

# **Polyaminy v potravinách a jejich role v živých systémech**

Klára Škrášková

---

Bakalářská práce  
2018

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2017/2018

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Klára Škrášková**  
Osobní číslo: **T15815**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Polyaminy v potravinách a jejich role v živých systémech**

Zásady pro vypracování:

## I. Teoretická část

1. Charakterizace polyaminů.
2. Význam polyaminů u mikroorganismů.
3. Význam polyaminů u rostlin.
4. Význam polyaminů u živočichů



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] KRÍŽEK, M., KALACĚ, P. Review: Biogenní aminy a jejich role ve výživě. Czech J. Food Sci, 1998, Vol. 19, p. 151-159.

[2] PATTONO, D., GRASSI, M. A., CIVERA, T. Production of biogenic amines by some Enterobacteriaceae strains isolated from dairy products. Ital. J. Food Sci, 2008, Vol.20, No. 3, p. 411-417.

[3] KALACĚ, P., KRÍŽEK, M. Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví. Potravinářská Revue, 2005. 2, 40-42.

[4] SANTOS, M.H.S., Biogenic amines: their importance in foods. Journal of Food Microbiology, 1996. 29 (2-3), 213-231.

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

**2. února 2018**

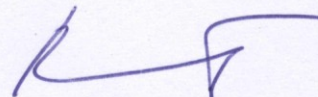
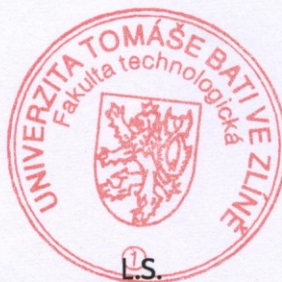
Termín odevzdání bakalářské práce:

**3. května 2018**

Ve Zlíně dne 2. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ŠKRAŠKOVÁ KLAŘA

Obor: CHTP

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 3.5.2018.

Škrašková

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

Cílem této práce je shrnout dosud zjištěné informace o přítomnosti polyaminů v potravinách a dále o jejich funkcích v různých typech organizmů (mikroorganismů, rostlin a živočichů). První kapitola shrnuje základní informace o polyaminech a také o jejich množstvích v různých typech potravin. Ve druhé kapitole se pojednává o účincích polyaminů u mikroorganismů se zaměřením na bakterie. Další kapitola se věnuje roli polyaminů u rostlin a poslední část pojednává o jejich funkcích u živočichů, včetně člověka. Práce se zaměřuje především na účinky základních polyaminů putrescinu, sperminu a spermidinu v menší míře pak agmatinu a kadaverinu.

Klíčová slova:

biogenní aminy, polyaminy, agmatin, putrescin, kadaverin, spermin, spermidin, ornitin

## ABSTRACT

The aim of this thesis is to summarize the actually known information about the presence of polyamines in food and their function in various types of organisms (microorganisms, plants and animals). The first chapter summarizes essential informations about polyamines and their amounts in different types of foods. The second chapter deals with the action of polyamines in microorganisms, focusing on bacteria. The next chapter deals with their role in plants and the last part deals with their functions in animals, including humans. The thesis mainly focuses to effects of basic polyamines - putrescine, spermine and spermidine, in a lesser extent to agmatine and cadaverine.

Keywords:

biogenic amines, polyamines, agmatine, putrescine, cadaverine, spermine, spermidine, ornithine





Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. RNDr. Leoně Buňkové za pomoc při vypracování této práce, a také za řadu poskytnutých materiálů, ze kterých v ní bylo čerpáno. Dále bych chtěla velmi poděkovat svému manželovi za lásku, trpělivost a podporu, kterou mi při psaní této práce věnoval.



Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>15</b>
<b>1 CHARAKTERISTIKA POLYAMINŮ</b> .....	<b>17</b>
1.1 BIOGENNÍ AMINY.....	17
1.1.1 Rozdělení.....	17
1.1.2 Podmínky syntézy.....	17
1.1.3 Výskyt v potravinách.....	18
1.1.3.1 Nefermentované potraviny.....	19
1.1.3.2 Fermentované potraviny.....	19
1.1.4 Účinky na člověka.....	20
1.1.5 Detekce BA.....	21
1.2 POLYAMINY.....	22
1.2.1 Chemická struktura.....	22
1.2.2 Syntéza polyaminů.....	24
1.2.3 Vazba s nukleovými kyselinami.....	26
1.2.4 Apoptóza.....	27
1.2.5 Výskyt v potravinách.....	27
1.2.5.1 Čerstvé výrobky.....	28
1.2.5.2 Fermentované výrobky.....	30
<b>2 VÝZNAM POLYAMINŮ U MIKROORGANIZMŮ</b> .....	<b>34</b>
2.1 BAKTERIE.....	34
2.1.1 Metabolismus polyaminů u bakterií.....	34
2.1.2 Buněčná membrána.....	35
2.1.3 Tvorba biofilmu.....	35
2.1.4 Patogenita a virulence.....	36
2.1.5 Stres.....	36
2.1.5.1 Stres způsobený nízkým pH.....	36
2.1.5.2 Oxidační stres.....	37
2.1.6 Bakterie mléčného kvašení.....	37
2.2 TERMOFILNÍ MIKROORGANIZMY.....	38
2.3 KVASINKY.....	39
2.4 PRVOCI.....	40
<b>3 VÝZNAM POLYAMINŮ U ROSTLIN</b> .....	<b>41</b>
3.1 SYNTÉZA A ROZKLAD.....	41
3.2 RŮST A VÝVOJ ROSTLINY.....	43
3.3 IONTOVÉ KANÁLY.....	45
3.4 TVORBA CÉV.....	45
3.5 STRES ROSTLIN.....	46
3.5.1 Nedostatek vody.....	47
3.5.2 Extrémní teplota.....	47
3.5.3 Vysoká salinita.....	48

3.5.4	Osmotický stres .....	48
3.5.5	Těžké kovy .....	48
<b>4</b>	<b>VÝZNAM POLYAMINŮ U ŽIVOČICHŮ.....</b>	<b>50</b>
4.1	SYNTÉZA POLYAMINŮ .....	50
4.2	SAVCI.....	50
4.2.1	Člověk .....	51
4.2.1.1	Reprodukce .....	51
4.2.1.2	Růst .....	51
4.2.1.3	Imunita a hojení ran .....	51
4.2.1.4	Mateřském mléko .....	52
4.2.1.5	Trávicí trakt.....	52
4.2.1.6	Nádorové bujení.....	53
4.2.1.7	Další onemocnění .....	54
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>55</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>57</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>67</b>

## ÚVOD

Polyaminy jsou látky, které byly až do devadesátých let minulého století řazeny do skupiny biogenních aminů. Struktura jejich molekuly je charakteristická obsahem dvou a více aminoskupin, které se za fyziologických podmínek vyskytují ve formě polykationtů. Tyto sloučeniny mohou vznikat endogenní syntézou přímo v organismu nebo je lze přijímat potravou. Jejich množství se však v daných potravinách velmi liší.

Významnější množství polyaminů se nachází ve fermentovaných potravinách, kde je jejich převážná část tvořena díky dekarboxylační aktivitě některých mikroorganismů.

Nejčastěji se v organizmech vyskytují polyaminy putrescin, spermin, spermidin, kadaverin a agmatin. Existují však i jiné polyaminy, které se uplatňují především u teplotně velmi odolných organismů. Tyto látky vznikají nejčastěji dekarboxylací aminokyselin. Jejich syntéza je velmi složitý proces, který je propojen s jinými různě důležitými metabolickými drahami. A hrají tak zásadní úlohu při mnoha fyziologických pochodech

Jejich funkce jsou dány strukturou jejich polykationtické molekuly, která ochotně reaguje s jinými záporně nabitými strukturami včetně proteinů a nukleových kyselin. Působit mohou buď stabilizováním jejich struktury, anebo efektivní náhradou jiných kationtů, například kovů, které plní v organismu rozličné funkce.

U bakteriálních buněk hrají polyaminy nezastupitelnou úlohu v procesech, ve kterých se opět uplatňuje účinek proteinů či kationtů. Stabilizují strukturu proteinů během tvorby membrán, pomáhají při správné funkci proteinů významných při patogenitě či virulenci, napomáhají při tvorbě biofilmů či se významně podílejí na funkci iontových kanálů. Nejvýznamněji však působí při odpovědích na stres.

Rostlinné organismy využívají polyaminy také k řadě procesů. Uplatňují se intenzivně při reprodukci, či růstu nebo podobně jako u bakterií při odpovědích na různé stresové podněty. Mohou také sloužit jako výchozí látky jiných významných rostlinných produktů, jako jsou například alkaloidy.

Živočichové je pak využívají během pochodů, u nichž probíhá intenzivní dělení a růst buňky. Jejich syntéza je u nich velmi přísně regulována a tak může narušení jejich homeostázy způsobit různé patologické stavy. Jejich koncentrace v tělních tekutinách se

během těchto procesů zásadně mění, mohou tak být potenciálně využity pro prvotní diagnostiku jinak problematicky zjištělných chorob včetně rakoviny.

Ačkoliv jsou tyto látky intenzivně zkoumány, stále ještě nebyly zcela pochopeny některé principy spojené s jejich funkcí v organizmech.



# 1 CHARAKTERISTIKA POLYAMINŮ

## 1.1 Biogenní aminy

Biogenní aminy (BA) jsou chemické látky o malé relativní molekulové hmotnosti, obsahující dusík v podobě aminoskupiny, díky níž vykazují bazický charakter. Mohou vznikat více chemickými ději. Nejčastěji však vznikají dekarboxylací volných aminokyselin, méně často transaminací aldehydů či ketonů (Komprda, 2007; Golian a Zeleňáková, 2014).

### 1.1.1 Rozdělení

Podle chemické struktury molekuly můžeme BA rozdělovat do několika skupin (Komprda, 2007):

- Alifatické- putrescin (PUT), kadaverin (CAD), spermidin (SPD), spermin (SPM), agmatin (AGM)
- Aromatické- tyramin (TYR), fenyletylamin (PEA)
- Heterocyklické- histamin (HIS), tryptamin (TRY)
- Polyaminy- putrescin (PUT), kadaverin (CAD), spermidin (SPD), spermin (SPM), agmatin (AGM)

Některé z nich můžeme současně zařazovat do více skupin současně, například všechny zmíněné alifatické BA můžeme zařadit do skupiny polyaminů, neboť v řetězci obsahují více aminoskupin (Komprda, 2007).

### 1.1.2 Podmínky syntézy

Jak již bylo výše zmíněno, BA vznikají dekarboxylací aminokyselin v organizmech či potravinách, obsahujících bílkoviny nebo již přímo volné, biologicky dostupné, aminokyseliny. Tato podmínka však není jediná, která musí být pro vznik biogenních aminů splněna. Důležitým faktorem je také přítomnost mikroorganismů vykazujících dekarboxylační aktivitu. Třetím předpokladem je dodržení ideálních podmínek, ať už fyzikálních, tak chemických, které jsou důležité hlavně pro správnou činnost těchto mikroorganismů a enzymů, jež syntetizují. Tyto podmínky prostředí nelze vymezit zcela přesně, důvodem je hlavně to, že různé mikroorganismy vyžadují jiné ideální podmínky pro svou činnost. Změna podmínek přímo ovlivňuje dekarboxylační aktivitu enzymů, účastnících se

dekarboxylace aminokyselin a tím tedy i množství syntetizovaných biogenních aminů. K hlavním faktorům, které ovlivňují syntézu, řadíme (Komprda, 2007; Golian a Zeleňáková, 2014):

- Teplotu
- pH
- Koncentraci glukózy
- Přítomnost soli
- Koncentraci dostupných volných aminokyselin
- Koncentraci kyslíku
- Složení startovacích kultur
- Dodržení hygienických zásad při výrobě a skladování potravin
- Doba skladování

Teplota hraje zásadní roli, ale je pro produkci konkrétních BA různá. Zatímco rozmezí ideálního pH lze zobecnit na hodnoty 4,0-5,5. Optimální obsah glukózy, která slouží jako zdroj energie pro syntetizující mikroorganismy, se udává v rozmezí 0,5-2,0 %. Přítomnost solí má ve většině případů inhibiční účinek na produkující mikroorganismy, avšak někdy může mít na ně kladný vliv, mohou být syntetizovány ve větší koncentraci než obvykle. Konkrétně v případě histaminu a tyraminu, kdy soli mohou na některé druhy bakterií působit osmoprotektivním účinkem, je naopak vylučování BA žádoucí. Z tohoto důvodu je jejich koncentrace přímo úměrná koncentraci soli. Významným faktorem je také dostupnost volných aminokyselin, jež je také přímo úměrná k množství syntetizovaných BA. Požadovaná koncentrace kyslíku se liší podle konkrétního metabolismu mikroorganismu (anaerobní, aerobní a fakultativně anaerobní). Vliv má také složení startérových kultur a s tím související dodržování správných hygienických nároků při výrobě a skladování, aby se zabránilo kontaminaci. A také doba skladování, přičemž vyšší obsah BA se bude vyskytovat u potravin s delší dobou skladování (Komprda, 2007; Golian a Zeleňáková, 2014).

### 1.1.3 Výskyt v potravinách

Za předpokladu, že BA vznikají činností bakterií, můžeme potraviny separovat na dvě odlišné skupiny. První skupinu tvoří nefermentované výrobky, u kterých je obsah BA za běž-

ných podmínek nízký. Druhou skupinou jsou fermentované potraviny, zde se naopak mohou vyskytovat ve vyšších koncentracích (Komprda, 2007).

### *1.1.3.1 Nefermentované potraviny*

U nefermentovaných potravin indikuje vyšší obsah BA většinou kažení potraviny. Konkrétní stádium kažení však není možné vztáhnout pouze na celkový obsah těchto látek, ale je závislé na přesném poměru jednotlivých aminů. Tento poměr, nazývaný jako index biogenních aminů (BAI), uvádí obsah BA v mg/kg. Pokud je tento poměr nižší než 1 pokládá se kvalita potraviny za výbornou, naopak je tomu při překročení tohoto poměru nad hodnotu 10, v tom případě je kvalita potraviny pokládána za velmi špatnou. (Křížek a Kalač, 1998):

$$\text{BAI} = (\text{HIS} + \text{PUT} + \text{CAD}) / (1 + \text{SPD} + \text{SPM}).$$

Z uvedeného vzorce tedy můžeme vyvodit závěr, že v průběhu tohoto děje roste koncentrace histaminu, putrescinu a kadaverinu, naopak koncentrace sperminu a spermidinu mírně klesá. Můžeme tedy říci, že hlavními složkami indikující kažení potravin jsou právě polyaminy, a to hlavně putrescin a kadaverin, ale také histamin. Výjimku u nefermentovaných potravin tvoří ryby, u kterých je přirozeně vyšší procento obsahu BA, přičemž na prvním místě z hlediska jejich obsahu jsou ryby makrelovité. Důvodem jejich vyššího množství je mikrobiální kontaminace, způsobená nedostatečnými ochrannými bariérami svalové tkáně. Dalšími nefermentovanými potravinami, kde se může objevit malé množství BA je maso (vepřové i hovězí), mléko, šťávy z citrusových plodů, vinné révy, malin, jahod, a rybízu, v některých druzích ovoce (banán) a zeleniny (špenát) nebo v kakaových bobech (Golian a Zelenáková, 2014; Křížek a Kalač, 1998).

U ostatních nefermentovaných potravin tedy může zvýšený obsah BA ukazovat buď určitý stupeň kažení potravin, anebo její mikrobiální kontaminaci, během její přípravy či skladování a může tedy přímo poukázat na špatné hygienické zásady při jejich výrobě (Önal, 2007).

### *1.1.3.2 Fermentované potraviny*

Fermentované potraviny obsahují záměrně přidané organizmy, které mohou ovlivňovat obsah biogenních aminů. Nejvyšší nalezené množství BA se nachází u sýrů,

fermentovaných masných výrobků, fermentované zeleniny (v ČR hlavně zelí) a alkoholických nápojů (pivo, víno). Všeobecně platí, že spontánně fermentované potraviny obsahují významně více BA v porovnání s potravinami, u nichž byla fermentace vyvolána záměrně a kde byla použita známá kultura (Golian a Zeleňáková, 2014).

Je známo mnoho mikroorganismů, jež umí syntetizovat BA, například rody jako *Bacillus*, *Clostridium*, *Morganella*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* nebo zástupci čeledi *Enterobacteriaceae* (*Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*). Možným řešením pro eliminaci jejich produkce v potravinách je používání známých startérových kultur, které tyto látky neprodukují (Önal, 2007).

#### 1.1.4 Účinky na člověka

I když jsou BA tělu vlastní a v potravinách v menších koncentracích běžně se vyskytující látky může organizmus redukovat jejich množství hned dvěma detoxikačními systémy (Golian a Zeleňáková, 2014):

- působením aminooxidáz
- konjugačním mechanismem

Jestliže se u jedince vyskytuje porucha jednoho z těchto mechanismů, například kvůli genetické predispozici, můžeme očekávat hromadění BA uvnitř organismu. Příkladem mohou být i pacienti, jež jsou léčeni pomocí inhibitorů monoaminoxidáz. Detoxikační mechanismus těchto osob nefunguje dostatečně a může zde nastávat hromadění BA. Pokud vzroste koncentrace BA nad určité hodnoty, mohou působit tyto látky toxicky. Kromě výše zmíněného příjmu určitých léčiv může mít negativní vliv na odbourávání BA také příjem alkoholu (Golian a Zeleňáková, 2014; Önal, 2007).

Toxický účinek při vyšším příjmu potravin obsahujících BA tedy závisí na individuálních rozdílech mezi lidmi, ale také na konkrétní skladbě přijímaných biogenních aminů, jež mohou působit na organizmus synergickým efektem. Jako příklad můžeme uvést účinek diaminů putrescinu a kadaverinu a polyaminů spermidinu a sperminu, které podporují intestinální absorpci ostatních BA a zároveň omezují jejich rozklad. Eventuální otrava těmito látkami se může projevat jako migréna nebo jako zvýšení či snížení krevního tlaku (Komprda, 2007; Önal, 2007).

Nejde všeobecně vymezit účinek BA na organizmy, neboť každá z těchto látek plní odlišnou funkci. Aromatické aminy, tyramin, tryptamin a fenyletylamin, způsobují vazokonstrikci, naproti tomu histamin a serotonin působí jako vazodilatátory. Tyramin a histamin také působí jako mediátory hormonů či nervových vzruchů a to jak u lidí, tak zvířat (Önal, 2007; Kalač a Křížek, 2003).

### 1.1.5 Detekce BA

Dnes jsme schopni kvantitativně detekovat BA přítomné v potravinách. K tomuto účelu spolehlivě slouží analytické chromatografické metody, přesněji chromatografie na tenké vrstvě (TLC), plynová chromatografie (GC) či vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), ale také kapilární elektroforéza (CE). Nejpoužívanější metodou pro zjišťování obsahu BA je HPLC. U testovaných potravin můžeme stanovovat hladiny více BA současně během jednoho měření. Použitá metoda vychází z toho, jaké jsou vlastnosti zkoumané potraviny a také z toho, jaký BA se snažíme nalézt. Pro přesnost stanovování však může být problémem velmi nízká koncentrace přítomných BA a také složitost matrice vzorku (Önal, 2007).

Limity některých biogenních aminů jsou dány dokonce i legislativou, avšak jejich nejvyšší přípustná hranice se v jednotlivých státech liší. Hodnotit můžeme například množství histaminu, jehož hladiny bývají stanovovány u ryb či alkoholických nápojů. Obecně se však tyto horní hranice pohybují v desítkách či stovkách mg na kilogram potraviny (Komprda, 2007).

V České republice je aktuálně platné Nařízení komise evropských společenství číslo 1441/2007, kterým se nahrazuje nařízení číslo 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Tento dokument uvádí maximální povolené hodnoty histaminu produktů rybolovu z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu v maximálním množství 100 mg/kg a u produktů rybolovu, které byly ošetřeny enzymatickým zráním v láku, vyrobené z druhů ryb spojovaných s vysokým množstvím histidinu maximální hodnoty 200 mg/kg (Úřední věstník Evropské unie, 2007).

## 1.2 Polyaminy

Až do 90. let minulého století byly polyaminy řazeny do jedné skupiny spolu s biogenními aminy. Kvůli jejich původu (syntézou *de novo*), který je odlišný od ostatních BA, a také díky odlišnostem v jejich biologické funkci v organizmech, však nastalo vyčlenění této skupiny látek do samostatné kategorie (Kalač a Glória, 2009).

Poprvé byly tyto látky pozorovány již v roce 1678, kdy Antonie van Leeuwenhoek pozoroval neznámou krystalickou látku, izolovanou z lidského spermatu, starého několik dní. Tato neznámá látka byla nazvána „spermin“ (Bachrach, 2010).

Polyaminy v živých systémech mohou pocházet ze tří různých zdrojů, prvním je endogenní syntéza, *de novo* syntéza, která v těle zajišťuje stále určitou potřebnou zásobu polyaminů nazývanou jako pool. Druhým zdrojem je tvorba pomocí bakterií v trávicím traktu a třetí možností je příjem z potravy, která bývá jejich hlavním zdrojem. Při zvýšeném příjmu polyaminů z potravy mohou vznikat alimentární otravy (Kalač, 2014; Önal, 2007).

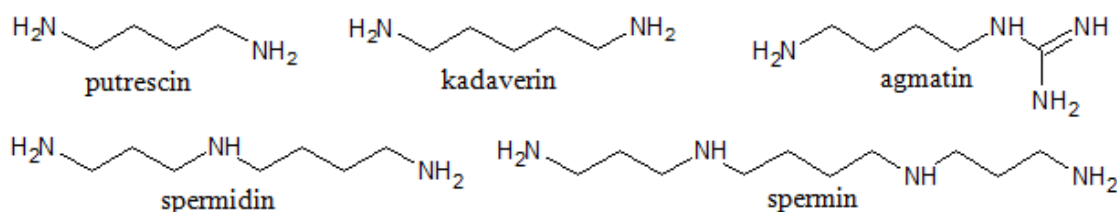
Názvy těchto látek mohou být často spojovány s ději jako je mikrobiální karcinogeneze, tvorba biofilmů, únik z fagolysosomů, produkce bakteriocinů, aktivita toxinů v boji proti oxidačnímu stresu, růst a vývoj ovoce, stabilizace buněčné membrány, proliferace buněk a mnoho dalších (Shah a Swiatlo, 2008; Önal, 2007).

### 1.2.1 Chemická struktura

Jak již bylo zmíněno výše, tako skupina látek je charakterizována přítomností několika aminovými skupinami ve své molekule. Tyto skupiny se za přítomnosti fyziologického pH vyskytují ve formě kationtů, sloučeniny se tedy běžně vyskytují ve formě polykationtů. Jsou to ve vodě rozpustné sloučeniny s hodnotami pK kolem 10 (Moinard a kol., 2005).

Primární aminy putrescin (1,4-diaminobutan) a kadaverin (1,5-diaminopentan), obsahují dvě amino-skupiny vždy na koncích svého řetězce. Zajímavou vlastnost mají však sekundární aminy, spermidin (N-(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin) a spermin (N,N'-bis(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin), u nichž se aminoskupiny opakují v řetězci v pravidelných intervalech. Důsledkem tvorby kationtů mohou tyto látky tvořit zajímavé elektrostatické můstky s jinými, naopak záporně nabitými, sloučeninami. Příkladem může být vazba se záporně nabitým fosforečnanem, obsaženém v nukleové kyselině nebo s jiným polymerem (Shah a Swiatlo, 2008).

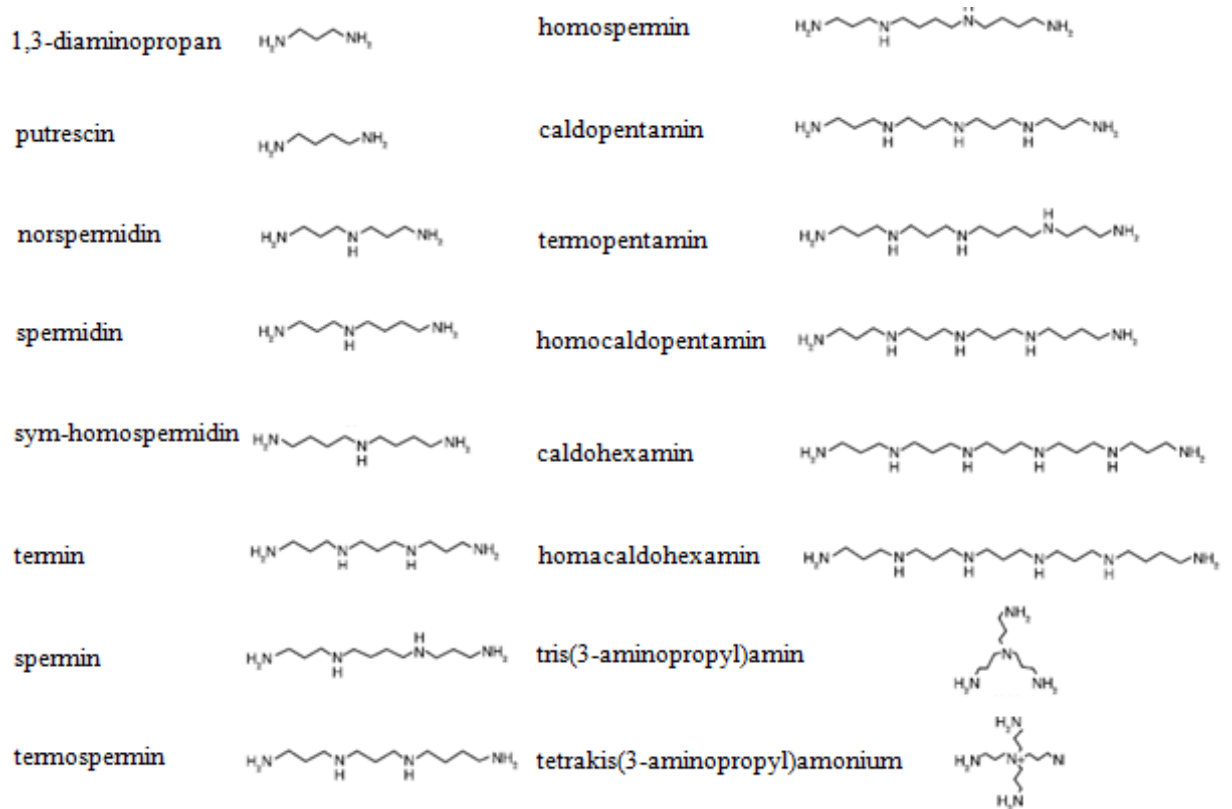
Základními polyaminy, které se vyskytují téměř ve všech živých organizmech, jsou putrescin, agmatin, kadaverin, spermin a spermidin (Obrázek 1). Avšak většina zdrojů mluví převážně o sperminu, spermidinu a putrescinu (Moinard a kol., 2005).



Obrázek 1 Základní polyaminy (Önal, 2007)

Někdy se dokonce k základním polyaminům neřadí ani putrescin a je uváděn pouze jako prekurzor vyšších polyaminů sperminu a spermidinu. Agmatin je zřídka uváděn z toho důvodu, že byl objeven poměrně nedávno (Moinard a kol., 2005; Izquierdo-Pulido a kol., 1996).

Ačkoli mezi základní polyaminy obvykle řadíme putrescin, agmatin, kadaverin, spermin a spermidin, existují organizmy, u nichž byly nalezeny další typy polyaminů. Tyto neobvyklé polyaminy syntetizují extrémně termofilní bakterie. Zkoumaný organizmus *Thermus thermophilus* tvořil kromě běžně se vyskytujících polyaminů (putrescinu, sperminu a spermidinu) mnoho dalších, jež lze rozdělit podle složitosti molekuly na dlouhé a rozvětvené. Ke skupině dlouhých polyaminů řadíme termin, termospermin, homospermin, 1,3-diaminopropan, norspermidin, sym-homospermidin, kaldopentamin, termopentamin, homokaldopentamin, kaldohexamin a homokaldohexamin. Do skupiny rozvětvených pak řadíme tris-(3-aminopropyl)amin, někdy uváděný pod názvem mitsubishin a tetrakis-(3-aminopropyl)amonium neboli  $N^4$ -bis(aminopropyl)spermidin. Struktury těchto polyaminů můžeme vidět na obrázku 2 (Oshima, 2007).



Obrázek 2 Polyaminy nalezené u termofilních organismů (Oshima, 2007)

### 1.2.2 Syntéza polyaminů

Jelikož je úloha polyaminů v organismu důležitá, existují biosyntetické dráhy zajišťující tvorbu těchto fyziologicky důležitých látek. Tato stará metabolická dráha se nachází u všech typů organismů a její homeostáza je rozhodující pro přežití buňky (Kalač, 2014).

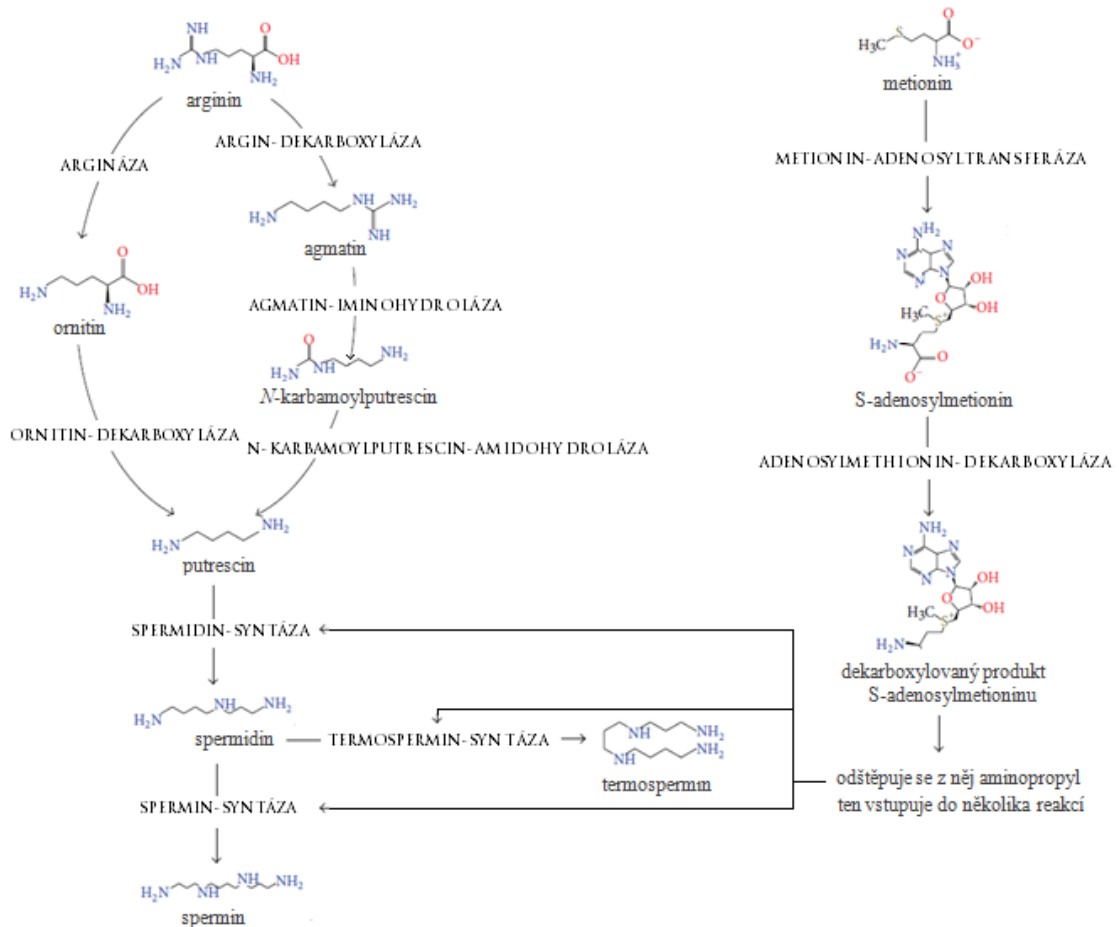
Agmatin, putrescin, spermin a spermidin jsou tvořeny stejnou metabolickou drahou. Přičemž spermin a spermidin jsou deriváty vyšších polyaminů agmatinu nebo putrescinu. Jejich tvorba nastává z aminokyseliny argininu, přičemž je zde možnost tvorby polyaminů prostřednictvím dvou různých cest, které shodně vycházejí z argininu a sjednocují se při syntéze putrescinu. U první varianty syntézy je z argininu za pomoci enzymu arginázy vytvořena aminokyselina ornitin, z níž je následně účinkem enzymu ornitin-dekarboxylázy (ODC) syntetizován putrescin. U druhé možnosti vychází syntéza opět z argininu, avšak účastní se zde jiný enzym, arginin-dekarboxyláza (ADC), za jehož účasti je vytvořen polyamin agmatin. Ten vstupuje do další reakce katalyzované enzymem agmatin-iminohydrolázou (AIH) a vzniká meziproduct N-karbamoylputrescin, který je za účasti enzymu N-karbamoyl-putrescin-amidohydrolázy (CPA) již přeměněn na putrescin. Při



tvorbě putrescinu touto cestou vniká jako vedlejší produkt močovina. V okamžiku syntézy putrescinu nastává sloučení těchto dvou cest a následuje shodná syntéza dalších polyaminů. V následujícím kroku se na putrescin navazuje aminopropyl, reakci katalyzuje enzym spermidin-syntáza (SPDS) a vzniká spermidin. V poslední reakci této metabolické dráhy se na spermidin navazuje opět aminopropyl a za účasti enzymu spermin-syntázy (SPMS), vzniká spermin. Souhrnně SPDS a SPMS označujeme aminopropyltransferázy. Aminopropyl vzniká několika stupňovou reakcí z metioninu. Ze kterého působením enzymu metionin-adenosyl-transferázy (MAT či S-adenosylmetionin-syntetáza) vzniká S-adenosylmetionin (SAM). Z S-adenosylmetioninu následně vzniká působením S-adenosylmetionin-dekarboxylázy (SAMDC, AdoMetDC) dakarboxylovaný produkt S-adenosylmetioninu. Tento dekarboxylovaný produkt uvolňuje ze své molekuly aminopropyl, který pak slouží jako jedna z výchozích látek u syntézy spermidinu, sperminu nebo termosperminu - strukturního izomeru sperminu (Rangan a kol., 2014; Pathak a kol., 2014; Moinard a kol., 2005).

Některé z enzymů nemusí být u všech typů organizmů stejné, například ADC u savců je odlišný jako u bakterií či rostlin. (Moinard a kol., 2005)

Reakce, při níž vznikají z putrescinu další polyaminy, spermin a spermidin, fungují obousměrně. Jejich katabolismus zajišťuje enzym spermidin/spermin N<sup>1</sup>-acetyl-transferáza (SSAT), která acetyluje spermidin či spermin. Tato reakce probíhá v cytoplazmě buňky. Následné oxidační reakce probíhají v peroxizomech a jsou katalyzovány polyamino-peroxidázou. Celá syntéza polyaminů je graficky znázorněna na Obrázku 3 (Kalač, 2014).



Obrázek 3 Syntéza polyaminů (Rangan a kol., 2014)

Kadaverin má odlišnou syntézu, jako ostatní polyaminy. Tato sloučenina vzniká dekarboxylací aminokyseliny lyzinu, za přítomnosti enzymu lyzin-dekarboxylázy (LDC). Biosyntéza kadaverinu je pravděpodobně stejná u rostlin, živočichů i mikroorganismů. Jeho název vychází z anglického slova cadaver = mrtvola, a to z důvodu, že kadaverin spolu s putrescinem jsou bakteriální produkty rozkladu hnilobného masa a způsobují jeho typický nepříjemný pach (Tomar a kol., 2013).

### 1.2.3 Vazba s nukleovými kyselinami

DNA a RNA jsou důležité aminokyseliny pro přenos genetické informace. Uvádí se, že polyaminy mohou stabilizovat konformaci těchto složitých struktur. Například mohou stabilizovat komplex DNA a chromatinu během dělení buňky (Moinard a kol., 2005).

Polyaminy se mohou vázat také na specifická místa v molekule tRNA. Na této molekule se běžně vyskytují kationty, například hořčík, které mohou být nahrazeny polyaminem (Bachrach, 2010).

#### 1.2.4 Apoptóza

Při nadměrné syntéze polyaminů byla pozorována zvýšená apoptóza buněk. Tento jev může být způsoben nadměrnou tvorbou peroxidu vodíku, který vzniká jako vedlejší produkt při rozkladu polyaminů prostřednictvím polyaminoxidázy (PAO). Peroxid tak může zvyšovat oxidační stres v buňce a vyvolávat tak u buněk tento typ programované buněčné smrti. Při použití inhibitorů ODC bylo pozorováno snížení apoptózy. Opětný nárůst apoptózy byl však zaznamenán při extracelulárním dodání putrescinu (Moinard a kol., 2005).

#### 1.2.5 Výskyt v potravinách

Běžná potrava zajišťuje zdroje polyaminů v množství několika mikromolů za den. Přičemž obsah v jednotlivých potravinách se značně liší. Jejich hodnoty se mohou pohybovat v rozmezí několika nanomolů až mikromolů na gram potravin. Na polyaminy jsou bohaté převážně fermentované potraviny, jako jsou sýry a podobně. Neliší se však jen jejich množství, ale také skladba konkrétních polyaminů. Maso například obsahuje převážně spermin, zatímco rostliny hlavně spermidin a putrescin (Moinard a kol., 2005).

Koncentrace polyaminů v rámci jednotlivých druhů potravin výrazně kolísají. Velmi rozdílné hodnoty jsou typické u potravin živočišného původu (Kalač a Krausová, 2005).

Vysoký obsah putrescinu bývá také často spojován s mikrobiální kontaminací. Vysokou aktivitu jeho syntézy má několik skupin bakterií, zejména *Enterobacteriaceae* a *Clostridium* (Kalač a Krausová, 2005).

Polyaminy se v potravinách mohou vyskytovat ve dvou základních formách, jako volné nebo jako vázané s jinými molekulami. Typické konjugáty tvoří například s fenoly či s membránovými fosfolipidy. Funkce volných a vázaných molekul jsou odlišné, avšak většina zdrojů udává pouze celkový obsah polyaminů a nerozlišuje tyto dvě formy (Kalač a Krausová, 2005).

Při tepelné úpravě může docházet k uvolňování polyaminů do výluhu, čímž se jejich množství v konečných pokrmech může významně změnit. Při vaření zeleniny ve vodě se může

vyluhovat až 40 % z původní hodnoty putrescinu a spermidinu až 30 % (Kalač a Krausová, 2005).

Tělo však není zcela závislé na příjmu polyaminů z potravy a proto si dostatečné množství syntetizuje samo. Proto můžeme vysoké koncentrace polyaminů najít i v období během půstu. Polyaminy jsou však z potravy absorbovány beze zbytku. Proto mohou v případě konzumace potravin, bohatých na tyto látky, tvořit jejich významný zdroj (Moinard a kol., 2005).

### **1.2.5.1 Čerstvé výrobky**

#### 1.2.5.1.1 Ovoce a zelenina

Typicky jsou polyaminy obsaženy v ovocných plodech a čerstvých ovocných šťávách, přičemž dominantní je zde obsah sperminu (Malik a Singh, 2006).

Významné množství se pak vyskytuje hlavně u citrusových plodů a šťáv vyrobených z nich. Velmi vysoké obsahy putrescinu se vyskytují u mandarinek, pomerančů, pomerančového a grepového džusu. Jeho koncentrace mohou dosahovat i nad 40 mg/kg suroviny. Vysoká množství polyaminů obsahuje také kečup (Kalač a Krausová, 2005).

Ze zeleniny jsou to pak brokolice a květák a luskoviny (nejvíce sójové boby a hrášek), které obsahují převážně spermidin a jeho koncentrace se pohybují nad 30 mg/kg zeleniny. U luštěnin se pak vyskytuje hlavně spermin. U mraženého hrášku se ale vyskytují i velmi vysoké koncentrace putrescinu, jehož koncentrace mohou být vyšší než 40 mg/kg. Významné zvýšení putrescinu bylo sledováno také při chladírenském skladování čínské zelení, čekanky a ledového salátu. Jeho množství se během pěti dní zvýšilo 3-8 krát. Množství sperminu a spermidinu však zůstávalo téměř stejné (Kalač a Krausová, 2005).

Zajímavý jev byl pozorován v průběhu pražení kávy, během kterého významně kleslo množství spermidinu. U putrescinu a sperminu dokonce došlo k úplné ztrátě (Kalač a Krausová, 2005).

#### 1.2.5.1.2 Mléko

Kravné a stejně tak i mateřské mléko obsahují nízké koncentrace polyaminů. Jejich množství v největší míře souvisí s fází laktace. Přičemž nejvyšší hodnoty sperminu a spermidinu

byly nalezeny v kolostru, tvořeném na samém počátku laktačního období (Kalač a Krausová, 2005).

Jelikož je mléko potravinu určená převážně pro výživu mláďete předpokládá se, že vysoké koncentrace polyaminů jsou potřebné pro jeho intenzivní růst. Mléčné výrobky obsahují převážně putrescin a spermidin (Moinard a kol., 2005).

Suma koncentrací všech BA včetně polyaminů je u mléka poměrně nízká, pohybuje se kolem 1 mg/kg, zatímco u sýrů se koncentrace může blížit až k hodnotám 1 g/kg (Loizzo a kol., 2016).

#### 1.2.5.1.3 Maso a vnitřnosti

U masa a masných výrobků je převažujícím polyaminem spermin. Jeho nejvyšší koncentrace jsou typické pro maso a masné výrobky z teplokrevných zvířat. Jeho hladiny v těchto surovinách se běžně pohybují mezi 20 a 60 mg/kg hmoty. Obsah sperminu u ryb je o něco nižší a uvádí se zde koncentrace nižší než 10 mg/kg. Vyšší obsah spermidinu se může vyskytovat u zvířat, u nichž tvoří hlavní podíl výživy rostlinná krmiva, například u kuřat (Kalač a Krausová, 2005).

Skladba polyaminů se může lišit také podle živočišného druhu. U vepřového masa a masných výrobků se vyskytují především spermin a spermidin, zatímco hovězí obsahuje hlavně kadaverin (Loizzo a kol., 2016).

Během skladování masa dochází k biochemickým změnám, zahrnující i změnu koncentrací jednotlivých polyaminů. Tento jev byl popsán výše v souvislosti s indexem BAI. Množství putrescinu se při skladování běžně zvyšuje, zatímco hodnoty sperminu a spermidinu zůstávají stejné nebo klesají. Stejný průběh byl pozorován i při skladování sladkovodních a mořských živočichů. Během skladování ryb (štikozubec obecný) byly nejvyšší hladiny sledovány po 29 dnech skladování, při teplotě 6-8 °C. U dobře opracovaných masných výrobků, například u tuňákových konzerv, se nemusí množství putrescinu měnit a může se pouze snižovat obsah sperminu a spermidinu. Při kontaminaci se obsah polyaminů mění v závislosti na složení kontaminující flóry (Kalač a Krausová, 2005).

### 1.2.5.2 Fermentované výrobky

#### 1.2.5.2.1 Fermentované mléčné výrobky

Ačkoliv mléko neobsahuje významné množství polyaminů, mohou být přesto některé fermentované výrobky jejich významným zdrojem. Převážná část však nepochází z původní suroviny, tedy mléka, ale vzniká činností bakterií. Proto můžeme jejich syntézu korigovat prostřednictvím úpravy vnějších podmínek, jak bylo zmíněno v kapitole 1.2.1. Jako konkrétní příklad můžeme uvést účinky různých látek přidaných do substrátu během fermentace mléka pomocí startérové kultury *Lactococcus lactis*. Při tomto pokusu bylo jako první přidáno syřidlo, které zvyšovalo tvorbu spermidinu a putrescinu. Zatímco přítomnost soli snižovala tvorbu úplně všech polyaminů, a to i v koncentracích 0,5 g/l. Obsahu polyaminů je závislý také na třech skutečnostech (Kalač a Krausová, 2005):

- Ošetření mléka - pasterované nebo nepasterované
- Použité kultuře - termofilní či mezofilní
- Technologii výroby - vysokodohřívání či nízkodohřívání syřenina

Nejnižší tvorba polyaminů probíhala u výrobků z pasterovaného mléka, za přítomnosti mezofilní kultury a s vysokodohříváním syřeninou (Kalač a Krausová, 2005).

Nejvíce diskutované mléčné výrobky z hlediska množství polyaminů jsou sýry, přičemž jejich koncentrace se zvyšuje s narůstajícím časem zrání. Jejich nejvyšší koncentrace se pak nachází právě u dlouho zrajících sýrů (Kalač a Krausová, 2005).

U sýrů se nejhojněji vyskytuje putrescin. Jeho množství se uvádí kolem 2,5g/kg, v závislosti na druhu sýra a jeho stáří (Benkerroum, 2016).

Pokud je na mléko působeno vysokým tlakem, probíhá zde intenzivnější proteolýza, a důsledkem je uvolňování vyššího množství aminokyselin. Tím vzniká více substrátu pro tvorbu polyaminů a dochází k jejich zvýšené syntéze (Kalač a Krausová, 2005).

#### 1.2.5.2.2 Fermentované masné výrobky

Masné výrobky jsou bohatým zdrojem bílkovin, které během jejich opracování denaturují, ať už teplem, kyselým prostředím, či účinkem solí. U denaturovaných bílkovin jsou lépe

dostupné aminokyseliny a může tak snáze probíhat proteolýza. Tím se zvyšuje dostupnost substrátu pro tvorbu BA a polyaminů a tím pádem může docházet k jejich akumulaci v těchto výrobcích (Loizzo a kol., 2016).

U fermentovaných masných výrobků jsou koncentrace polyaminů i složení jednotlivých polyaminů velmi proměnlivé. Hladiny se mohou pohybovat v rámci jednotek, ale i stovek mg/kg. Na rozdíl od masa obsahují fermentované masné výrobky vyšší koncentrace putrescinu (Kalač a Krausová, 2005).

Významnými producenty putrescinu u masných výrobků jsou bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* a rodu *Pseudomonas* (Loizzo a kol., 2016).

Množství polyaminů může být ovlivněno také druhem obalového materiálu, do kterého je výrobek uložen. Přírodní střevo balené ve vakuu bylo z hlediska polyaminů nejlepší prostředím pro jejich syntézu. Naopak nově vyvinutý obal OVTENE® jejich tvorbu snižoval (Loizzo a kol., 2016).

#### 1.2.5.2.3 Kysané zelí

Kvašení zelí lze provádět prostřednictvím dvou základních procesů. Prvním je spontánní fermentace pomocí bakterií, které se přirozeně vyskytují v zelí. Při tomto procesu se v počáteční fázi uplatňují heterofermentativní bakterie mléčného kvašení, následně pak acidorezistentní druhy homofermentativních bakterií. Během spontánního kvašení však nemůžeme odhadovat přesné bakteriální složení a tedy i chemické složení výsledného produktu. Druhým procesem je použití startérových kultur, jejichž složení přesně známe a můžeme tedy očekávat stabilní a nekontaminovaný produkt (Peñas a kol., 2010).

Při kvašení zelí se uplatňují dva důležité mikroorganismy *Leuconostoc mesenteroides* a *Lactobacillus plantarum*. Obě tyto bakterie jsou schopny produkovat polyaminy. Nejvyšších koncentrací v kysaném zelí dosahuje spermidin, o něco méně pak putrescin. Ačkoliv bakterie *Lactobacillus spp.* syntetizují celkově vyšší množství celkových polyaminů, v syntéze putrescinu dominuje první bakterie *Leuconostoc mesenteroides*, který dokáže tvořit až v množství 200 mg/kg (Peñas a kol., 2010; Loizzo a kol., 2016).

Putrescin, kadaverin a spermidin se vyskytují i u jiné kvašené zeleniny, jako je například mrkev či řepa a jejich množství se pohybuje v rámci jednotek mg/kg (Loizzo a kol., 2016).

#### 1.2.5.2.4 Pivo

Kvůli vysoké spotřebě piva a obavám, že se v něm vyskytují BA a polyaminy, byly stanoveny hodnoty jejich koncentrací v tomto nápoji. Experimentům byly podrobeny různé druhy piv, včetně nealkoholických. U všech piv byla detekována přítomnost putrescinu a spermidinu, množství sperminu naopak bylo pod hranicí detekce. Nejvyšší koncentrace dosahoval putrescin. Obsah polyaminů se u alkoholických a nealkoholických piv výrazně neliší. Jejich množství v pivu se pohybovalo v jednotkách ppm, což přibližně odpovídá jednotkám mg/kg (Buiatti a kol., 1995).

Jiné zdroje, zahrnující do průzkumu i agmatin uvádí, že v pivu je dominantní právě jeho množství (Izquierdo-Pulido a kol., 1996).

Limitní hodnoty koncentrací polyaminů nejsou stanoveny. Uvádí se však takzvaná „zdravá“ hladina celkových BA (histaminu, fenylalaninu, tryptaminu, tyraminu, sperminu, spermidinu, putrescinu a kadaverinu). Tato hodnota by neměla překročit 100 mg/l. Při jejím překročení by mohlo docházet k toxikologickému riziku vyvolanému jednak synergickým účinkem jednotlivých biogenních aminů a také vlivem alkoholu, který inhibuje detoxikaci. Téměř 25 % testovaných vzorků piv tuto hranici překročilo a 6 % vzorků dokonce dvojnásobně. Putrescin se vyskytoval téměř u všech vzorků a jeho hodnoty byly do 50 mg/l. Obsah kadaverinu byl různý, některé vzorky ho neobsahovaly vůbec, u některých byl jeho obsah vyšší než putrescinu. Hlavními producenty putrescinu a kadaverinu, jsou podobně jakou masných výrobků rody bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* nebo *Pseudomonas*. Většina piv obsahovala i spermin a spermidin, jejich koncentrace však byly pod 30 mg/l (Buňka a kol., 2012)

Co se týče pivovarnických surovin, nejvýznamnější množství polyaminů obsahuje slad. Změny v jejich hladinách probíhají během sladařské výroby, hlavně při klíčení ječmene a jeho sušení. Nutné je také podotknout, že pivovarnické kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* nejsou producenty polyaminů během výroby piva. Syntézu polyaminů zajišťují bakterie z přirozené flóry, nejvíce pak rod *Lactobacillus* či *Pediococcus*. Spermin a spermidin pocházejí převážně ze suroviny, zatímco kadaverin je tvořen hlavně kontaminujícími bakteriemi (Kalač a Křížek, 2003; Izquierdo-Pulido a kol., 1996).



#### 1.2.5.2.5 Víno

Obsah polyaminů ve víně se může výrazněji odlišovat a pohybuje se od nedetekovatelného množství až po 100 mg/l. Obecně se vyšší koncentrace polyaminů nalézají u červených vín než u bílých (Bover-Cid a kol., 2006).

Jsou známy cesty, jak se mohou během procesu výroby vína do produktu dostat polyaminy. Za prvé je to přirozený výskyt v hroznech, ze kterých je připravován mošt. Další možností je tvorba prostřednictvím kvasinek a jako poslední je to tvorba činností fermentujících bakterií. Z polyaminů se ve víně nejhojněji vyskytuje putrescin (Loizzo a kol., 2016).

Hodnoty koncentrace putrescinu se během zrání červeného vína výrazně měnily, vzrostly téměř dvojnásobně. Množství sperminu se přitom neměnilo. Rozdíly v množstvích polyaminů se ukázaly být závislé i na typu dřeva, ze kterého byly vyrobeny sudy, v nichž víno zrало. Jak bylo zmíněno výše, polyaminy se mohou luhovat a může tak docházet k jejich přestupu ze dřeva do vína (Kalač a Krausová, 2005).

#### 1.2.5.2.6 Fermentované sójové výrobky

U fermentovaných sójových výrobků se vyskytuje také značné množství polyaminů. Nový způsob prevence proti jejich tvorbě byl použit u přípravy sójové pasty, která byla před fermentací ozářena. Díky tomu klesla tvorba putrescinu a spermidinu, hladiny sperminu nebyly ovlivněny (Kalač a Krausová, 2005).

## 2 VÝZNAM POLYAMINŮ U MIKROORGANISMŮ

### 2.1 Bakterie

Ohledně výskytu polyaminů v bakteriálních buňkách se vyskytuje množství informací, což je způsobeno intenzivním výzkumem v této oblasti. Hlavním důvodem je to, že živočišné a rostlinné buňky jsou velmi náročné na kultivaci, proto se pro tyto účely využívají převážně bakteriální buňky, které jsou na rozdíl od předchozích dvou typů, snadno kultivovatelné v podmínkách *in vitro* (Bachrach, 2010).

Problém je však v určení skutečných funkcí polyaminů a to nejen u bakteriálních buněk, ale u všech typů organismů. Důvodem je to, že většina výzkumů na toto téma se provádí *in vitro*, tudíž v reálných podmínkách mohou organizmy vykazovat odlišné biochemické odpovědi (Chattopadhyay, a kol., 2002).

Ačkoli jsou polyaminy všeobecně považovány za intracelulární látky, existují důkazy o tom, že se podílejí také na udržování povrchových struktur bakterií (Shah a Swiatlo, 2008).

#### 2.1.1 Metabolismus polyaminů u bakterií

Bakteriální metabolismus je řízen prostřednictvím konkrétních genů, které se v rámci jednotlivých skupin mikroorganismů mohou lišit. Většinou je metabolismus polyaminů shodný u bakterií stejného druhu nebo dokonce kmene (Benkerroum, 2016).

Téměř u všech bakterií je převažujícím intracelulárním polyaminem spermidin, ale u *E. coli* převažuje putrescin. Hodnoty koncentrace sperminu nejsou známy a kadaverin se u bakterií vyskytuje nejméně. Avšak *E. coli* syntetizuje kadaverin při anaerobních podmínkách v prostředí nízkého pH nebo při absenci biosyntézy putrescinu (Shah a Swiatlo, 2008).

U *E. coli* a u mnoha druhů *Pseudomonas* může být putrescin syntetizován dvěma cestami:

- Dekarboxylací ornitinu, enzymem ornitin-dekarboxylázou, za vzniku putrescinu
- Dekarboxylací argininu, enzymem arginin-dekarboxylázou, za vzniku agmatinu, který se následně mění enzymem ureohydrolázou na putrescin a močovinu.

U bakterie *Pseudomonas aeruginosa* existuje další syntetická dráha, v níž je agmatin přeměněn na putrescin za účasti N-karbamoyl-fluorescinu (Shah a Swiatlo, 2008).

ODC je klíčovým enzymem tvorby putrescinu, který je regulován reverzibilně množstvím putrescinu či sperminu, anebo komplexem cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) a jeho receptorového proteinu. Tento komplex zajišťuje dočasné pozastavení exprese genu, jež tuto reakci kóduje. Na biosyntéze putrescinu se podílejí geny *speA*, *speB* a *speC*, zatímco u spermidinu to jsou geny *speE* a *speD* (Shah a Swiatlo, 2008).

U bakterií existuje kromě biosyntézy *de novo* i transportní systém, umožňující vychytávání extracelulárních polyaminů. Tím je zajištěn další zdroj polyaminů, který poskytuje bakteriím výhodnou schopnost pro adaptaci nebo dokonce pro přežití. Tato vlastnost byla pozorována u modelového organismu *E.coli*, ale očekává se přítomnost stejné vlastnosti i u dalších organismů, bakterií, kvasinek i prvoků (Shah a Swiatlo, 2008).

Na druhou stranu vyšší koncentrace polyaminů mohou inhibovat růst gram-pozitivních bakterií (Bachrach, 2010).

### 2.1.2 Buněčná membrána

Polyaminy mají zásadní úlohu pro fungování vnější membrány gram negativních bakterií. Podílejí se hlavně na správné funkci a tvorbě integrálních proteinů, porinů, které tvoří základní funkční jednotku kanálů. Tyto proteiny umožňují prostup hydrofilních sloučenin skrz membránu. U *E. coli* bylo pozorováno vzájemné ovlivňování porinů a polyaminů založené na změně napětí, které je klíčové pro činnost kanálů. Putrescin a spermidin tvoří vazby s kyselými zbytky kyseliny asparagové, jejíž molekula je součástí porinů. Následná změna náboje vyvolává zmenšení póru, až jeho uzavření, a membrána je tím pádem nepropustná (Shah a Swiatlo, 2008).

### 2.1.3 Tvorba biofilmu

Biofilm je určitá forma společenství bakterií, které kromě samotných bakteriálních buněk obsahuje extracelulární hmotu složenou z exopolysacharidů, bílkovin a někdy i DNA. Jeho tvorba může probíhat buď na pevném podkladu a nebo na povrchu kapaliny. Vliv na tvorbu biofilmu mají především dva polyaminy. Spermidin, který se vyskytuje téměř u všech bakterií a jeho kratší derivát norspermidin, který byl pozorován u bakterií, jako jsou například *Vibrio*. Tato skutečnost byla sledována při léčbě onemocnění jež vyvolávají *Vibrio cholerae*, *Yersinia pestis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a *Neisseria gonorrhoeae*. Tyto po-

lyaminy mohou účinkovat na různé typy proteinů a měnit jejich funkce. Stejně tak regulují tvorbu polysacharidů, jež se uplatňují při tvorbě biofilmu. Extracelulární, ale i intracelulární norspermidin podporoval tvorbu biofilmu u *Vibrio cholerae* a *Neisseria gonorrhoeae*, zatímco exogenní spermidin jeho tvorbu inhiboval. U *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* byla situace zcela opačná, tvorbu biofilmu zde inhiboval norspermidin. Tyto dva polyaminy tedy působí u konkrétních organismů antagonisticky. Účinek polyaminů na tvorbu biofilmů byl prokázán jak u  $G^+$  tak i u  $G^-$  bakterií (Karatan a Michael, 2013).

#### 2.1.4 Patogenita a virulence

Pro bakterii *Streptococcus pneumoniae* hraje zásadní úlohu cholin, který je nezbytný pro tvorbu teikoové a lipoteikoové kyseliny, a také pro ukotvení proteinů, důležitých pro virulenci bakterie. Pokud u bakterie dojde k nedostatku cholinu, může jeho funkci v syntéze kyselin nahradit putrescin. Ovšem ten zcela odlišně působí na zmíněné proteiny. Putrescin jejich počet snižuje, čímž bakterie ztrácí svou schopnost ukotvovat se k povrchu a důsledek je tak snížení virulence bakterie (Shah a Swiatlo, 2008).

#### 2.1.5 Stres

##### 2.1.5.1 Stres způsobený nízkým pH

U patogenů hostujících ve střevním traktu, je schopnost přežití ve velmi kyselém prostředí základním předpokladem. Právě polyaminy považujeme za hlavní mediátory v reakci na stres způsobený nízkým pH. U *E. coli* působí proti nízkému pH především glutamát-dekarboxyláza. Expresi genů, které zajišťují její tvorbu, regulují polyaminy tím, že mohou redukovat množství intracelulárního cAMP (Shah a Swiatlo, 2008).

Princip ochrany spočívá v tom, že hlavní prekurzory při syntéze jsou aminokyseliny. Při tvorbě putrescinu dochází k alkalizaci cytoplazmy a tvorbě protonové hnací síly, která pomáhá v adaptaci na kyselé podmínky. Navíc při tomto procesu vzniká ATP, jež je nezbytnou sloučeninou pro život buňky (Benkerroum, 2016).

### 2.1.5.2 Oxidační stres

Nejvíce nebezpečnými z hlediska oxidačního stresu jsou pro patogeny reaktivní formy kyslíku, které mohou způsobovat narušení vazby mezi jednotlivými vlákny v sekvencích s vysokým obsahem vazby guanin-cytosin. V ochraně těchto sekvencí hraje klíčovou roli enzym superoxid-dismutáza (SOD), která účinně zneškodňuje superoxidové radikály. Spermin a spermidin působí synergickým efektem, neboť jsou schopny působit jako volné radikály a vychytávat radikály kyslíku, a tak bránit rozpadu řetězce DNA. Účinky polyaminu byly ověřeny na experimentu s transgenními buňkami *E. coli*, které nemohly syntetizovat polyaminy. Na tyto buňky bylo působeno koncentracemi kyslíku, které nejsou pro běžné buňky toxické, avšak pro zmutované buňky byly letální (Shah a Swiatlo, 2008).

Zajímavý účinek byl odhalen při působení herbicidu paraquatu na polyamin-deficitního mutanta, u kterého se zvyšovalo množství syntetizovaného genu pro SOD (SoxS). Po přidání putrescinu se jeho syntéza snížila. Podobně je tomu i u syntézy kadaverinu, jehož syntézu dokáže spouštět regulátor oxidativní stresové odpovědi (SoxR). Při zvýšené syntéze kadaverinu, který je také schopný vychytávat superoxidové radikály, se snižuje syntéza SOD. Zdá se tedy, že je zde přímá korelace mezi množstvím dostupných polyaminů (intracelulárních i extracelulárních) a potřebou enzymu SOD (Shah a Swiatlo, 2008).

### 2.1.6 Bakterie mléčného kvašení

Tato významná skupina mikroorganismů, která je tvořena mnoha různými druhy bakterií, vykazuje dekarboxylační aktivitu, jež vede k tvorbě polyaminů. Bakterie mléčného kvašení (BMK) tvoří významnou část lidské střevní mikroflóry. Využívají se také během technologické úpravy mléčných výrobků, které tvoří významnou část běžné lidské stravy. Protože BMK syntetizují z polyaminů v nejvyšší míře putrescin, může být jeho zvýšený obsah také v mléčných výrobcích jako jsou sýry a podobně, u kterých se při technologii výroby tyto bakterie využívají. BMK se uplatňují i během výroby jiných fermentovaných potravin, například vína či fermentované zeleniny (Benkerroum, 2016).

Dříve se uvádělo, že převážná část putrescinu je tvořena především kontaminující bakteriální flórou, hlavně pak za skupiny *Enterobacteriaceae* či *Pseudomonadaceae*. Proto se předpokládalo, že přítomnost polyaminů ve výrobku mohla přímo poukazovat na hygienu při zpracování. Tento názor byl však zvrácen, neboť BMK mohou putrescin

produkovat také. Jediný rozdíl je v tom, že k jeho syntéze využívají jiné biosyntetické dráhy jako výše zmíněné kontaminující bakterie (Benkerroum, 2016).

BMK využívají pro tvorbu putrescinu dráhu ODC a jeho syntézou si zajišťují snížení pH uvnitř intracelulárního prostoru. Aktivita syntéz u jednotlivých druhů se však lišila, což může být důsledek mnoha vnitřních i vnějších faktorů (Romano a kol., 2014).

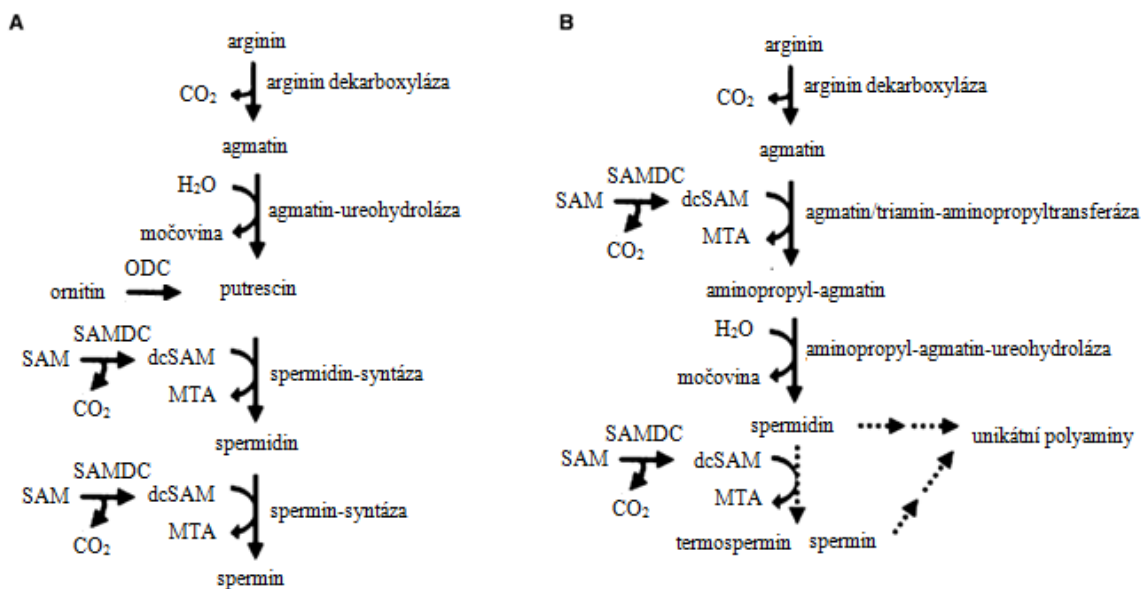
## 2.2 Termofilní mikroorganismy

Jak bylo popsáno výše, extrémně termofilní mikroorganismy například bakterie *Thermus thermophilus* dokáží tvořit řadu jedinečných polyaminů (Oshima, 2007). Tyto sloučeniny byly zmíněny již v kapitole 1.2.

Experiment *in vitro* ukázal, že tyto rozvětvené polyaminy se hojně vyskytují u termofilních buněk, které byly kultivovány při teplotách kolem 80 °C, a tvoří zde většinu vyskytujících se polyaminů. Při teplotách nižších (65 °C) byly produkovány rozvětvené polyaminy pouze v malé míře. Další organismy, u nichž se vyskytovaly rozvětvené kvartérní polyaminy, byly hypertermofilní bakterie *Aquifex pyrophilum* nebo hypertermofilní archea *Methanococcus jannaschii*. Dlouhé polyaminy byly nalezeny i u jiných hypertermofilních mikroorganismů jako je bakterie *Thermotoga maritima* nebo u archea *Aeropyrum pernix*. U středně teplo-milných a mezofilních organismů se tyto jedinečné polyaminy nevyskytují (Oshima, 2007).

Polyaminy byly shledány nepostradatelnými složkami při syntéze bílkovin u termofilní bakterie *T. thermophilus*, neboť při vyšší teplotě než je 65 °C, byla pozorována aktivita organismu pouze v přítomnosti polyaminu. Tyto látky však nepůsobí jako protektanty denaturace, ale jsou nezbytné pro vytvoření správné struktury iniciačního komplexu (mezi ribozomální jednotkou 30S, poslem a počáteční aminoacyl-tRNA. Dalším pozorovaným jevem bylo zvýšení teploty tání syntetického oligodeoxyribonukleotidu po přidání dlouhého polyaminu, přičemž čím složitější strukturu polyamin měl, tím větší byl nárůst teploty tání (účinnější byla aminobutylová skupina než aminopropyllová). Naproti tomu při zkoumání stability čisté tRNA se jako nejlepší ukázal rozvětvený polyamin tetrakis-(3-aminopropyl)amonium. Každá ze dvou skupin polyaminů se podílí odlišně na stabilizaci nukleových kyselin. Dlouhé polyaminy stabilizují dvojité vlákno DNA a kmenovou část RNA (stem), zatímco rozvětvené polyaminy stabilizují smyčku RNA (loop). Polyaminy chrání také DNA před depurinací (reakce DNA, při níž se štěpí glykosidová vazba a vzniká

nukleová báze a cukerná složka), nejlepší „termoprotektant“ této reakce byl caldohexamin. Studium přítomných genů pro tvorbu daných enzymů bylo zjištěno, že u těchto forem organismů funguje alternativní cesta syntézy polyaminů, která se neuskutečňuje přes ornitin, ale unikátní polyaminy jsou tvořeny z agmatinu přes spermidin, ale nikoliv přes putrescín (viz syntenická dráha B na obrázku 4). Kromě toho experiment ukázal, že jsou polyaminy nezbytné pro tvorbu karotenových barviv (Oshima, 2007).



Obrázek 4 Biosyntetické dráhy termofilních mikroorganismů (Oshima, 2007)

### 2.3 Kvasinky

Role polyaminů byly zkoumány také u kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*, u níž došlo ke genetické mutaci, díky které nebyla schopna tvořit spermidin. Proto je tedy závislá na extracelulárním příjmu této látky. Při její kultivaci bylo dlouhodobě používáno médium s velmi nízkými koncentracemi spermidinu. V průběhu pokusu byly sledovány změny během buněčného dělení, způsobené nedostatečným množstvím spermidinu. V případě nedostatečného přísunu spermidinu nedocházelo v první fázi buněčného cyklu k dostatečnému protažení buňky, která zůstávala kulatá. Ačkoliv následně probíhal v buňce intenzivní růst aktinového cytoskeletu, buňka netvořila septa a nebyla tak schopná se rozdělit. U buňky došlo pouze k jejímu prodloužení. Změny byly zřetelné také při tvorbě jádra, u kterého docházelo k rozpadu jeho struktury. Při úplném nedostatku polyaminu u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* bylo pozorováno úplné zastavení růstu. Množství spermidinu potřebné-

ho k normálnímu dělení buňky bylo velmi malé, účinné byly roztoky o 1 $\mu$ M koncentraci (Chattopadhyay, a kol., 2002).

## 2.4 Prvoci

U těchto jednobuněčných eukaryotických organismů se předpokládá, že polyaminy slouží jako zdroje živin a slouží jako prekurzory mnoha metabolitů. Přičemž putrescin, ze kterého vychází syntéza u prvoků, pochází z živočišných buněk organismů, na nichž prvoci paraziti-  
tují (Tomar a kol., 2013).



### 3 VÝZNAM POLYAMINŮ U ROSTLIN

Protože mají polyaminy podobnou chemickou strukturu jako fytohormony, hrají tyto látky významnou roli v metabolismu rostlin a podílejí se na mnoha buněčných procesech. Mohou se funkčně účastnit například proliferace buněk, klíčení semen, tvorby pupenů, embryogeneze, růstu ovoce, morfogeneze, ale mohou také hrát zásadní úlohu při odpovědi na různé stresové faktory. Také jsou všeobecně považovány za možné signální molekuly (Soudek a kol., 2016).

Základním principem, kterým se stanovují metabolické funkce polyaminů, je genetická modifikace rostlinných organismů. Při této úpravě jsou upravovány geny podílející se většinou na syntéze enzymů, zajišťující tvorbu konkrétních polyaminů (Pathak a kol., 2014).

U vyšších rostlin se nejhojněji objevují polyaminy spermin, spermidin a putrescin, v menší míře se ale může uplatňovat i kadaverin (Zhao a kol., 2007; Tomar a kol., 2013).

Význam polyaminů je velký, avšak není nejspíše životně důležitý. Tento fakt byl ověřen u transgenní rostliny postrádající geny pro tvorbu sperminu, u které i za předpokladu nepřítomnosti těchto genů bylo možné dokončit životní cyklus. Spermin tedy není pro život rostliny nezbytný (Takahashi a kol., 2007).

#### 3.1 Syntéza a rozklad

Polyaminy u rostlin, podobně jako u jiných organismů, mohou vznikat několika cestami, které byly popsány v kapitole 1.2.2. Dráha, jež je zprostředkována ODC, však u některých druhů rostlin chybí, například u *Arabidopsis thaliana* (Pathak a kol., 2014).

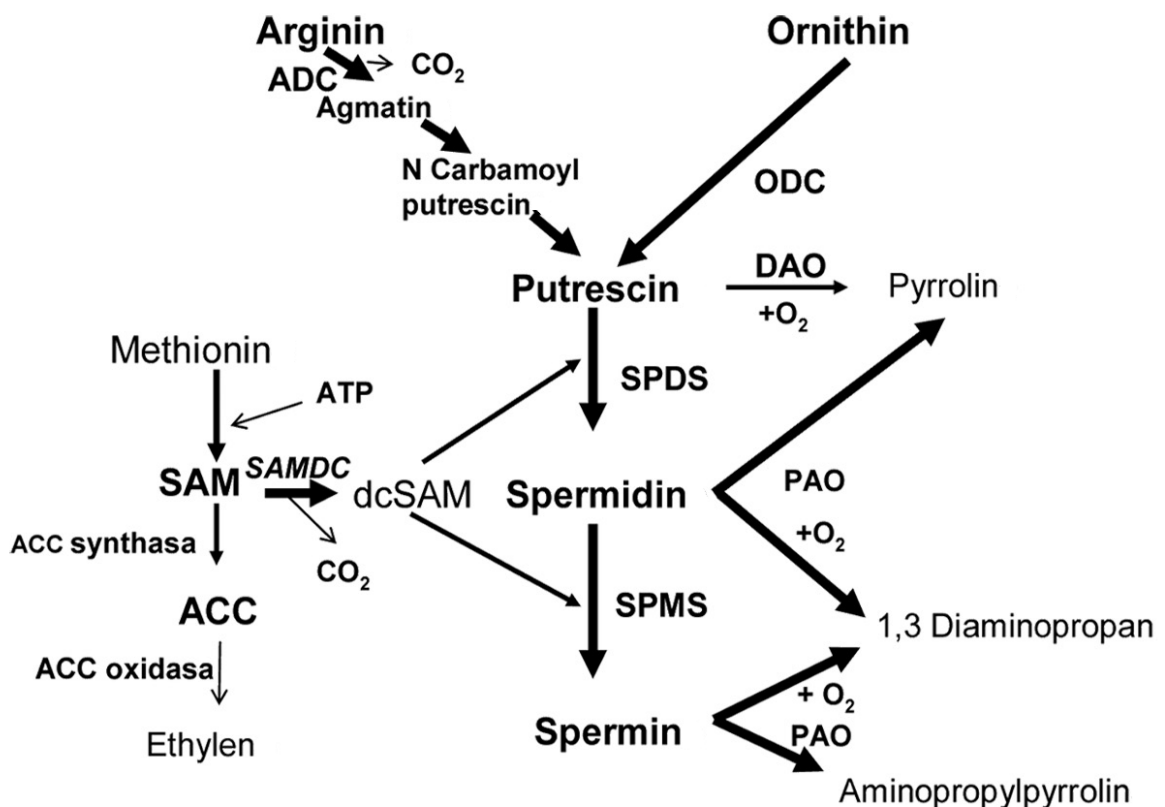
Aktivita odlišných cest vzniku putrescinu se liší v závislosti na účinkování stresových faktorů, kde se při jejich působení uplatňuje dráha katalyzovaná ADC. Tento fakt byl potvrzen u halofytických rostlin jako je *Mesembryanthemum crystallinum* a *Arabidopsis thaliana*. Naproti tomu ODC má nejvyšší aktivitu při počátečních fázích růstu rostliny, vývoji a diferenciaci rostlinných orgánů nebo během reprodukce (Pathak a kol., 2014).

Kadaverin je syntetizován stejně jako u ostatních typů organismů z lyzinu a jeho tvorby se účastní enzym lyzin-dekarboxyláza, která se nachází ve stromatu chloroplastů. Pouze ve výjimečných případech může být jeho prekurzorem ornitin nebo arginin. Ve vysokých kon-

centracích se vyskytuje LDC u lipnicovitých (Poaceae), bobovitých (Fabaceae) a lilkovitých (Solanaceae) (Tomar a kol., 2013).

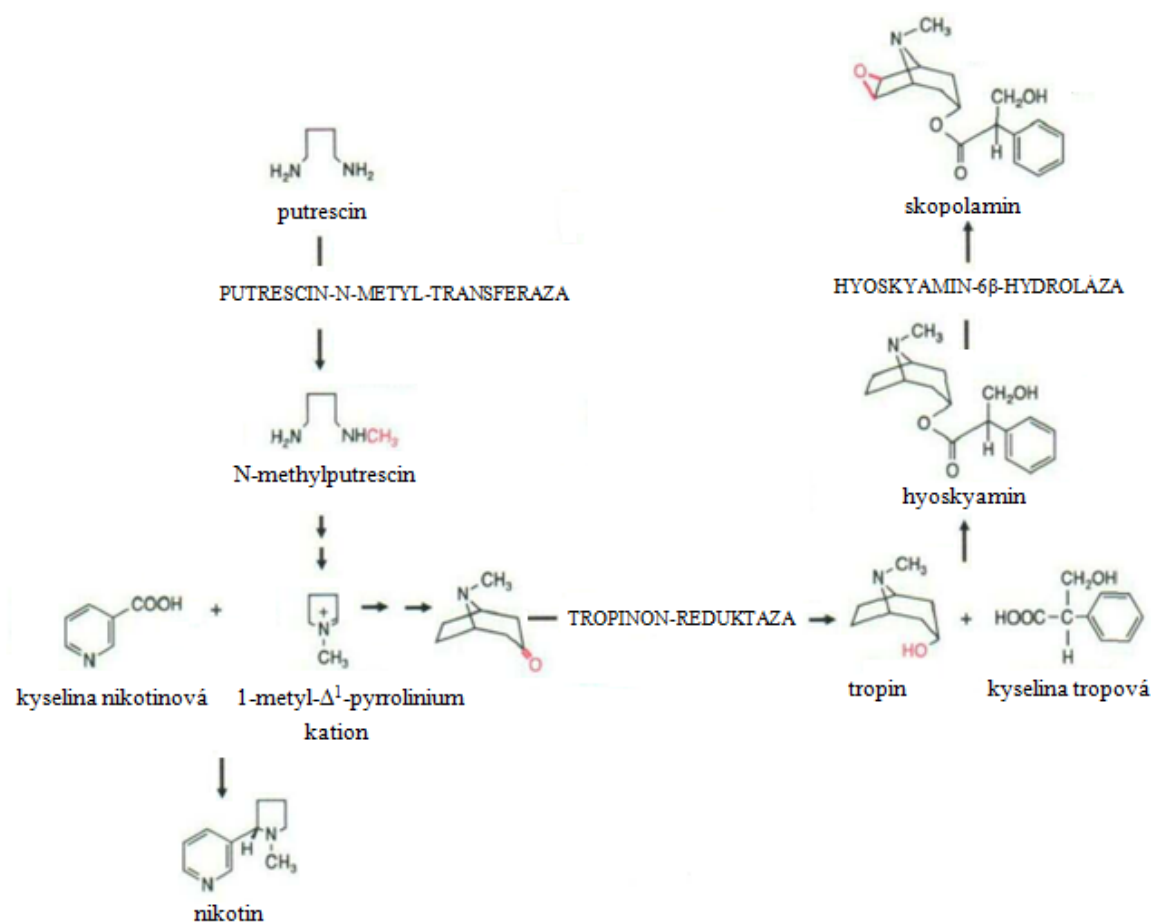
Katabolická reakce putrescinu je zprostředkována enzymem diamin-oxidázou (DAO) zatímco rozklad vyšších polyaminů, spermidinu a sperminu, je zprostředkován polyamin-oxidázou (PAO), mimo to je pro tyto reakce nezbytná přítomnost molekuly kyslíku. Jejich katabolismus je znázorněn na obrázku 5 (Pathak a kol., 2014).

Polyaminy jsou u rostlin metabolizovány v největší míře na alkaloidy. Přičemž kadaverin je převážně prekurzorem chinolizidinu a piperidinu, ale v menší míře i jiných alkaloidů. Aktivita LDC je přímo úměrná tvorbě chinolizidinových alkaloidů a jejich akumulací rostlině (Tomar a kol., 2013).



Obrázek 5 Syntéza a rozklad polyaminů rostlinami (Pathak a kol., 2014)

Putrescine je prekurzorem významných tropanových a nikotinových alkaloidů, ke kterým řadíme například nikotin, tropin či skopolamin. Tyto alkaloidy můžeme najít například u tabáku. Jejich syntéza, jež je znázorněna na obrázku 6, probíhá především v kořenech rostliny. Znalost syntézy těchto farmaceuticky významných alkaloidů může vést k jejich efektivnějšímu získávání z průmyslových plodin (Kutchan, 1995).



Obrázek 6 Katabolismus putrescinu a vznik alkaloidů (Kutchan, 1995)

### 3.2 Růst a vývoj rostliny

Polyaminy jsou také zapojeny do biochemické kontroly pochodů, kde je vyžadován intenzivní růst a diferenciaci buněk. K těmto dějům patří vytváření gametofytů, oplodnění, tvorba květu a vývoj ovoce. Důležitou roli hrají putrescin, spermin a spemidin při vývoji samčích gametofytů, přesněji při růstu tyčinek a správné tvorbě pylového zrna. Vysoká aktivita syntézy byla pozorována během klíčení pylového zrna (Falasca a kol., 2010).

Byl sledován účinek inhibitorů syntézy polyaminů během vývoje rostlin. Jako inhibitory byly použity různé látky- difluorometyl-ornitin (DFMO), difluorometyl-arginin (DFMA), arginin, cyklohexylamin (CHA), metylglyoxal-bis(guanylhydrazon) (MGBG) a jejich různé kombinace. Každý z nich ovlivňuje jinou reakci při syntéze polyaminů. Výrazný dopad byl sledován u samčích fertálních rostlin, při tvorbě jader pylových zrn. Běžné pylové zrno obsahuje dvě jádra, avšak u rostliny, které byly ošetřeny kombinací inhibitorů CHA, MGBG a argininu, neobsahovaly žádné jádro. Tato zrna byla navíc rozměrnější, oproti neošetřeným

zrnům. Arginin navíc mírně ovlivnil životaschopnost pylu a výrazné změny vyvolal při jeho klíčení, díky interferenci s proteiny. MGBG měl téměř stejné účinky, jako arginin, s tím rozdílem, že navíc inhiboval růst tyčinky. Inhibitory syntézy polyaminů navíc snižují syntézu celulózy a pektinu, jež se podílí na tvorbě buněčné stěny (Falasca a kol., 2010).

Prvním krokem při přirozeném klíčení pylového zrna je jeho rehydratace. Byly pozorovány změny v syntézách SAMDC, ADC a ODC v různých časech po hydrataci zrna. Zrno bylo po 15 minutách hydratace přeneseno na klíčivé médium. Po 15 minutách v médiu, výrazně klesala koncentrace spermidinu. Není však jasné jestli je pokles způsoben jeho rozkladem na jiné deriváty, či jeho uvolněním do média. V tomto momentě však aktivita SAMDC dosahuje vrcholu a díky tomu v čase 3 až 7 hodin v médiu narůstá koncentrace spermidinu. Současně se uplatňuje i ADC, jejíž aktivita se zvyšovala mezi 3 a 14 hodinami. Aktivita ODC nebyla významná. Z pozorovaných změn v syntézách těchto enzymů během klíčení, můžeme předpokládat významnou roli polyaminů, během tohoto děje (Falasca a kol., 2010).

V ribozomech hydratovaných pylových zrn se zvyšuje syntéza bílkovin a dochází ke změně počtu chromozomů, a tak se mění monozomy na polyzomy, u kterých hrají polyaminy důležitou úlohu (Falasca a kol., 2010).

Zajímavým příkladem je také použití postřiku polyaminů, při různých vývojových stádiích tvorby květu a plodu manga. Zde byly použity postřiky obsahující různé koncentrace roztoků putrescinu, sperminu a spermidinu. Výraznější účinek byl přitom pozorován při aplikaci polyaminů těsně po odkvětu, které mělo za následek zpomalení vývoje barvy ovoce. Tento efekt může být způsoben schopností polyaminů inhibovat degradaci chlorofylu ve slupce. Pozorováno bylo také značné snížení přítomnosti cukrů (při použití sperminu přibližně o 20 %) a dalších pevných rozpustných látek. Naopak kyselost ovoce se zvýšila. Nejsilnější účinek byl zaznamenán v souvislosti s množstvím syntetizovaných karotenoidů, jejichž množství vzrostlo téměř o 50 % oproti neošetřeným rostlinám. Pokles vitamínu C, přibližně o 20 % byl zaznamenán při aplikaci spermidinu i putrescinu. Naopak zvýšení jeho koncentrace o 12% bylo pozorováno při aplikaci vyšší koncentrace sperminu. Aplikace nízkých koncentrací sperminu během počátečních fází tvorby plodu měla za následek zvýšení výnosu plodů. Pozorováno bylo také zvětšení plodů u stromů, které byly ošetřeny roztokem sperminu během diferenciaci květu, ale to na úkor jejich počtu. Vztah mezi velikostí plodů

a použitím polyaminu však není jednoznačný, neboť daný efekt může být zapříčiněn také poškozením mrazem, kterému byly rostliny během experimentu vystaveny. Roztoky měly vliv také na konzistenci ovoce, přičemž plody ošetřené putrescinem a spermidinem byly měkčí. Zjištěné efekty exogenních polyaminů mohou vysvětlovat vyšší výskyt endogenních polyaminů u ovocných plodů (Malik a Singh, 2006).

Aplikace putrescinu v období před vývojem květu hrušky, prodloužila životaschopnost vajíček a zpomalila viditelné stárnutí květu (Malik a Singh, 2006).

Probíhají taktéž diskuze o tom, zda nejsou polyaminy inhibitory tvorby etylenu, který je považován za hlavní faktor při dozrávání plodů (Malik a Singh, 2006).

### 3.3 Iontové kanály

Experimentem provedeným na kořenových buňkách ječmene bylo zjištěno, že polyaminy jsou inhibitory pomalých i rychlých vakuolárních kationtových kanálů a silně blokují rychlé  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  kanály. Polyaminy blokují kanál, který umožňuje vstup  $\text{K}^+$  a  $\text{Na}^+$  do buňky, naopak kanál, zajišťující přesun  $\text{K}^+$  ven, rozšiřují. Blokace pomocí intracelulárního a extracelulárního polyaminu může být různá a její míra závisí na tom, jaký polyamin použijeme a také jaký bude jeho náboj. Čím více se v molekule vyskytuje kladně nabitých skupin, tím silněji je kanál blokován. Nejsilnější blokátor je spermin, což vychází z toho, že může obsahovat nejvíce kladně nabitých skupin, slabšími pak spermidin a putrescin. Extracelulární polyaminy blokují kanály účinněji. Z experimentu vyplývá, že polyaminy účinkují proti zvýšení koncentrace  $\text{Na}^+$  v buňce při stresu vyvolaném vysokými koncentracemi soli.  $\text{K}^+$  je z buněk kořene vypuzován za účelem zvýšení jeho koncentrace v buňkách výhonků. Děj blokace je s největší pravděpodobností způsoben interakcí polyaminu s kanálovým proteinem (Zhao a kol., 2007).

Pomalé  $\text{Ca}^{2+}$  kanály jsou zapojeny při regulaci otevírání a zavírání průduchů. Tudíž účinek polyaminů může být v zabránění nadměrného odvodu vody z rostliny během sucha právě prostřednictvím průduchů (Takahashi a kol.).

### 3.4 Tvorba cév

U rostlin je tvorba cévních svazků ovlivněna polyaminy nepřímo a tak, že při jejich metabolismu se uvolňuje reaktivní forma kyslíku  $\text{H}_2\text{O}_2$ , kterou rostliny potřebují pro tvorbu

své buněčné stěny, tvorbu buněk stěny cév a také polymerizaci ligninu. Produkce peroxidu vodíku je zprostředkována působením oxidáz DAO a PAO. Na tvorbě cév se podílí hlavně termospermin, který brání předčasné buněčné smrti buněk xylému, dokud není dokončena diferenciací. Termospermin se podle nových zjištění vyskytuje napříč celou rostlinnou říší, na rozdíl od sperminu, který se vyskytuje pouze u krytosemenných rostlin. Tento fakt může být způsoben nemožností rozlišit od sebe spermin a termospermin pomocí běžně používaných metod HPLC (Vera-Sirera a kol., 2010).

### 3.5 Stres rostlin

Rostliny jsou během svého růstu vystaveny různým stresovým situacím, vyvolaných působením jednoho či více stresových faktorů, které mohou negativně ovlivňovat jejich produkci. Tento fakt může způsobovat významné snížení produkce u hospodářsky významných plodin. V případě abiotického stresu může být tento úbytek až 70 % (Pathak a kol., 2014).

Díky změně klimatu dochází k intenzivnímu výzkumu, který se snaží odhalit rozdílnosti v odpovědích na stres u běžných rostlin a extrémně tolerantních druhů. Tyto poznatky mohou být následně využity pro modifikaci rostlin za účelem zvýšení produkce plodin a následného zajištění dostatku potravy (Pathak a kol., 2014).

Během působení stresu se v rostlinách akumulují různé dusíkaté sloučeniny, jako jsou aminokyseliny, či od nich odvozené sloučeniny, jako jsou amidy, kvartérní amoniové soli, ale také polyaminy. Jejich účinek spočívá v ochraně důležitých buněčných součástí, jako jsou například membránové proteiny, které je mohou buďto regulovat a nebo mohou zajišťovat jejich správné sbalení (Pathak a kol., 2014).

Bylo zjištěno, že polyaminy které jsou přirozeně se vyskytujícími látkami v rostlinách, se intenzivně účastní řídicích reakcí a určují dané odpovědi na abiotický stres (Pathak, Teixeira da Silva a Wani, 2014).

Odpověď na stres se různí podle typu působícího faktoru, délky jeho působení, ale také v závislosti na konkrétním druhu rostliny a na jejím vývojovém stádiu (Soudek a kol., 2016).

U rostlin se mezi nejčastější stresové faktory řadí vysoká salinita půdy, příliš nízká či příliš vysoká teplota nebo nedostatek vody (Pathak a kol., 2014).

Rozsah syntézy putrescinu, sperminu a spermidinu, včetně syntézy jejich enzymů, se přímo odvíjí od intenzity stresových faktorů. Proti stresu mohou působit samotné polyaminy, ale stejně tak i jiné látky, které vznikly prostřednictvím signálních drah, které polyaminy zprostředkovávají (Pathak a kol., 2014).

U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* bylo zjištěno, že polyaminy slouží v jejím organismu jako druzí poslové (Pathak a kol., 2014).

U transgenních rostlin, u kterých byly upraveny geny podílející se na syntéze enzymů SAMDC, ADC či SPDS, pro zajištění lepší dostupnosti polyaminů, byla zjištěna vyšší odolnost vůči stresovým podmínkám (Pathak a kol., 2014).

Polyaminy mohou ovlivňovat homeostázu sodíku a draslíku, v důsledku řízení aktivity iontových kanálů, čímž mohou pozitivně působit na odolnost vůči stresu (Pathak a kol., 2014).

### 3.5.1 Nedostatek vody

Vliv polyaminů při nedostatku vody byl zkoumán u transgenní rostliny postrádající gen, jež zajišťuje tvorbu sperminu. Bylo zjištěno, že při tomto typu stresu významně účinkuje spermin, který je schopen v nepřítomnosti vody ovlivňovat homeostázu  $\text{Ca}^{2+}$ , což má vliv na uzavírání průduchů na listech takto zatěžovaných rostlin. Transgenní rostlina oproti běžné rostlině neuzavírala své průduchy po určité době působení v nepřítomnosti vody, čímž docházelo ke zvýšenému výdeji vody (hustota průduchů u obou typů rostlin byla stejná). U klasické rostliny se na rozdíl od transgenní navíc podařilo obnovit růst. Zajímavé bylo také snížení obsahu chlorofylu přibližně na 40 % hodnoty, jež byla stanovena u divoké rostliny (Takahashi a kol., 2007).

Při nedostatku vody byla pozorována u rýže zvýšená koncentrace putrescinu (volného i vázaného), což mělo za následek vyšší odolnost rostliny (Pathak, Teixeira da Silva a Wani, 2014).

### 3.5.2 Extrémní teplota

Během působení vysoké teploty stoupalo u rostlin množství vyšších polyaminů, sperminu a spermidinu, i aktivita ADC a PAO. Navíc u rýže odolné vůči vyšší teplotě (kultivar N22), bylo pozorováno nahromadění dlouhých polyaminů, jako jsou norspermin a norspermidin,

podobně, jako u termofilních bakterií. U teplotně citlivých kultivarů rostlin nebyly polyaminy pozorovány. U fazole mungo byl dokonce potvrzen účinek exogenních polyaminů sperminu a spermidinu, které pomohly rostlině zotavit se po teplotním šoku (Pathak a kol., 2014).

U rajčat bylo při působení vysokých teplot pozorováno zvýšení syntézy SAMDC (Falasca a kol., 2010).

Byly pozorovány také účinky na rýži, vyvolané nízkou teplotou (5° C). V době působení této teploty vzrostly koncentrace spermidinu, sperminu, ale i SAMDC. U opakovaného použití vyšší teploty (3x 1 hodina na 35 °C) u *A. thaliana* vzrostl obsah putrescinu, sperminu, spermidinu, SAMDC, SPMS a ADC (Pathak a kol., 2014.)

### 3.5.3 Vysoká salinita

Polyaminy působí v rostlině vystavené slanému stresu tak, že zesilují vazby mezi vodou a živinami. Při vystavení rostliny vysokému obsahu soli v médiu nastává aktivování ADC dráhy a ke zvýšené akumulaci putrescinu a spermidinu u lupiny a jablka či sperminu a spermidinu u kukuřice a *A. thaliana*. Naproti tomu se u halofilní trávy *Aeluropus littoralis* koncentrace sperminu snižovala. U mutantů u nichž byla omezena ADC dráha bylo pozorováno snížení tolerance vůči soli. U transgenního tabáku u něhož byla zvýšena exprese genu pro SAMDC, se zvyšovalo množství putrescinu a spermidinu, což vedlo k vyšší odolnosti vůči účinku soli a osmotickému stresu (Pathak a kol., 2014).

### 3.5.4 Osmotický stres

Výzkum na tento typ stresu byl prováděn na buňkách a protoplastech ovsa (*Avena sativa*), působením různých typů látek například cukernými alkoholy sorbitolem, manitolem, sacharidem sacharózou, aminokyselinou prolinem či betainem. Účinkování těchto látek vyvolalo zvýšení aktivity dráhy ADC. U řepky byl pozorován nárůst koncentrace putrescinu, zatímco množství sperminu se snížilo (Pathak a kol., 2014).

### 3.5.5 Těžké kovy

Biosyntéza polyaminů byla pozorována u rostlin vystaveným působení těžkých kovů. Ve výzkumech byly pozorovány reakce v přítomnosti prvků, jako jsou zinek, měď, kadmium,



mangan, olovo nebo železo. Je však obtížné posoudit, zda se účastní obranných mechanismů rostliny nebo zda pouze odrážejí toxicitu účinku (Soudek a kol., 2016).

Zajímavé výsledky dává experiment provedený na několika potravinářsky významných plodinách, jako jsou zelí, řeřicha, kedlubna, hrách, kukuřice, petržel, hlávkový salát mrkev, špenát nebo okurka. Během pozorování byly na části těchto rostlin, ve stáří dvou měsíců, aplikovány roztoky obsahující putrescin, spermidin, spermin či kadaverin a současně zavlažovány 0,2mM roztoky solí kovů ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ). Cílem tohoto výzkumu bylo odhalit možné akumulční účinky ve spojitosti s výskytem polyaminů v rostlině, a to u sloučenin kadmia kvůli jeho toxikologickým účinkům a u sloučenin železa a zinku v souvislosti s možnou suplementací potravin o tyto mikronutrienty (Soudek a kol., 2016).

Při aplikaci putrescinu výzkum prokázal zvýšení akumulace Cd ve výhoncích, u všech testovaných plodin s výjimkou špenátu a okurek, zatímco koncentrace absorbovaného Zn se snižovala. Obsah Fe se snižoval u všech plodin s výjimkou kedlubny a hrachu. Při aplikaci kadaverinu bylo naopak u rostlin pozorováno snížení akumulace Cd, přičemž účinnější byla aplikace polyaminu postřikem přímo na listy než aplikace do média. Co se týče vstřebávání Fe a Zn u výhonků, bylo po aplikaci putrescinu nižší u většiny plodin (Fe se snížilo pouze u řeřichy a hrachu a zvýšená akumulace Zn u řeřichy, hrachu, petržele a salátu). U kořenů některých rostlin byla ovšem situace opačná, u mrkve, petržele a okurek se hladiny Fe po aplikaci putrescinu zvýšily. Podobná situace nastala u aplikace Zn, jehož obsah se snížil u kořenů zelí, kukuřice, špenátu, hrášku, petržele a okurky, ale u ostatních plodin se významně zvýšil. U některých rostlin nastala dokonce po aplikaci putrescinu hyperakumulace prvků. Pozorován byl také vliv kadaverinu, při jeho aplikaci naopak hladina Fe rostla. Z výzkumu tedy vyplývá, že polyaminy ovlivňují vstřebávání těžkých kovů rostlinou. Rozdíly jsou však závislé na rostlinném druhu, na části rostliny, ale také na vzájemné interakci použitých prvků (Soudek a kol., 2016).

## 4 VÝZNAM POLYAMINŮ U ŽIVOČICHŮ

Díky složitosti syntézy polyaminů a regulaci jejich hladin během fyziologických pochodů, řadíme polyaminy k látkám, které se významně podílí na funkci živočišné buňky. Jakákoliv neobvyklá změna v jejich regulaci, proto může v organismu vést až ke vzniku patologických stavů (Moinard a kol., 2005).

### 4.1 Syntéza polyaminů

U téměř všech eukaryotických organismů jsou polyaminy syntetizovány z aminokyseliny ornitinu a z S-adenosyl-metioninu. Putrescin je syntetizován z ornitinu za účasti ornitindekarboxylázy, což je jeden z nejvíce regulovaných enzymů v eukaryotických organizmech a řadíme ho do skupiny onkogenů. Poškození regulace metabolismu polyaminů může indukovat až apoptózu buněk (Agostinelli a kol., 2010).

Enzym ADC se nachází v mitochondriích a jeho syntéza probíhá v ledvinách a mozku (Moinard a kol., 2005).

Bylo zjištěno, že během růstu rakovinných buněk se jejich syntéza zvyšuje a vyskytují se tak ve tkáních ve vysokých koncentracích. Ve zvýšeném množství se však vyskytují také ve zdravých rostoucích tkáních (Agostinelli a kol., 2010).

### 4.2 Savci

U savců stejně jako u ostatních organismů se literární zdroje věnují hlavně obsahům a účinkům polyaminů putrescinu, spermidinu a sperminu. Agmatin je polyamin, který byl u savčích buněk nalezen až v roce 1994, což je důvodem, proč o něm mnohé zdroje nemluví. Agmatin, který byl do té doby pozorován pouze u rostlin, bakterií a bezobratlých, byl nalezen v buňkách mozku savců. Vzhledem k jeho zjištěným koncentracím, které byly shodné s koncentracemi neurotransmiterů, by se mohl v organismu uplatňovat jako jeden z těchto přenašečů nervového vzruchu (Moinard a kol., 2005).

Za klíčový fyziologický enzym při tvorbě polyaminů v savčích buňkách považujeme arginázu (Li a kol., 2016).

Lyzin, z něhož vzniká dekarboxylací kadaverin, je pro savce esenciální, proto se vědci pokoušejí o navýšení koncentrace této aminokyseliny pomocí genetické modifikace u různých plodin, jako prevence jeho dostatečného příjmu (Tomar a kol., 2013).

#### 4.2.1 Člověk

U člověka mohou být polyaminy získávány hned několika způsoby. Prvním způsobem je exogenní příjem z potravy a druhým endogenně, syntézou uvnitř organismu. Endogenní syntéza polyaminů je zajištěna gastrointestinální sekrecí, odlupováním enterocytů a také syntézou prostřednictvím střevní mikroflóry (Moinard a kol., 2005).

##### 4.2.1.1 Reprodukce

Vůbec prvním pozorovaným polyaminem byl spermin, který se vyskytuje v lidském spermatu ve formě komplexu s fosforečnanem. V čerstvém spermatu se tato látka nenachází, k jeho tvorbě dochází až v důsledku několikadenního stání, během kterého se enzymaticky hydrolyzuje fosforylcholin, který se zde přirozeně nachází, a vytváří komplex se spermiem (Bachrach, 2010).

Bylo také zjištěno, že polyamin agmatin stimuluje uvolňování luteinizačního hormonu (LHRH) (Moinard a kol., 2005).

##### 4.2.1.2 Růst

Polyaminy jsou schopny stabilizovat buněčné membrány a díky tomu regulovat aktivitu receptorů. Tyto receptory mohou ovlivňovat řadu různých dějů. Takto regulovaným receptorem mohou být také například různé růstové faktory (Moinard a kol., 2005).

U většiny polyaminů byl potvrzen pozitivní účinek při dělení a růstu buňky. Naopak u agmatinu byly na rozdíl od ostatních polyaminů prokázány antiproliferační účinky, které nijak nesouvisí s apoptózou či nekrotózou, ale působí změny během fází buněčného cyklu (Moinard a kol., 2005).

##### 4.2.1.3 Imunita a hojení ran

Jak bylo zmíněno výše polyaminy mohou indukovat vznik nových buněk různého typu. Velmi důležitou buněčnou skupinou jsou právě imunitní buňky, jejichž syntéza se zvyšuje

v případě poranění či zánětu. Polyaminy mohou iniciovat jak jejich diferenciaci, tak regulovat jejich funkce. Díky polyaminům také probíhá tvorba fibroblastů, které jsou během hojení ran potřebné. Dále mohou polyaminy sloužit jako substráty pro transglutaminázy, což jsou enzymy podílející se na mnoha procesech během hojení, například apoptózy, osteogeneze a adheze mezi buňkami. Mohou takto zvyšovat expresi proto-onkogenů, které se zde také uplatňují (Moinard a kol., 2005).

Při průběhu lokálního zánětu se mohou z poškozených či usmrcených buněk uvolňovat polyaminy, které mohou negativně ovlivňovat aktivitu makrofágů. Tento účinek je dán změnou metabolismu oxidu dusnatého (NO), který plní v organismu významné úlohy. Jednou z nich je například regulace krevního tlaku (Moinard a kol., 2005).

#### **4.2.1.4 Mateřském mléko**

V kapitole 1.2.5.1.2. bylo zmíněno, že hladiny polyaminů se v průběhu laktační fáze mění. Kolostrum obsahuje nejvyšší množství sperminu a spermidinu. Po týdnu laktace zůstává množství putrescinu velmi nízké, naopak hladiny sperminu a spermidinu stoupají přibližně o jeden řád oproti prvnímu dnu laktace. Následující čtyři měsíce se zase obsah putrescinu zvyšoval a množství sperminu a spermidinu se výrazně neměnilo. Rozdílné koncentrace polyaminů v mateřském mléce jednotlivých žen mohou být způsobeny nejen potravou a životním stylem, ale také genetickými predispozicemi. U umělé dětské stravy je obsah polyaminů podstatně nižší (Kalač a Krausová, 2005).

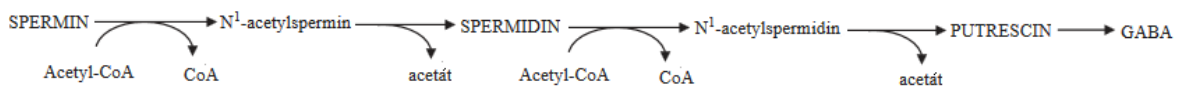
Přítomnost polyaminů v mléce může mít vliv na správné zrání střeva dítěte. Konkrétně působí na navýšení počtu buněk sliznice a zvýšení výšky klků. Tím jednak zajišťují menší propustnost střevní stěny a navíc zvětšují povrch střevní sliznice. Také navyšuje syntézu slizniční DNA a obsah proteinů. Navíc, jak bylo řečeno výše, iniciují tvorbu transglutaminázy, která se podílí na zacelení poškozené tkáně (Moinard a kol., 2005).

Polyaminy mohou mimo jiné figurovat jako meziproducty v thymo-trofickém účinku mediátorů, kterými je například hormon prolaktin (Moinard a kol., 2005).

#### **4.2.1.5 Trávicí trakt**

Významná část polyaminů se rozkládá oxidační deaminací, za přítomnosti  $\text{Cu}^{2+}$  a enzymů diaminooxidázy či polyaminooxidázy. Tento proces přirozeně probíhá v buňkách střevní

sliznice, jater a ledvin. Při těchto reakcích se mohou vyšší polyaminy spermin a spermidin přeměňovat zpět na putrescin. Kromě daných enzymů je k uskutečnění reakce nutná také přítomnost acetyl-CoA. Výsledným produktem je putrescin, který je poté prostřednictvím diaminooxidázy přeměněn na kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou (GABA). Putrescin je považován za významný prekurzor GABA) ve střevě. Proces vzniku GABA je schematicky znázorněn na obrázku 7 (Moinard a kol., 2005).



Obrázek 7 Syntéza GABA z putrescinu ve střevních buňkách (Moinard a kol., 2005)

V případě poškození střevní sliznice, jsou schopny polyaminy vyvolat dělení sousedních či podkladových buněk a zacelit poškozené místo. Toto zacelení je závislé na tvorbě aktinového vlákna, jehož tvorbu zajišťují právě polyaminy, hlavně spermin. Exogenní polyaminy tak mohou jednoduše nahradit funkci endogenních polyaminů na vnitřní stěně střeva (Moinard a kol., 2005).

Sledovány byly také hladiny polyaminů během transplantací či odnětí části střev. Při těchto úkonech se zvyšovaly hladiny polyaminů u nedotčených částí střeva. Blokace ODC způsobila prodloužení adaptace, naproti tomu DAO adaptivní odpověď urychlila (Moinard a kol., 2005).

#### 4.2.1.6 Nádorové bujení

Ačkoliv jsou polyaminy často spojovány se vznikem karcinomů, je nutné zdůraznit, že samotnou tvorbu karcinomů nezpůsobují. Jejich efekt je pouze v urychlení růstu nádorů. U rakovinových tkání roste aktivita enzymů, podílejících se na syntéze polyaminů, což má za následek větší růst buněk. Tyto buňky mohou produkovat ve vyšším množství proteínázy, které způsobují narušení okolní zdravé tkáně. A navíc u imunitních buněk se v prostředí se zvýšeným množstvím polyaminů ztrácí schopnost tyto nádorové buňky likvidovat. Navíc bylo zjištěno, že funguje transportní systém, který umožňuje využívat k tomuto účelu nejen endogenně vzniklé, ale také potravinami přijímané polyaminy, z tohoto důvodu byla navrhována léčba, zakládající se na omezeném příjmu polyaminů

z potravy. Léčba byla s pozitivním výsledkem testována v klinických studiích u pacientů s karcinomem prostaty (Kalač, 2014).

Vysoké koncentrace polyaminů v erytrocytech se za běžných podmínek nacházejí pouze u novorozenců a jejich koncentrace se v čase rapidně snižuje. Během testování na myších bylo zjištěno, že erytrocyty myši ve věku 22 týdnů obsahovaly dvacetkrát méně spermidinu než erytrocyty právě narozených jedinců. Přítomnost jejich vyššího množství v jiných obdobích tak může poukazovat na různé patologické stavy, včetně rakovinného bujení (Moinard a kol., 2005).

Tento jev byl sledován i u pacientů trpících rakovinou. U nich byla pozorována přítomnost polyaminů v krvi i moči. Tohoto faktu využili vědci jako nástroje pro detekci onemocnění, a také k syntéze potencionálních léčiv působících proti rakovině. Například inhibitor syntézy polyaminů DFMO inhibuje ODC. Toto léčivo bylo účinně použito i během léčby spavé nemoci. Další skupinou léčiv jsou sulfoamidoderiváty polyaminů, které účinkují cytotoxicky na nádorové buňky. Zjišťování přítomnosti polyaminů v tělních tekutinách může být také potencionálně využito pro rutinní diagnostikování karcinomu (Bachrach, 2010; Moinard a kol., 2005).

#### **4.2.1.7 Další onemocnění**

U parazitárních onemocnění byl zjištěn účinek inhibitoru DMFO, který účinkuje prostřednictvím blokace ODC. Tento enzym je sice účinný u člověka i parazita, avšak rozdíl je v jejich stabilitě a opětovné aktivaci. Lidský enzym je sice méně odolnější oproti parazitárnímu, ale syntéza nové ODC u člověka, rychle nahrazuje deficit vzniklý DFMO, u parazita je její množství malé. Použití tohoto inhibitoru bylo účinné při léčbě Chagaovy choroby, leishmaniózy a malárie (Moinard a kol., 2005).

Nedávno se dokonce objevily studie, ve kterých se spermin a spermidin ukázaly jako významné antiglykační látky, což může v budoucnu přinést novou formu léčby cukrovky. Například agmatin je schopen určovat dávky inzulínu, vyplavované z Langerhansových ostrůvků a tím efektivně upravovat hladiny krevní glukózy (Moinard a kol., 2005).

Agmatin se také podílí na endokrinním vyplavování adrenalinu a noradrenalinu. Zvýšení hladiny exprese mRNA, která zajišťuje syntézu enzymu agmatinázy, se také objevilo v jaterních buňkách během žloutenky typu B. (Moinard a kol., 2005).

## ZÁVĚR

Polyaminy jsou malé molekuly, vyskytující se za běžných podmínek ve formě polykationtu. Tyto látky se přirozeně vyskytují u všech typů buněk. Jejich koncentrace v organismu jsou však poměrně malé. Hrají však významnou roli při mnohých dějích během života buňky. Ačkoliv bylo u některých organismů zjištěno, že mohou dokončovat celý vývojový cyklus i bez jejich přítomnosti, víme, že hrají nezastupitelnou roli v mnoha buněčných pochodech. Většina těchto procesů se odehrává v souvislosti s jejich vysoce kladně nabitou a ohebnou molekulou, která dokáže stabilizovat mnohé záporně nabitě molekuly, které jsou pro organismy životně důležité nebo naopak nahrazovat některé důležité kationty. Polyaminy mohou napomáhat při zaujímání správné konformace sloučenin jako jsou například nukleové kyseliny RNA a DNA, popřípadě během sbalování proteinových struktur. Složitost syntézy a její propojenost s jinými biochemickými ději, ukazuje vzájemnou závislost s mnoha procesy v buňce, jejichž aktivita může být regulována právě jejich prostřednictvím. Mezi základní polyaminy se řadí putrescin, spermin, spermidin, kadaverin a agmatin.

Tyto sloučeniny vznikají z aminokyselin, nejčastěji jejich dekarboxylací. Do organismu se mohou polyaminy dostávat dvěma základními cestami. Buďto vznikají přímo uvnitř organismu, což označujeme endogenní příjem nebo jsou polyaminy přijímány z prostředí, což nazýváme exogenní příjem. Uvnitř organismu existuje více biosyntetických drah, kterými mohou polyaminy vznikat. V jednom organismu se přitom může uplatňovat více drah současně a jejich aktivita je přitom ovlivněna různými faktory. Většinou je průběh syntézy totožný u příbuzných druhů organismů, není to však podmínkou.

Významné mikroorganismy z hlediska výskytu polyaminů jsou bakterie. Řada z nich totiž vykazuje dekarboxylační aktivitu, kterou polyaminy vznikají. Bakterie se mohou vyskytovat také uvnitř trávicího traktu živočichů a zajišťovat tak jejich další endogenní zdroj. Mohou být také využity pro výrobu řady potravin a tím zajišťovat naopak jejich exogenní přísun. S tím souvisí jejich nejvyšší koncentrace uvnitř fermentovaných potravin.

U mikroorganismů mohou polyaminy ovlivňovat řadu procesů. Mohou se podílet na správné tvorbě a funkci buněčné membrány, regulovat průchodnost kanálů, ovlivňovat virulenci a patogenitu nebo se také aktivně účastnit pochodů proti stresu.

U rostlin je jejich funkce velmi podobná jako u mikroorganismů. Podílí se například na tvorbě cév, kanálů, ale také během její reprodukce, zrání pohlavních buněk a plodů. Nejvýznamněji se však uplatňují při různých stresových situacích.

U živočichů, včetně člověka se uplatňují obvykle během aktivního růstu, reprodukce, nebo při hojení ran a imunitní odpovědi. Porucha v řízení polyaminů tak může způsobovat různé patologické stavy. Jistý podíl je jim také připisován v souvislosti s rakovinovým bujením. Ačkoliv přímo nejsou příčinou vzniku karcinomů, ovlivňují růst nádorů. Proto mohou být polyaminy popřípadě jejich analogy použity jako potenciální léčiva pro choroby způsobené poruchou regulace určitých drah, včetně rakoviny.

Určení jejich skutečné funkce v organizmech je problematické hlavně z toho důvodu, že se tyto funkce určují převážně z experimentů, u nichž se mění geny zajišťující jejich syntézu. Účinek se pak určuje zpětně z rozdílů odpovědí na podněty u běžného organismu a genetického mutanta. Většina pokusů se však provádí *in vitro* na modelových organizmech. U mikroorganismů se nejčastěji využívá *Escherichia coli*, u rostlin *Arabidopsis thaliana* a u živočichů pak tyto testy bývají prováděny na hlodavcích. Z tohoto důvodu je někdy docela těžké zobecňovat jejich účinky, které byly potvrzeny pouze u konkrétní skupiny organismů.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AGOSTINELLI, E. et al., 2010. Polyamines: fundamental characters in chemistry and biology. *Amino Acids* [online]. 38, 393-403 [cit. 2018-03-17]. DOI: 10.1007/s00726-009-0396-7. ISSN 0939-4451. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00726-009-0396-7>

BACHRACH, Uriel, 2010. The early history of polyamine research. *Plant Physiology and Biochemistry* [online]. 48(7), 490-495 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.02.003. ISSN 09819428. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942810000331>

BENKERROUM, Noreddine, 2016. Biogenic Amines in Dairy Products: Origin, Incidence, and Control Means. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 15(4), 801-826 [cit. 2018-04-26]. DOI: 10.1111/1541-4337.12212. ISSN 15414337. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1541-4337.12212>

BUIATTI, Stefano et al., 1995. Determination of biogenic amines in alcoholic and non-alcoholic beers by HPLC. *Food Chemistry* [online]. 52(2), 199-202 [cit. 2018-04-25]. DOI: 10.1016/0308-8146(94)P4204-S. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0308814694P4204S>

BUŇKA, František et al., 2012. Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 118(2), 213-216 [cit. 2018-04-25]. DOI: 10.1002/jib.31. ISSN 00469750. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jib.31>

BOVERCID, S. et al., 2006. Biogenic mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation. *Food Chemistry* [online]. 96(1), 43-47 [cit. 2018-04-25]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.054. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881460500155X>

CHATTOPADHYAY, M. K. et al., 2002. Absolute requirement of spermidine for growth and cell cycle progression of fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. **99**(16), 10330-10334 [cit. 2018-04-26]. DOI: 10.1073/pnas.162362899. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.162362899>

FALASCA, G. et al., 2010. Polyamine biosynthesis and control of the development of functional pollen in kiwifruit. *Plant Physiology and Biochemistry* [online]. **48**(7), 565-573 [cit. 2018-04-20]. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.02.013. ISSN 09819428. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942810000562>

GOLIAN, Jozef a Lucia ZELENÁKOVÁ, 2014. *Ochorenia z potravín. 2. nezměněné vydání*. Nitra: SPU. ISBN 978-80-552-1235-7.

IZQUIERDO-PULIDO, Maria et al., 1996. Biogenic Amines in European Beers. *J. Agric. Food Chem* [online]. **44**, 3159-3163 [cit. 2018-04-25]. DOI: 10.1021/jf960155j. ISBN 10.1021/jf960155j. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf960155j>

KALÁČ, Pavel, 2014. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005–mid 2013. *Food Chemistry* [online]. 27-39 [cit. 2018-04-07]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814614005056?via%3Dihub>

KALÁČ, Pavel a Maria Beatriz Ambreu GLÓRIA, 2009. Biogenic amines in cheeses, wines, beers and sauerkraut. *Biological Aspects of Biogenic Amines, Polyamines and Conjugates* [online]. Guy Dandrifosse, s. 267-309 [cit. 2018-04-09]. ISBN 978-81-7895-249-9.

KALACĚ, Pavel a Petra KRAUSOVÁ, 2005. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry* [online]. **90**(1-2), 219-230 [cit. 2018-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.044. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814604002961>

KALACĚ, Pavel a Martin KŘÍŽEK, 2003. A review of Biogenic Amines and Polyamines in Beer. *J. Inst. Brew.* [online]. **109**(2), 123-128 [cit. 2018-04-25].

KARATAN, Ece a Anthony J. MICHAEL, 2013. A wider role for polyamines in biofilm formation. *Biotechnology Letters* [online]. **35**(11), 1715-1717 [cit. 2018-04-25]. DOI: KŘÍŽEK, M. a P. KALACĚ, 1998. Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech J. Food Sci.* [online]. **16**(4), 151-159 [cit. 2018-04-07]. 10.1007/s10529-013-1286-3. ISSN 0141-5492. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10529-013-1286-3>

KOMPRDA, Tomáš, 2007. *Obecná hygiena potravin*. Dotisk 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 978-807-3750-596.

KUTCHAN, T. M., 1995. Alkaloid Biosynthesis—The Basis for Metabolic Engineering of Medicinal Plants. *THE PLANT CELL ONLINE* [online]. **7**(7), 1059-1070 [cit. 2018-04-21]. DOI: 10.1105/tpc.7.7.1059. ISSN 10404651. Dostupné z: <http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.7.7.1059>

LOIZZO, Monica Rosa et al., 2016. Influence of packaging conditions on biogenic amines and fatty acids evolution during 15 months storage of a typical spreadable salami ('Nduja). *Food Chemistry* [online]. **213**, 115-122 [cit. 2018-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.06.061. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616309542>

MALIK, Aman Ullah a Zora SINGH, 2006. Improved fruit retention, yield and fruit quality in mango with exogenous application of polyamines. *Scientia Horticulturae* [online]. **110**(2), 167-174 [cit. 2018-04-21]. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.06.028. ISSN 03044238. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423806002755>

MIKLÓS, E. a T. SARJALA, 2002. Correlation between the levels of potassium and polyamines in the leaves of grapevine. *Acta Biologica Szegediensis* [online]. 46(3-4), 203-204 [cit. 2018-03-17]. Dostupné z: <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>

MOINARD, C. et al., 2005. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition* [online]. **24**(2), 184-197 [cit. 2018-04-22]. DOI: 10.1016/j.clnu.2004.11.001. ISSN 02615614. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561404001967>

LI, Hui et al., 2016. Intracellular sources of ornithine for polyamine synthesis in endothelial cells. *Amino Acids* [online]. 48(10), 2401-2410 [cit. 2018-04-06]. DOI: 10.1007/s00726-016-2256-6. ISSN 0939-4451. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00726-016-2256-6>

ÖNAL, Armağan, 2007. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry* [online]. 103(4), 1475-1486 [cit. 2018-04-05]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.028>

OSHIMA, T., 2007. Unique polyamines produced by an extreme thermophile, *Thermus thermophilus*. *Amino Acids* [online]. 33(2), 367-372 [cit. 2018-04-06]. DOI: 10.1007/s00726-007-0526-z. ISSN 0939-4451. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00726-007-0526-z>

PATHAK, Malabika Roy et al., 2014. Polyamines in response to abiotic stress tolerance through transgenic approaches. *GM Crops & Food* [online]. **5**(2), 87-96 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.4161/gmcr.28774. ISSN 2164-5698. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/gmcr.28774>

PEÑAS, Elena et al., 2010. Impact of fermentation conditions and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chemistry* [online]. **123**(1), 143-150 [cit. 2018-04-25]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.021. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610004772>

RANGAN, Parimalan et al., 2014. Recent Advances in Polyamine Metabolism and Abiotic Stress Tolerance. *BioMed Research International* [online]. 2014(239621), 9 [cit. 2018-04-05]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/239621>

ROMANO, Andrea et al., 2014. Putrescine production via the ornithine decarboxylation pathway improves the acid stress survival of *Lactobacillus brevis* and is part of a horizontally transferred acid resistance locus. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **175**, 14-19 [cit. 2018-04-26]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.01.009. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160514000373>

SHAH, Pratik a Edwin SWIATLO, 2008. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Molecular Microbiology* [online]. **68**(1), 4-16 [cit. 2018-03-17]. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06126.x. ISSN 0950-382X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.2008.06126.x>

SHAN-SHAN, Xie et al., 2014. Plant Growth Promotion by Spermidine-Producing *Bacillus subtilis* OKB105. *E-Xtra* [online]. 27(7), 655-663 [cit. 2018-03-17]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-14-0010-R>

SOUDEK, Petr et al., 2016. Improving crop tolerance to heavy metal stress by polyamine application. *Food Chemistry* [online]. **213**, 223-229 [cit. 2018-03-24]. Dostupné z: [https://ac-els-cdn-com.proxy.k.utb.cz/S030881461630989X/1-s2.0-S030881461630989X-main.pdf?\\_tid=c40c2024-8ce5-4b83-baaa-e0048b1d1a2d&acdnat=1521886048\\_c11697a93acbae766791ebab7ba7de41](https://ac-els-cdn-com.proxy.k.utb.cz/S030881461630989X/1-s2.0-S030881461630989X-main.pdf?_tid=c40c2024-8ce5-4b83-baaa-e0048b1d1a2d&acdnat=1521886048_c11697a93acbae766791ebab7ba7de41)

TAKAHASHI, Yoshihiro et al., 2007. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. **352**(2), 486-490 [cit. 2018-04-17]. Dostupné z: [https://ac-els-cdn-com.proxy.k.utb.cz/S0006291X06025101/1-s2.0-S0006291X06025101-main.pdf?\\_tid=f6086766-2a6c-468f-9e1c-2abdae086436&acdnat=1523981238\\_542d573f679bdd0d6597b93fa162d7e7](https://ac-els-cdn-com.proxy.k.utb.cz/S0006291X06025101/1-s2.0-S0006291X06025101-main.pdf?_tid=f6086766-2a6c-468f-9e1c-2abdae086436&acdnat=1523981238_542d573f679bdd0d6597b93fa162d7e7)

TOMAR, Pushpa C et al., 2013. Cadaverine: A lysine catabolite involved in plant growth and development [online]. **8**(10), e25850- [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.4161/psb.25850. ISSN 1559-2324. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.25850>

VERA-SIRERA, Francisco et al., 2010. Role of polyamines in plant vascular development. *Plant Physiology and Biochemistry* [online]. **48**(7), 534-539 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.01.011. ISSN 09819428. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942810000173>

ZHAO, Fugeng et al., 2007. Polyamines Improve  $K^+/Na^+$  Homeostasis in Barley Seedlings by Regulating Root Ion Channel Activities. *Plant Physiology* [online]. **145**(3), 1061-1072 [cit. 2018-04-17]. ISSN 00320889. Dostupné z: <https://search-proquest-com.proxy.k.utb.cz/docview/218627777/fulltextPDF/E04BFD2501694793PQ/1?accountid=15518>

## LEGISLATIVNÍ DOKUMENTY

*Úřední věstník Evropské unie: NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1441/2007, 2007. In: . L 322/12. Dostupné také z: [http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=uriserv:OJ.L\\_.2007.322.01.0012.01.CES&toc=OJ:L:2007:322:TOC](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2007.322.01.0012.01.CES&toc=OJ:L:2007:322:TOC)*

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ACC	1-aminocyklopropan-1-karboxylová kyselina
acetyl-CoA	acetyl-koenzymA
ADC	arginin-dekarboxyláza
AdoMetDC	S-adenosylmetionin-dekarboxyláza
AGM	agmatin
AIH	agmatin-iminohydroláza
BA	biogenní aminy
BAI	index biogenních aminů
BMK	bakterie mléčného kvašení
CAD	kadaverin
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CE	kapilární elektroforéza
CHA	cyklohexylamin
CPA	N-karbamoylputrescin-amidohydroláza
dcSAM	dekarboxylovaný produkt S-adenosylmetioninu
DFMA	difluorometyl-argini
DFMO	difluorometyl- ornitin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
G+	gram pozitivní
G-	gram negativní
GABA	$\gamma$ -aminomáselná kyselina
GC	plynová chromatografie
HIS	histamin
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie



---

LDC	lyzin-dekarboxyláza
LHRH	luteinizační hormon
MAT	metionin-adenosyl-transferáza
MGBG	metylglyoxal-bis(guanylhydrazon)
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
MTA	methylthioadenosin
ODC	ornitin-dekarboxylázy
PEA	fenylalanin
pH	vodíkový potenciál
pK	disociační konstanta
ppm	parts per milion, jedna miliontina
PUT	putrescin
RNA	ribonukleová kyselina
SAM	S-adenosylmetionin
SAMDC	S-adenosylmetionin-dekarboxyláza
SOD	superoxid-dismutáza
SoxS	gen pro superoxid-dismutázu
SPD	spermidin
SPDS	spermidin-syntáza
SPM	spermin
SPMS	spermin-syntáza
SSAT	spermidin/spermin N1-acetyltransferáza
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
tRNA	transferová ribonukleová kyselina
TRY	tryptamin

TYR      tyrozin

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obrázek 1</i> Základní polyaminy (Önal, 2007) .....	23
<i>Obrázek 2</i> Polyaminy nalezené u termofilních organismů (Oshima, 2007) .....	24
<i>Obrázek 3</i> Syntéza polyaminů (Rangan a kol., 2014) .....	26
<i>Obrázek 4</i> Biosyntetické dráhy termofilních mikroorganismů (Oshima, 2007) .....	39
<i>Obrázek 5</i> Syntéza a rozklad polyaminů rostlinami (Pathak a kol., 2014).....	42
<i>Obrázek 6</i> Katabolismus putrescinu a vznik alkaloidů (Kutchan, 1995).....	43
<i>Obrázek 7</i> Syntéza GABA z putrescinu ve střevních buňkách(Moinard a kol., 2005) .....	53