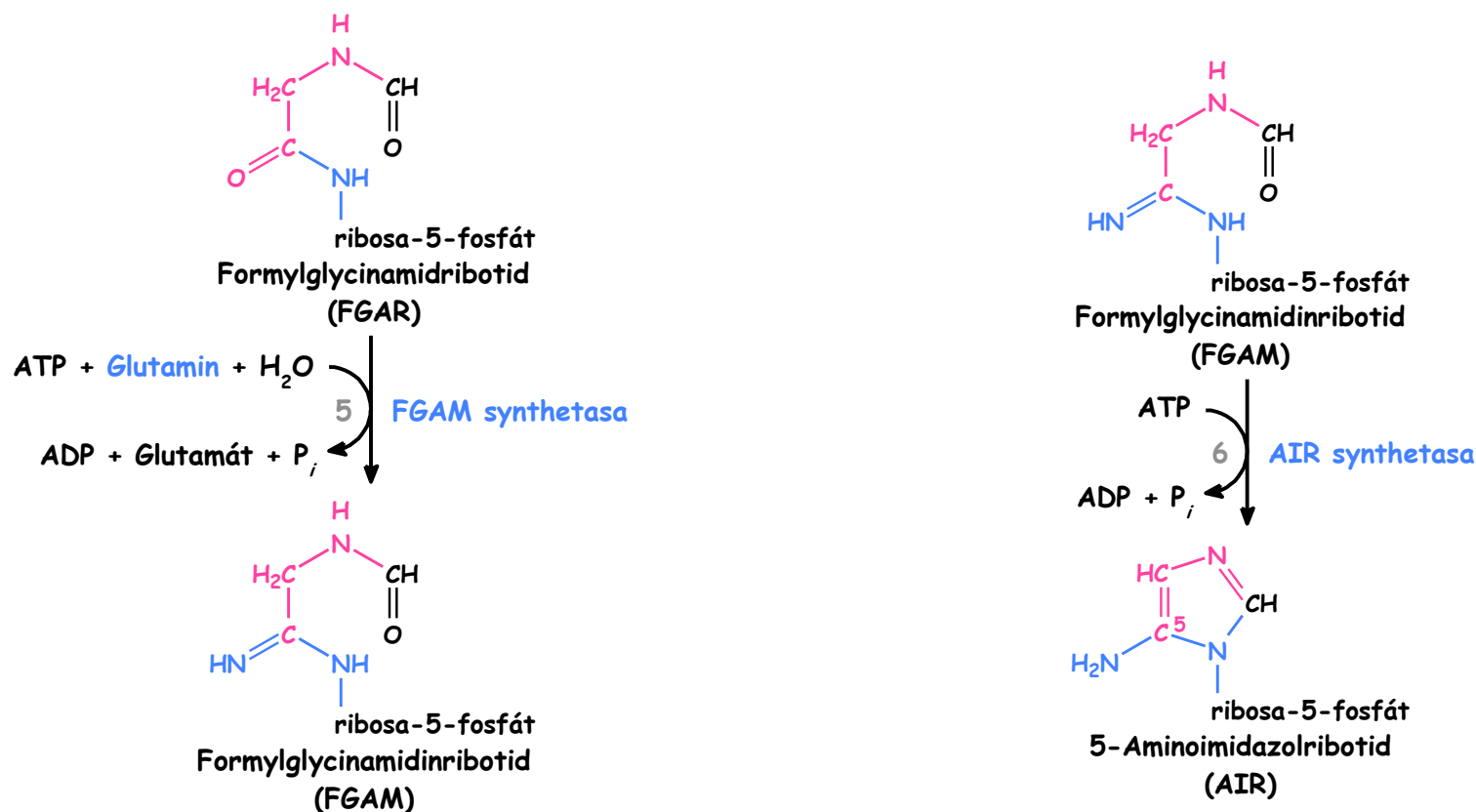
Na druhý dusík se naváže první formylová skupina z THF (**formyl transferáza**). Vzniká **fosforibosyl-formylglycinamid**.



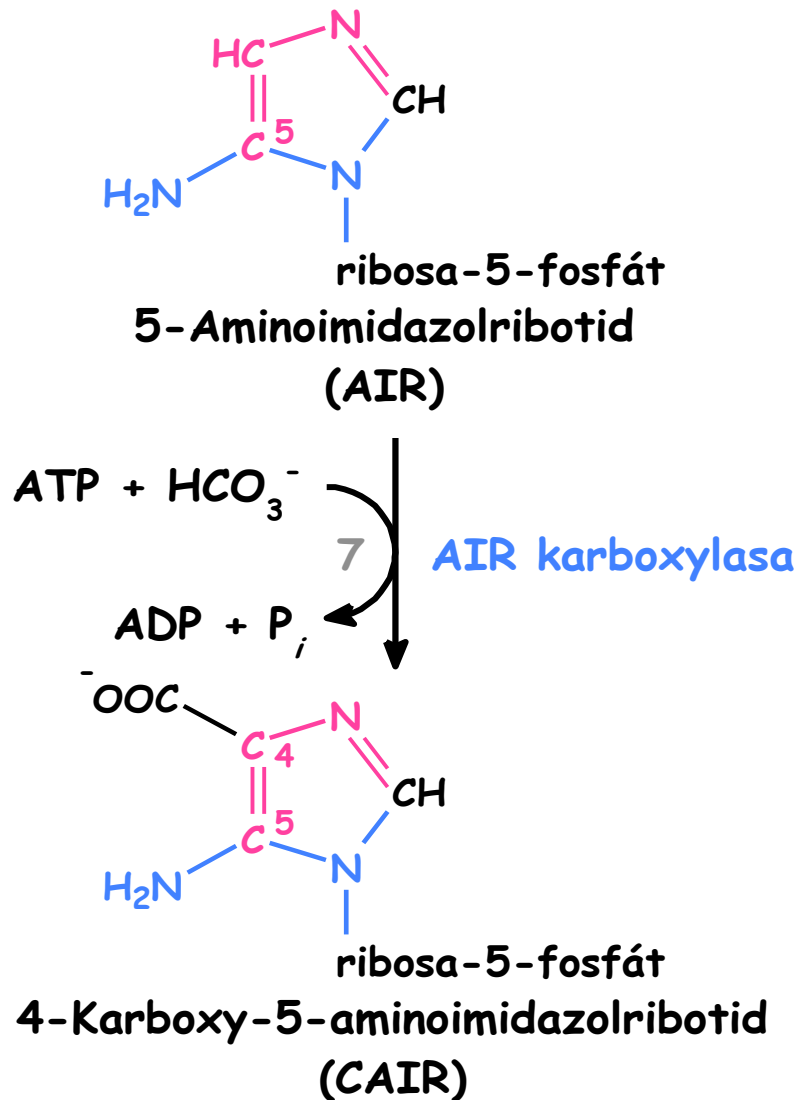
Ještě před tím, než je uzavřen imidazolový kruh, **fosforibosyl-formylglycinamid syntáza** přenáší další dusík, který bude základem pyrimidinového kruhu (opět z **glutaminu**).

5-fosforibosyl-N-formylglycinimid je pak substrátem pro **AIR syntetázy** (**AIR – AminoImidazolRibotid**).

Ta katalyzuje přenos koncového kyslíku do molekuly ATP – ta se štěpí na ADP a fosfát. Následně dochází k uzavření imidazolového cyklu.

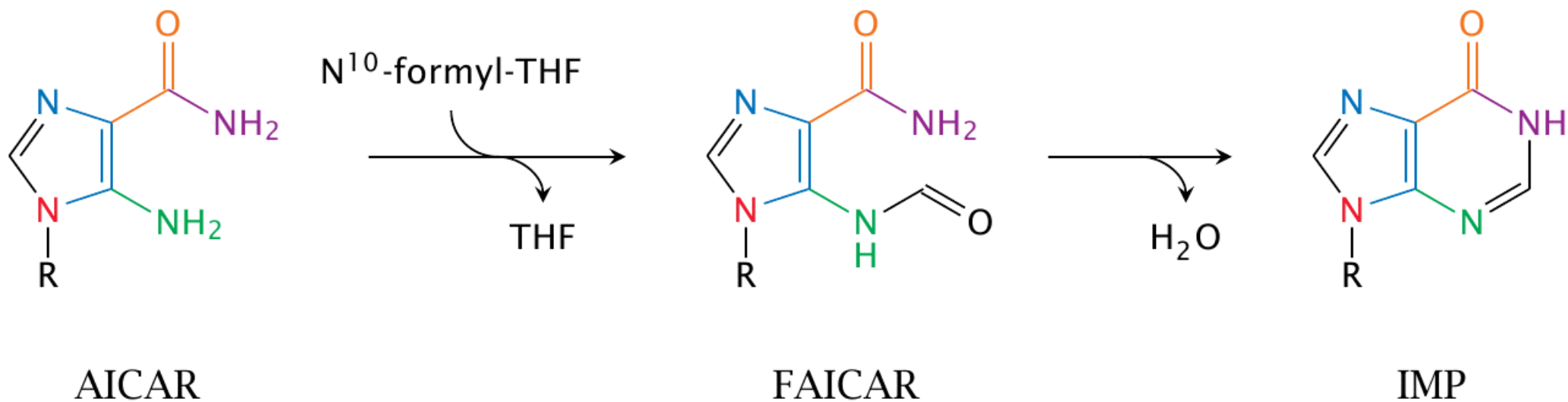


V další fázi **AIR karboxyláza** vnáší HCO_3^- na C4 uhlík imidazolu (spotřeba další ATP). Poslední dusík purinový cyklus získává z **kyseliny asparagové**. Atom kyslíku posluží pro štěpení další molekuly ATP.



Následně dochází k odštěpení **fumarátu** a uvolnění aminoskupiny. **Druhou formylací** dochází ke kompletaci purinového cyklu.

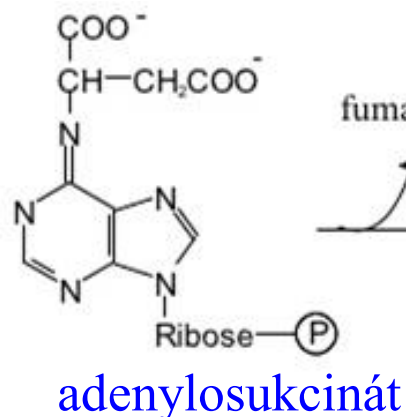
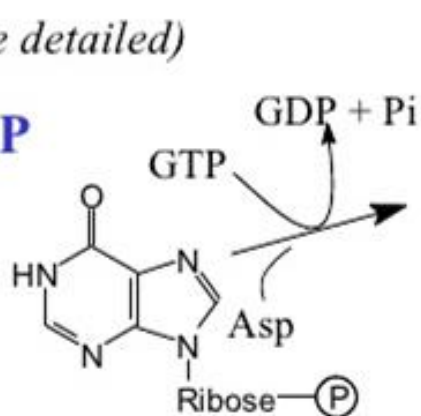
Cyklus je spojen **Inositol-5-fosfát hydratázou** – dochází k uvolnění molekuly vody a uzavření purinu.



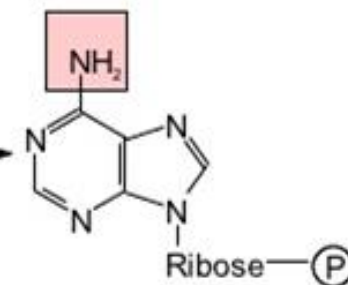
Vzniklý **Inosin-5-fosfát (IMP)** je velmi rychle modifikován na **AMP** nebo **GMP**.

(more detailed)

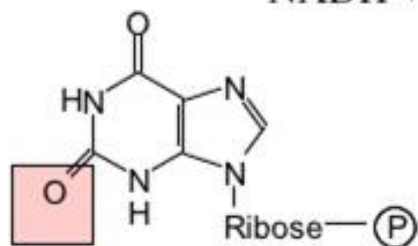
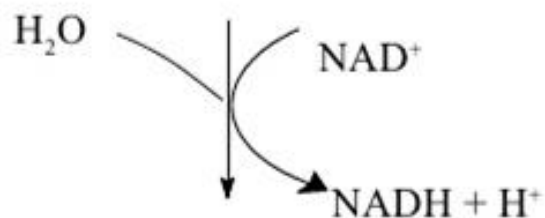
IMP



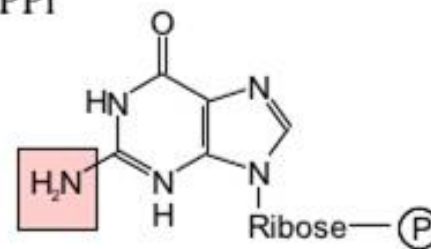
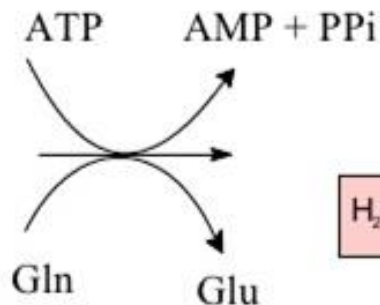
fumarate



AMP



XMP



GMP

32

Syntéza obou nukleotidů je přísně regulovaná – pokud převažuje **GMP**, přeměna **GMP** z **Inosin-5-fosfátu** je blokována a naopak aktivována syntéza **AMP**.

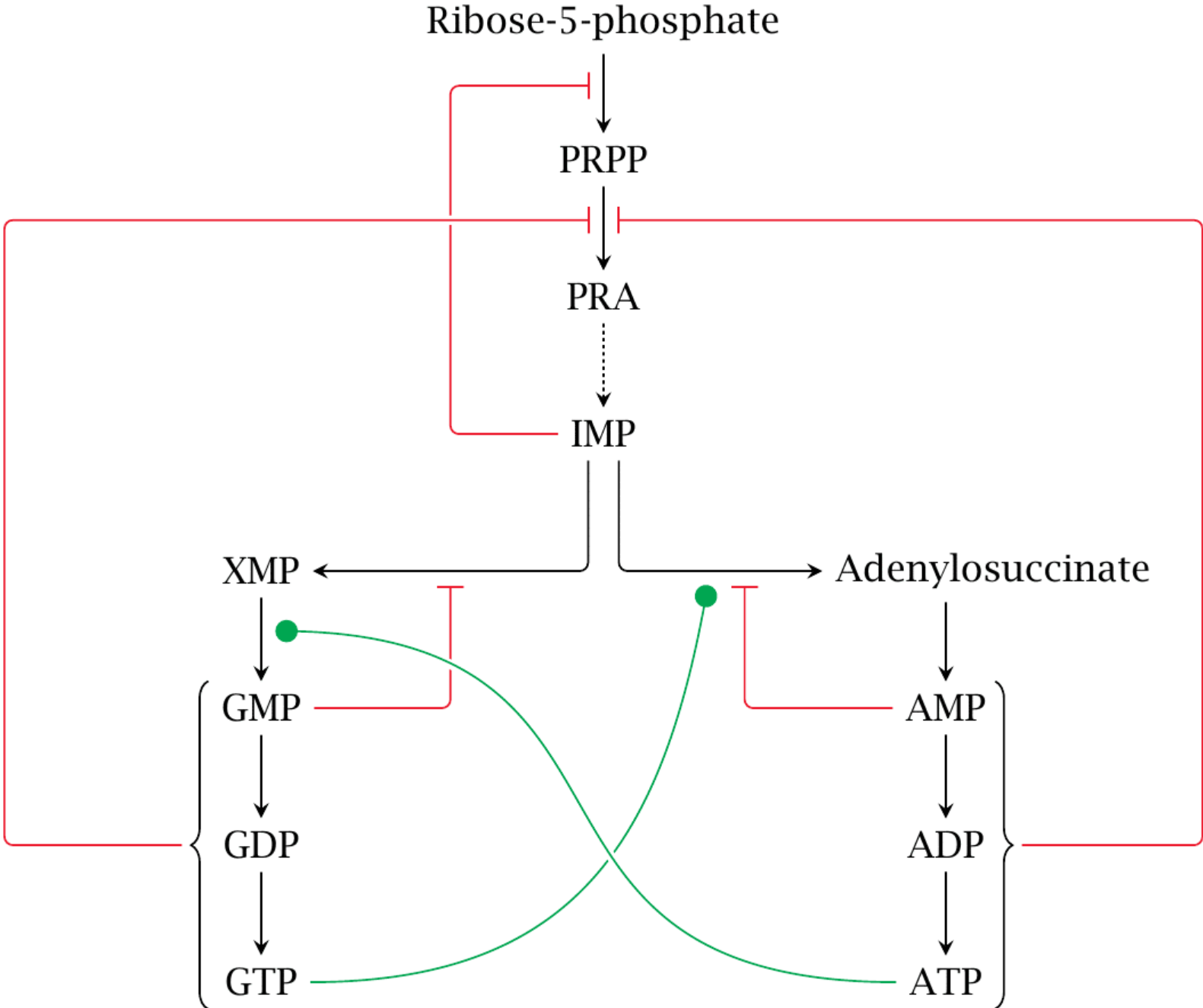
Proto aby se mohli nukleotidy inkorporovat do DNA potřebují být ve formě trifosfátů. Proto posledním kroku **Nukleosidmonofosfokinázy** katalyzují vazbu druhého fosfátu a vznik **ADP** nebo **GDP**.



GDP pak může být v přítomnosti **GDP kinázy** fosforylován pomocí **ATP**.



ATP je generováno z **ADP** pomocí **ATP syntázy** (respirační řetězec).



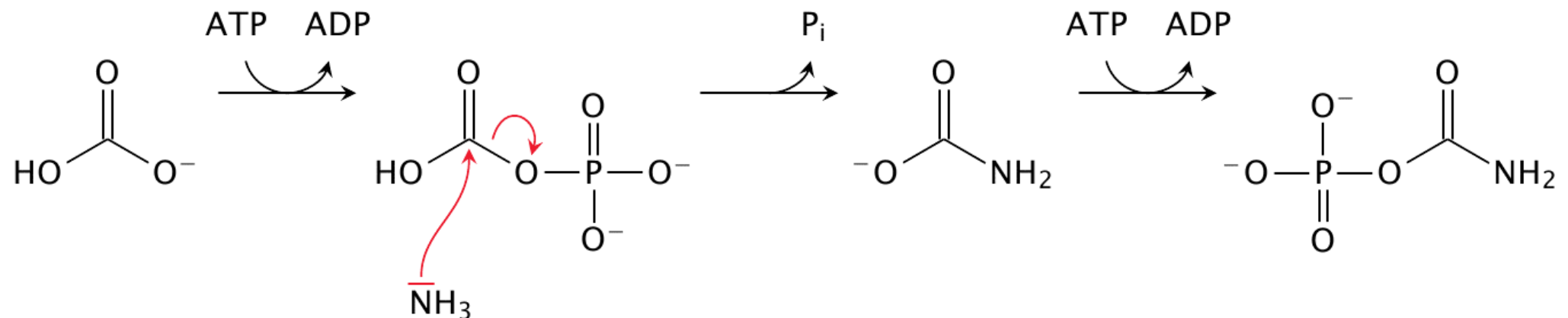
Pyrimidinové nukleosidy jsou syntetizovány jiným mechanismem. Prvně je syntetizován heterocyklus, který se následně připojí k aktivované molekule **5'-fosforibosyl-1'-difosfátu (PRPP)**.

Vstupní substráty jsou – **karbamoylfosfát** a **aspartát**.

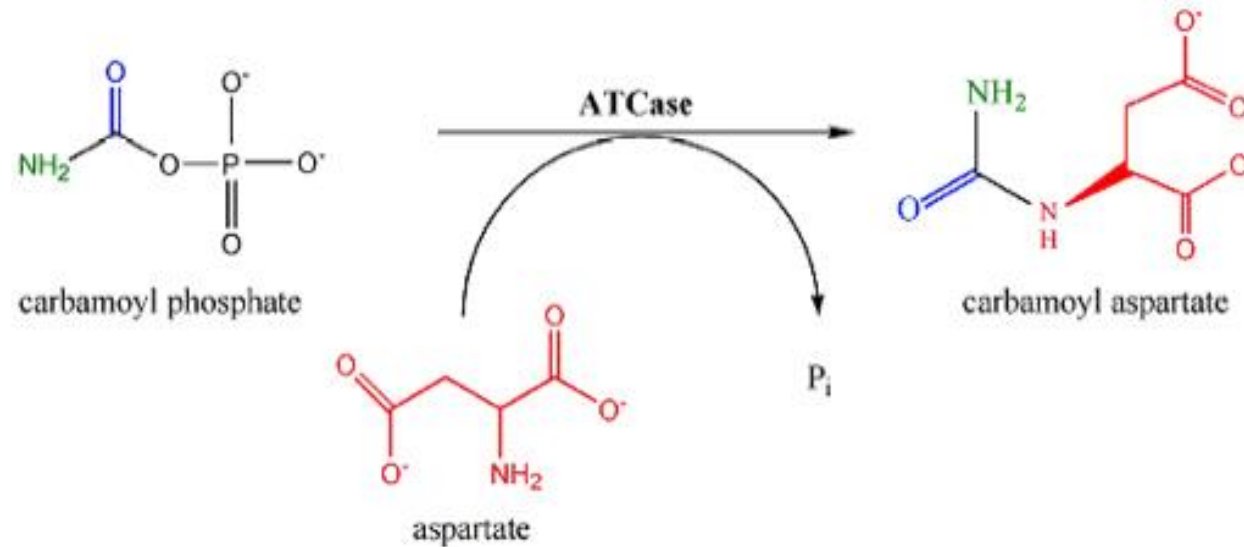
Karbamoylfosfát vzniká fúzí HCO_3^- , NH_3 (vzniklý *deaminací glutaminu*) a **fosfátu** (z *ATP*). Reakce je katalyzována **Karbamoylfosfát syntetázou**.

Reakce je zajímavá tím, že vyžaduje hydrolýzu dvou molekul ATP. V prvním kroku je HCO_3^- fosforylován ATP. Fosfát ale není součástí produktu, pouze aktivuje molekulu k dalšímu katalytickému kroku.

V něm přistupuje NH_3 a dochází k vzniku karbamové kyseliny a volného fosfátu. Teprve poté další ATP předává fosfát finální molekule.

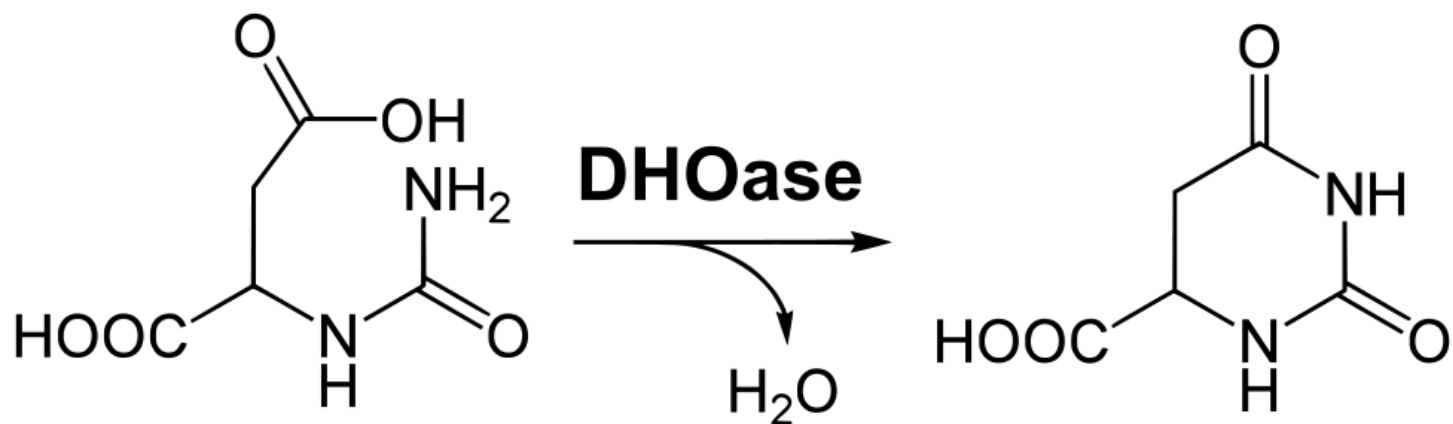


Aspartát transkarbamoyláza katalyzuje vazbu aspartátu a karbamoylfosfátu. Vzniká karbamoylaspartát.



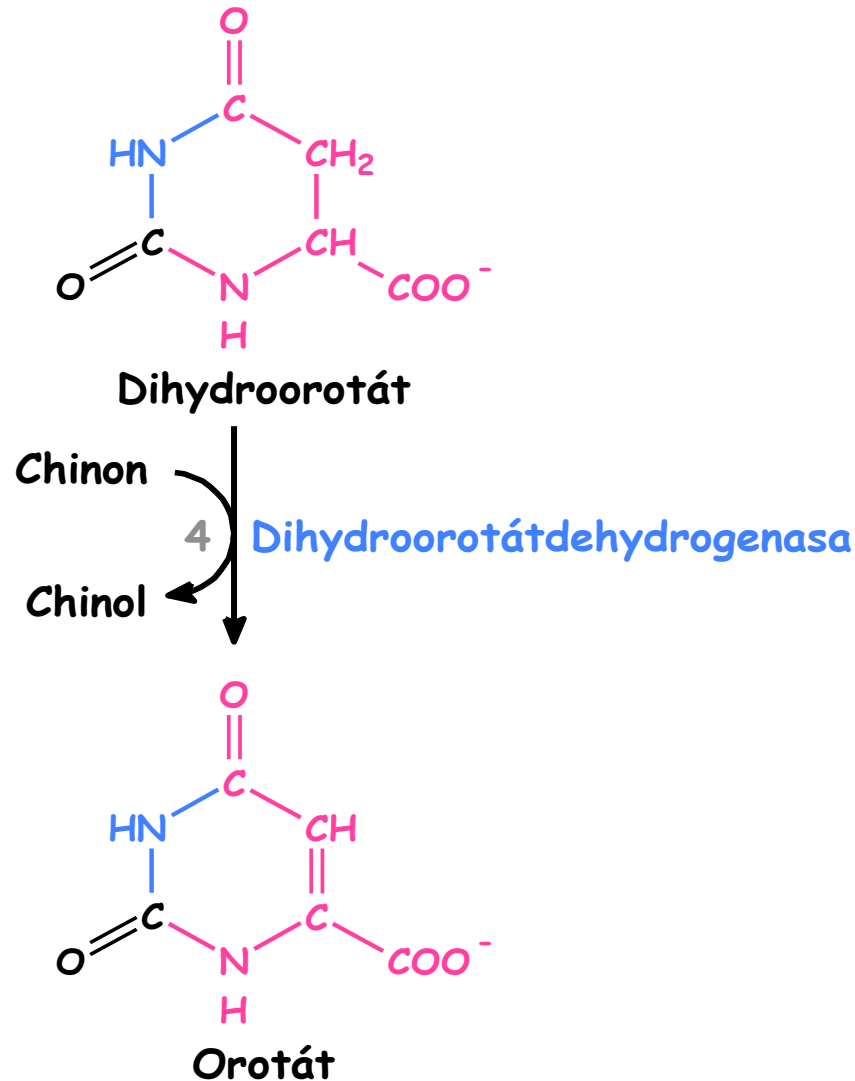
Enzym je aktivován **ATP** (buňka se snaží mít hladinu purinových a pyrimidinových nukleotidů v rovnováze) a **PRPP**. Naopak je inhibován finálním produktem syntézy – **UMP**.

Následnou cyklizací a uvolnění molekuly vody dochází ke vzniku dihydroorotátu (**Dihydroorotáza**).



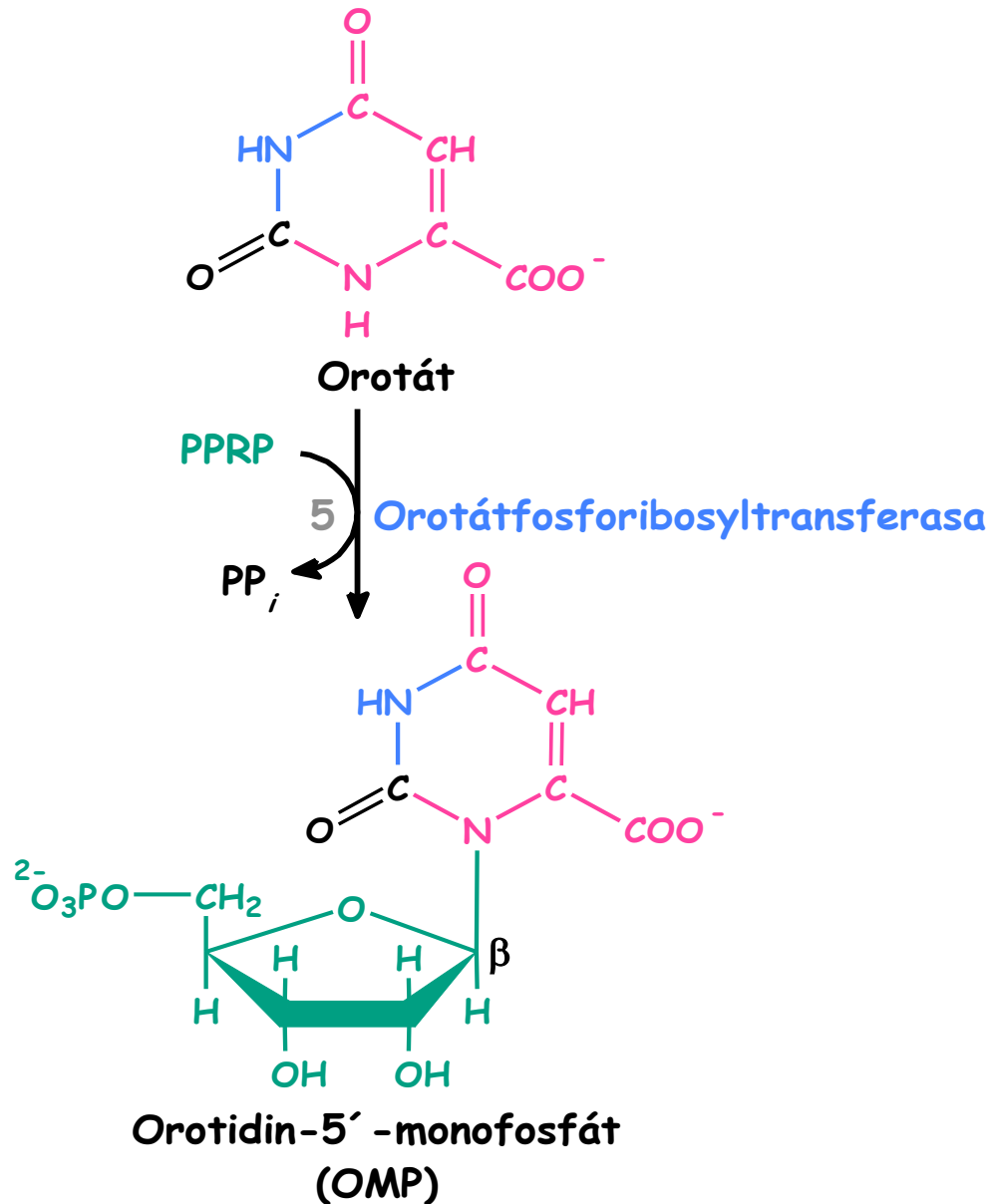
Dihydroorotát dehydrogenáza katalyzuje oxidaci **dihydroorotátu** na **orotát**.

Enzym je ukotven na vnější straně vnitřní mitochondriální membrány. Během oxidace dochází k přenosu protonů a elektronů na FMN. FMNH₂ je regenerován reakcí s ubiquinonem uvnitř mitochondriální membrány.

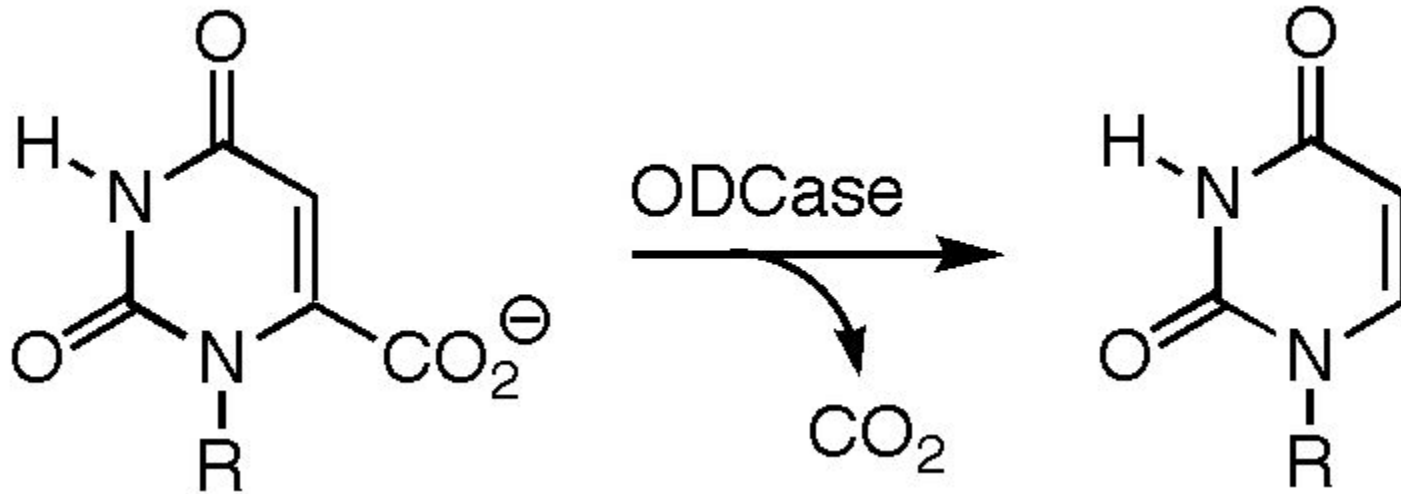


Orotátfosforibosyltransferasa přenáší **orotát** na aktivovanou molekulu **PRPP**.

Dochází k uvolnění **pyrofosfátu** a vzniku **orotidin-5'-monofosfátu (OMP)**.

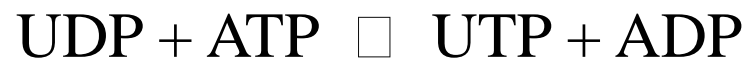


Dekarboxylací **OMP** vzniká **UMP** (**OMP dekarboxyláza**). Enzym je vysoce efektivní – reakci která by trvala 78 milionu let zprostředkuje za 18 ms.



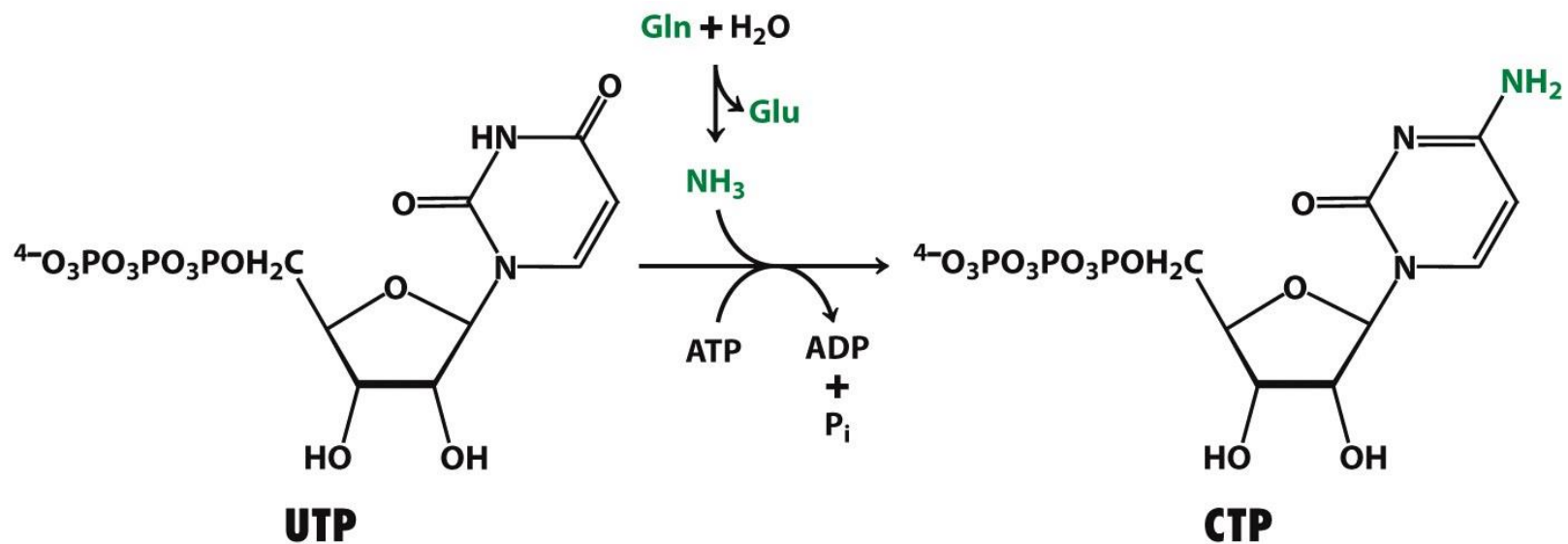
Následují dva enzymatické kroky, ve kterých **UMP kináza** a **UDP kináza** vytváří aktivovanou molekulu nukleotidu **UTP**.

UTP je potřebný pro následnou syntézu **CTP** a **TTP**.

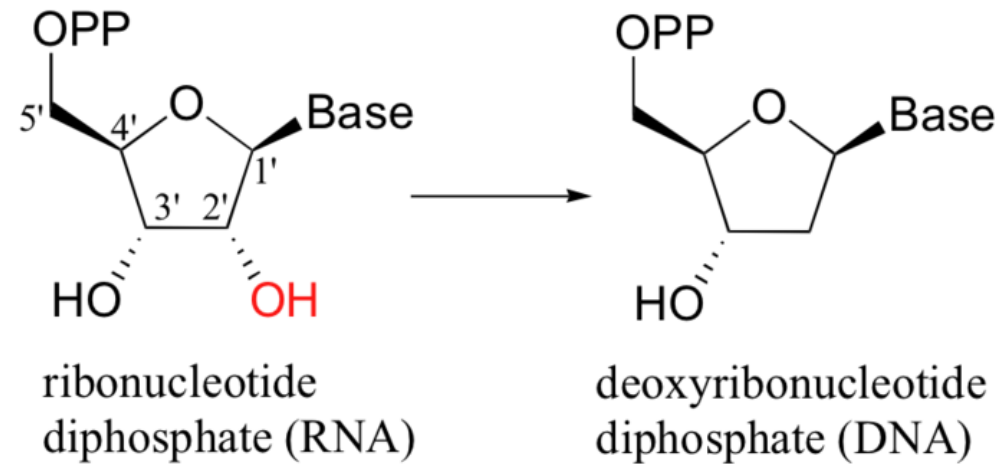


CTP vzniká aminací **UTP** enzymem **CTP syntázou**. Zdrojem aminoskupiny je opět **glutamin**.

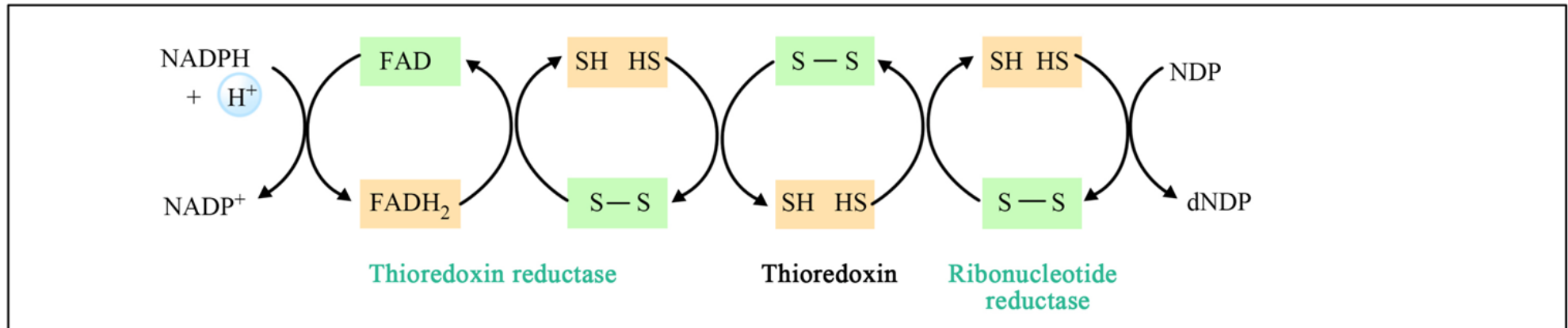
CTP syntáza je inhibována zvýšenou intracelulární koncentrací CTP. Aktivátory reakce jsou purinové báze (**ATP, GTP**) a **glutamin**.



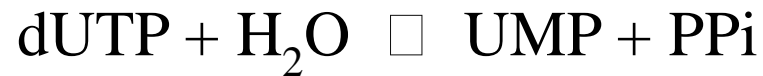
Thymidin je báze, která ve formě nukleotidu je součástí pouze DNA. Nevzniká přímo z UTP. V první fázi syntézy dochází k **redukci ribózy na deoxyribózu**. Enzym **ribonukleotid reduktáza** je schopna redukovat cukr z ATP, GTP, CTP a UTP.



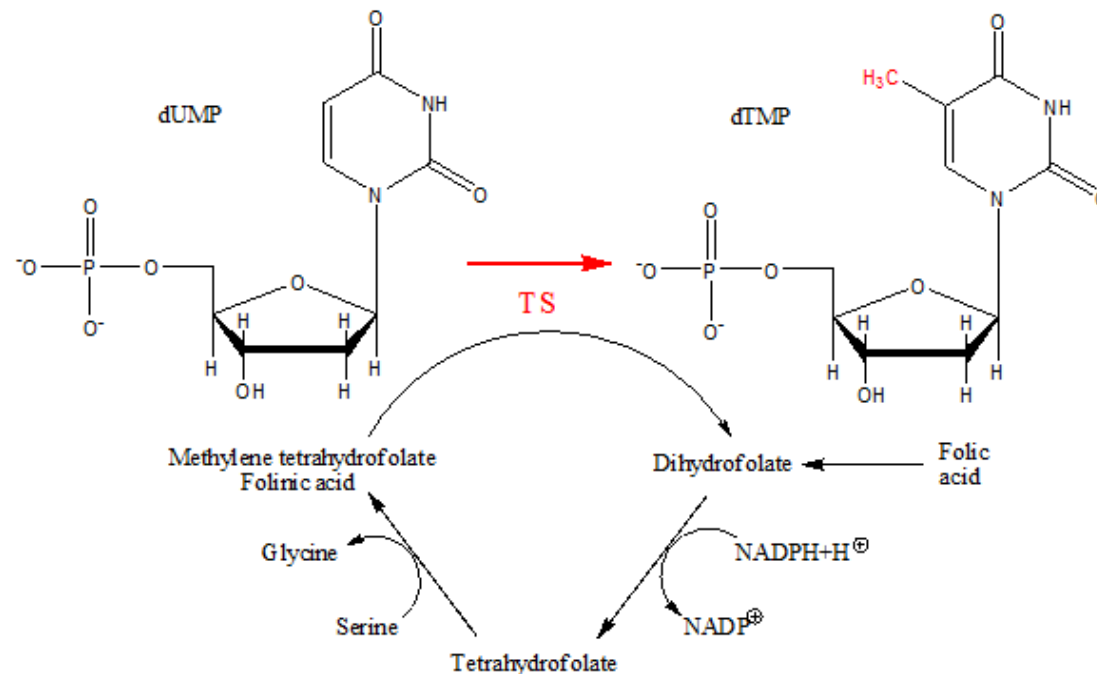
Disulfidický můstek je regenerován **thioredoxinem**. **Thioredoxin** redukuje disulfidický můstek v **Thioredoxin reduktáze**. Potřebné protony a elektrony získává z redukce **NADPH/H⁺**.



Dalším krokem je **hydrolýza dUTP** na **dUMP**. Tento krok je nutný, aby se v buňce nevyskytovala energeticky aktivní forma **dUTP**, která by mohla vstupovat do syntézy DNA.



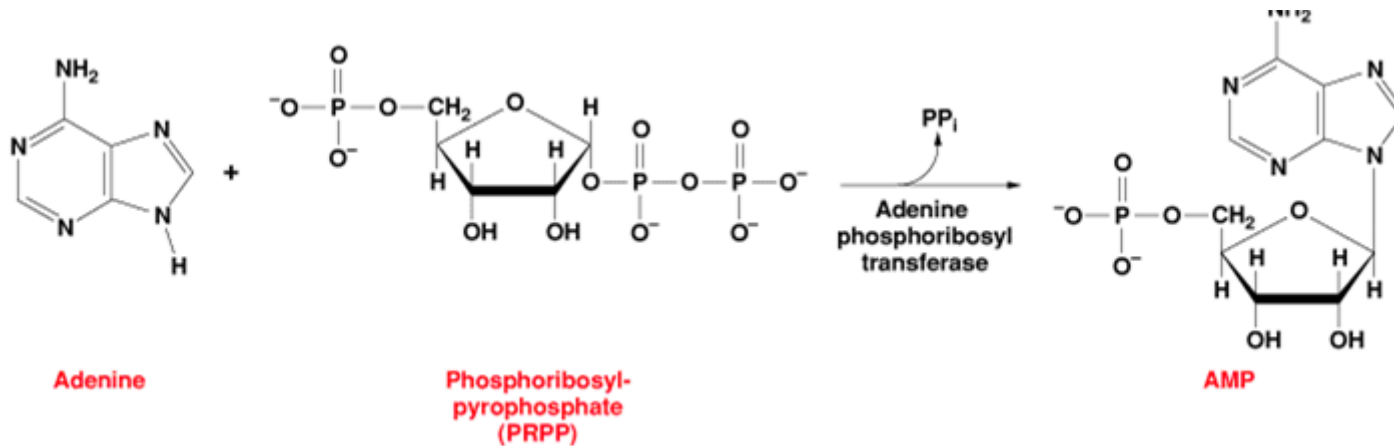
dUMP je enzymem **Thymidilátsyntázou** methylován za vzniku **dTMP**. Kofaktorem přenášejícím metylovou skupinu je THF. Metylová skupina pochází z AMK methioninu. Okamžitě po vzniku **dTMP** je opět dvojicí kináz a spotřebováním 2 molekul ATP převeden na **TTP**.



Recyklace nukleotidů

De novo syntéza nukleotidů je energeticky velmi náročná. Proto se buňka snaží volné dusíkaté báze recyklovat. Dusíkaté báze se do cytosolu uvolňují v průběhu degradace DNA a RNA.

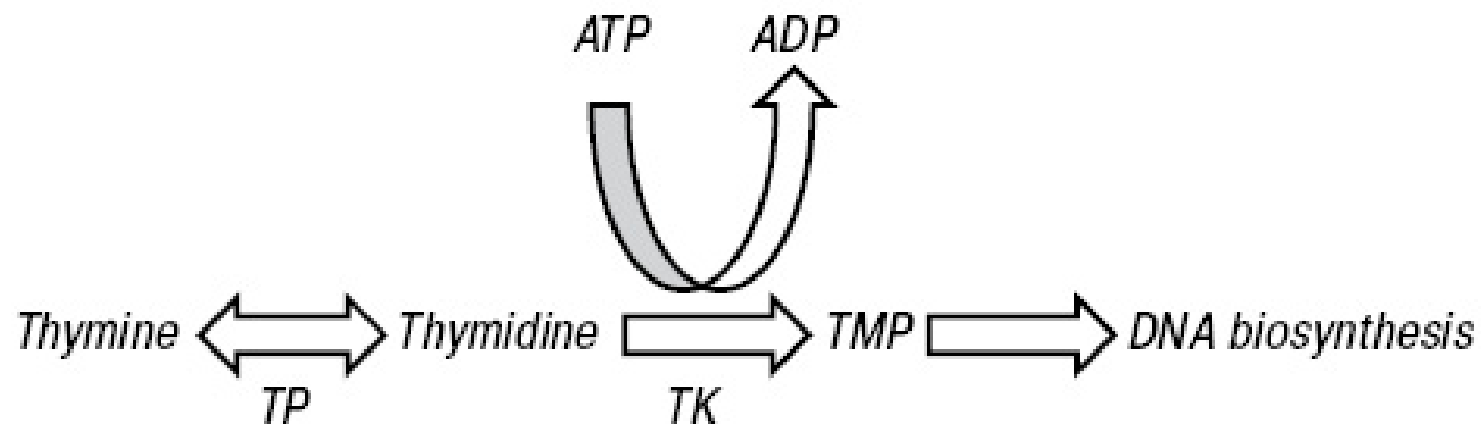
Purinové báze jsou přenášeny znovu na aktivovanou **PRPP** (enzym guanin/adenin/hypoxantin fosforybosyltransferáza).



Pyrimidinové báze

Uridin (cytosin) může se přímo vázat na **PRPP** nebo jenom na **riboza-1-fosfát** (a k fosforylaci C5 uhlíku katalyzuje **kináza** v druhém kroku). **Cytosin** navíc může být deaminován na **uridin**.

Thymidin se váže na **deoxyribozu-1-fosfát**. **Thymidin kináza** pak katalyzuje přenos fosfátu z ATP na C5 uhlík a vznik **TMP**.

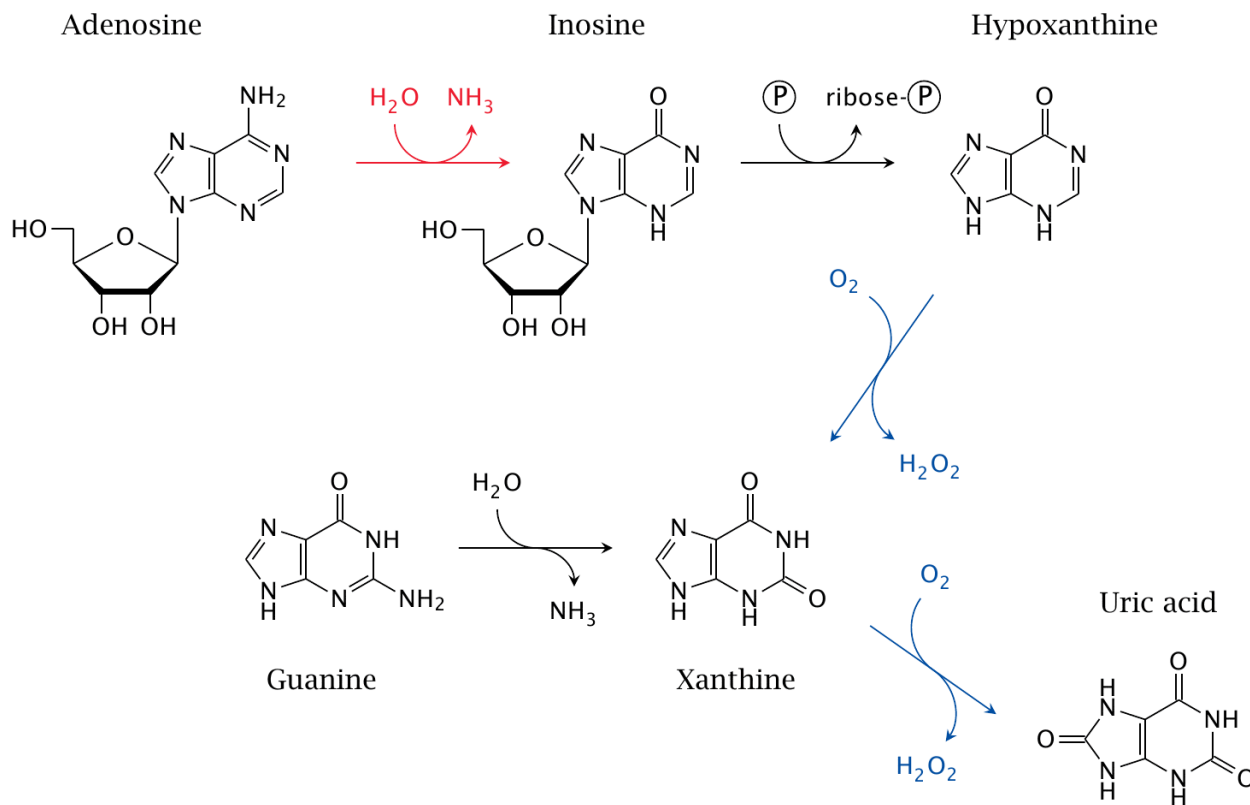


Odbourávání nukleotidů

DNA je postupně štěpena až na základní komponenty – **riboza – 1 fosfát** a **dusíkatou bázi**. Odbourávání **purinových bází** probíhá v játrech.

Adenin je deaminován na **hypoxantin**, **guanidin** na **xantin**. Hypoxantin je oxidován na xantin a výslednou **kyselinu močovou** – ta je u zdravého člověka vylučována močí.

Dna - Snížené vylučování kyseliny močové nebo její velká produkce. Kyselina močová vytváří soli a krystalky, které se ukládají v kloubech a vyvolávají zánětlivé reakce.



Odbourávání pyrimidinových bází

Oproti purinovým bázím pyrimidinové báze jsou využity v metabolismu. Pyrimidiny se štěpí na **beta-alanin** a **beta-aminoisobutyřát**. Jejich deaminací a přenosem

na molekulu CoA vzniká **malonyl-CoA** (*syntéza MK*) a **metylmalonyl-CoA**.

Metylová skupina z **Methylmalonyl-CoA** je **Methylmalonyl-CoA mutázou** v molekule přenesena do alifatického řetězce a vzniká **sukcynyl-CoA**, který je spotřebováván citrátovým cyklem.

