

VÝZNAM NUKLEOTIDŮ JAKO SLOŽKY VÝŽIVY PRO RŮST, REGENERACI A IMUNITU

RNDr. Petr Šíma, CSc.

Sektor imunologie a gnotobiologie, Mikrobiologický ústav v.v.i. AV ČR, Praha

V obdobích růstu a stárnutí, infekčního onemocnění a rekonvalescence je třeba zabezpečit zvýšený příjem nejen všech složek stravy, ale také tzv. dietárních (mono-, oligo-, poly-) nukleotidů (dNT), které jako DNA a RNA jsou vždy obsaženy v potravinách rostlinného i živočišného původu. Bylo prokázáno, že dNT jsou důležité pro podporu vývoje a růstu v postnatálním období (mléčné formule) i pro podporu regenerace a normalizace metabolických, fyziologických a imunitních funkcí při stárnutí, chronických onemocněních a pooperační rekonvalescenci (suplementace některých potravin). Jsou také součástí potravin pro zvláštní účely zahrnutých do preventivních programů, které jsou skladebně zaměřeny pro kompenzace malnutrice v oblastech válečných konfliktů, přírodních katastrof a posílení imunitních funkcí populace v regionech postižených průmyslovým znečištěním nebo před obdobími očekávaných epidemií. Aplikace dNT do potravin a potravinových doplňků je v souladu s vytyčenými cíli SZO zahrnutými v programu Výživa pro zdraví v 21. století (WHO 1998), který je zaměřen na snížení mortality na infekční a chronické (kardiovaskulární, nádorové a neurodegenerativní) nemoci, a také na zdravé stárnutí (zvýšení kvality života).

Klíčová slova: dietární nukleotidy (dNT), růst, regenerace, stárnutí, imunita.

NUCLEOTIDES AS NUTRITIONAL COMPONENTS ESSENTIAL FOR GROWTH, REGENERATION AND IMMUNITY

Increased intake of all food components including so called dietary (mono-, oligo-, and poly-) nucleotides (dNT), which are included in the form of DNA and RNA in all foodstuffs of animal or plant origin, is required during growth and ageing, infection and recovery. Importance of dNT as components of supplemented diets aimed for special purposes was proved for postnatal development and growth support (milk formulas), for regeneration and normalization of physiologic and immune functions during ageing, chronic diseases, and post-operative recovery (supplementation of selected foodstuffs). They are utilized for food production aimed for compensation of malnutrition in war, disaster areas, polluted regions, and for fortifying of immunity before anticipated epidemics (preventive supporting programs). Application of dNT into special food is in the consent with the WHO Program Health for All in the 21st Century (WHO 1998), which is targeted to minimize the mortality to communicable and chronic (cardiovascular, neurodegenerative, and cancer) diseases, and moreover, to healthy ageing (improving of quality of life).

Key words: dietary nucleotides (dNT), growth, regeneration, ageing, immunity.

Interní Med. 2008; 10(12): 555–557

Úvod

Čtyři základní složky potravin: bílkoviny, tuky, cukry a nerostné látky byly určeny již v první polovině 19. století. V průběhu 20. století byly definovány další součásti výživy: vitamíny a antioxidanty (m. j. flavonoidy), stopové prvky a prebiotika. Avšak až v devadesátých letech upozornila řada odborníků na nutriční význam nukleotidů, které rovněž tvoří všudypřítomnou složku potravin rostlinného i živočišného původu (jsou hlavně obsaženy v jádrech buněk a v mitochondriích jako DNA a RNA). Je udivující, že pojednání o nutriční (včetně odborných monografií), dokonce i ta nejnovější, sice na důležitost jednotlivých složek výživy pro zdraví upozorňují a rovněž o nich uvádějí nejnovější poznatky, ale zcela ignorují nutriční úlohu exogenních tzv. dietárních nukleotidů (dNT).

Historie

Ještě v osmdesátých letech 20. století se na základě tehdejších studií konstatuje, že není biochemický ani fyziologický důvod považovat dNT za významnou nutriční složku, protože v metabolismu dusíku hrají zanedbatelnou úlohu (21). Po orální aplikaci purinů a pyrimidinů značených ^{14}C byla zaznamenána jejich minimální inkorporace do tkání (7) a z toho se

soudilo, že dNT nemají výživový význam ani pro rostoucí organismus dětí. Za daleko efektivnější zdroj nukleotidů v organismu byla považována endogenní syntéza purinů a pyrimidinů a stále probíhající syntéza ribozomální RNA *de novo*, nikoliv využití dNT degradací nukleových kyselin obsažených ve stravě (1). Převládá rovněž názor, že vysoký obsah purinů a pyrimidinů v potravě narušuje metabolismus dusíku, což nakonec vyústí v onemocnění dnou. Význam dNT byl srovnáván s neesenciálními aminokyselinami, které jsou rovněž syntetizovány endogenně, a absence některé z nich nemá pro proteinový metabolismus žádné následky. Regulace metabolismu nukleotidů probíhá principiálně stejně jako v případě glutaminu, který může ve stravě zcela chybět, aniž dojde k poškození organismu, neboť je dostatečně syntetizován *de novo*, tak doplňován reutilizací z glutamátu.

Tyto názory se o deset let později radikálně změnilly. Byly přineseny zcela jednoznačné důkazy, že dNT jsou důležitou a z mnoha hledisek nepostradatelnou nutriční složkou. Zcela nové bylo, že organismus využívá dNT z potravy přímo, aniž by je musel vysoce energeticky konstruovat *de novo*. Jejich trvale nedostatečný přísun při dlouhodobě převažující rostlinné stravě nebo hladovění se projeví nejen oslabením

antiinfekční imunity, ale také poklesem jaterních funkcí a u malnutrizovaných dětí pak zpožděním vývoje CNS, imunitního systému a celkového růstu (8).

Struktura a funkce nukleotidů v organismu

Nukleotidy jsou ubikviterně rozšířené fosforečné estery pentóz (ribóza, deoxyribóza) vázané na šestičlennou pyrimidinovou (uracil, thymin, cytozin) nebo pětičlennou purinovou dusíkatou bázi (adenin, guanin, xantin, hypoxantin). Nukleotid bez fosfátové skupiny se nazývá nukleosid. Nukleosidy mohou esterově vázat jednu, dvě nebo tři molekuly kyseliny fosforečné za vzniku nukleosid- mono-, -di- a -trifosfátů (18). Energie akumulovaná vytvořením jedné nebo dvou anhydridových vazeb činí z nukleosid-difosfátů a trifosfátů vysokoenergetické makroergní sloučeniny. Díky ionizaci fosfátové skupiny se nukleotidy chovají jako středně silné kyseliny (tabulka 1). Purinové a pyrimidinové trifosfáty efektivně transportují chemické skupiny, v energetickém metabolismu fungují jako donory fosfátu a většina participuje na vytváření kovalentních vazeb. Nejvýraznějším příkladem je polymerizace nukleosidových trifosfátů při syntéze DNA a RNA. Mono-, di- i trifosfáty se dále účastní

Tabulka 1. Přehled nomenklatury nukleotidů a užívaných zkratk

Báze	Nukleosid	Ribonukleotid nukleosid + mono-, di-, trifosfát	deoxyribonukleotid deoxynukleosid + mono-, di-, trifosfát
puriny adenin (Ade, A) (6-aminopurin) guanin (Gua, G) (2-amino-6-oxypurin) hypoxantin (6-oxypurin) xantin (2,6-dioxypurin)	adenosin (Ado, A) guanosin (Guo, G) inosin	adenosinmonofosfát (AMP), kys. adenylová guanosinmonofosfát (GMP), kys. guanylová inosinmonofosfát (IMP)	deoxyadenosinmonofosfát (dAMP) deoxyguanosinmonofosfát (dGMP)
pyrimidiny cytosin (Cyt, C) (2-oxo-4-aminopyrimidin) thymidin (Thy, T) (2,4-dioxy-5-methylpyrimidin) uracil (Ura, U) (2,4-dioxypyrimidin) kys. orotová (2,4-dioxy-6-karboxypyrimidin)	cytidin (Cyd, C) deoxythymidin (dTd, T) uridin (Urd, U)	cytidinmonofosfát (CMP), kys. cytidylová uridinmonofosfát (UMP), kys. uridylová	deoxycytidinmonofosfát (dCMP) deoxythymidinmonofosfát (dTMP), kys. deoxythymidylová

téměř všech metabolických funkcí, spouští kas-kádu přenosu signálu přes purinové a pyrimidinové buněčné receptory a jako mediátory jsou nezbytné např. pro agregaci krevních destiček. Jsou součástí řady metabolicky aktivních látek. Nejuniverzálnější z nich je adenosintrifosfát (ATP), který je donorem volné energie pro řadu biochemických procesů. Spolu s ostatními adeninovými nukleotidy je ATP součástí hlavních koenzymů. Jeho cyklický derivát, 3',5'-adenosinmonofosfát (cAMP) je jedním z ústředních regulačních faktorů metabolismu.

Všechny nukleotidy (nukleosidy) pohlcují mutagenní UV záření o vlnových délkách kolem 260 nm díky konjugovaným dvojným vazbám v heterocyklických purinových a pyrimidinových bazích. Absorbovaná vlnová délka závisí na pH, které určuje distribuci protonů a tím elektrický náboj (12).

Esenciální význam mají nukleotidy v regeneračních procesech. Na jednu mitózu je zapotřebí řádově 10^9 nukleotidů (13). Z tohoto údaje si lze odvodit, kolik nukleotidů je v organismu zapotřebí jen pro buněčné dělení při klidové regeneraci tkání, deskvamaci kůže, pro obnovu mukózních epitelů a krevtvorbu. Jako příklad lze uvést obnovu střevního epitelu, kdy se během 24 hodin u dospělého člověka odbourá a je nahrazeno kolem 300 g enterocytů (9). Požadavky na přísun nukleotidů exponenciálně vzrůstají v období nastupující imunitní odpovědi v důsledku klonální expanze imunokompetentních buněk a jejich terminální diferenciaci do buněk efektorových (16).

Zdroje, využití a osud dNT v organismu

Endogenní syntéza nukleotidů *de novo* z molekul jako CO_2 , amoniaku a ribózy (pyrimidiny), glycinu, aspartátu, kyseliny listové a glutaminu (puriny) ani reutilizace nejsou vždy plně dostačující, aby vyrovnaly zvýšené požadavky organismu na metabolické procesy a obnovu. K vyrovnané bilanci endogenních nukleotidů přispívá příjem dNT ze stravy obsahující jejich dostatečné množství. Jsou to především maso a luštěniny, z nichž však jsou dNT obtížněji získatelné (tabulka 2). V mase a rybách převládá IMP, které vzniká *post mortem* z ATP, resp. deaminací AMP. V ma-

se koryšů převažuje AMP. Vysoký obsah GMP mají některé houby a také kvasničné extrakty používané jako polévkové přípravky. Určitým zdrojem dNT jsou také potravinová aditiva, zvláště intenzifikátory aroma. Jsou to dvojsodné soli 5-ribonukleotidů, 5'-inosinové (IMP), 5'-guanylové kyseliny (GMP) a 5'-xanthinové kyseliny (XMP). K potravinám se přidávají v množství 0,001–0,2 %. Je povoleno používat je samostatně (i jejich soli), nebo v kombinacích. Podněťový práh IMP je 250 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ a GMP 125 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Směs IMP a GMP v poměru 1:1 má podněťový práh 63 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, v kombinaci s 8 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ glutamátu je to dokonce 0,31 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. V masových extraktech (polévkové přípravky) je IMP obsaženo kolem 10 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. V současné době je v řadě zemí množství nukleotidů přidávaných do potravin jako přídatné látky dáno legislativně (17).

K částečné hydrolyze nukleoproteinů potravy dochází již v žaludku. Ve střevě jsou pak proteolytickými enzymy odštěpeny nukleové kyseliny. Pankreatické nukleázy a střevní polynukleotidázy a fosfoesterázy

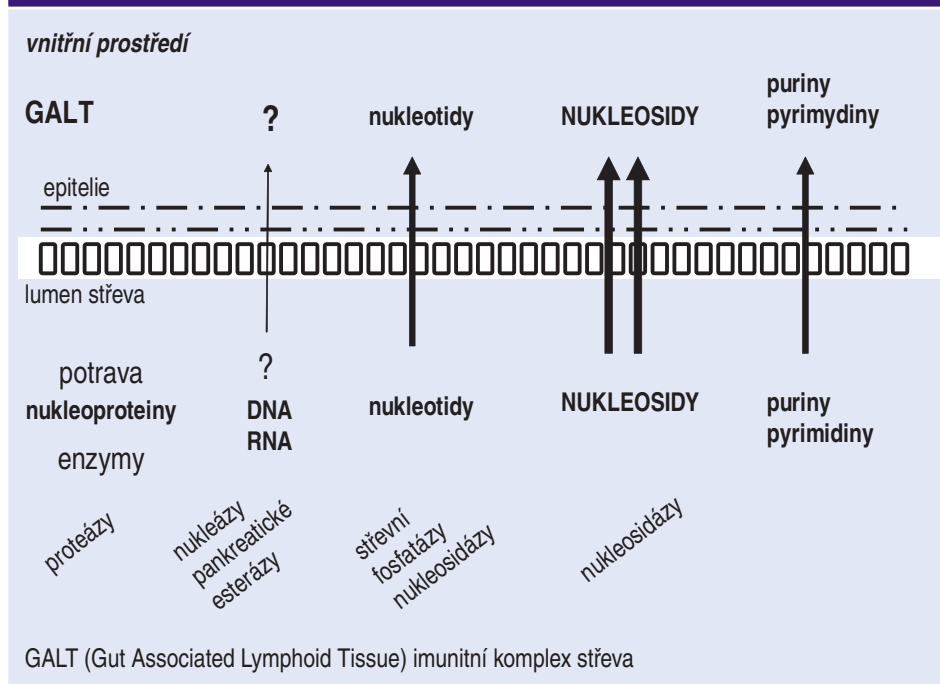
štěpí nukleové kyseliny dále na poly- až mononukleotidy, které jsou alkalickou fosfatázou enterocytů dále hydrolyzovány na nukleosidy (11) a degradovány na purinové a pyrimidinové báze (6) (obrázek 1). Nukleosidy přecházejí z 90 % do enterocytů difuzí, nebo přenosovým mechanismem za přítomnosti Na^+ . V enterocyty jsou nukleosidy (báze) rychle katabolizovány a degradační produkty (kyselina močová) jsou zpětně vyloučeny do střevního lumen a moči. Převaha katabolických procesů nad anabolickými, a to zvláště v proximální části tenkého střeva, představuje mechanismus extrarenálního odstraňování kyseliny močové. Dále do tkání, především do jater a kosterního svalstva, se dostane 2–5 % celkového množství dNT.

Převažující degradace dNT ve střevním traktu a rychlá absorpce vzniklých nukleosidů enterocyty se mohla fylogeneticky ustavit proto, že se tak snižuje jejich dostupnost pro střevní patogenní mikroflóru, zvláště pro protozoa, pro něž jsou purinové báze

Tabulka 2. Orientační srovnání obsahů purinů a ribonukleotidů (mg/100 g) a proteinů (%) v potravinách (4)

potravina	adenin	guanin	hypoxantin	xantin	celk. puriny	RNA	proteiny
vnitřnosti							
hovzí:							
– játra	620	74	61	0	197	268	20
– ledviny	420	47	63	61	213	134	18
– srdce	150	16	38	102	171	49	19
– mozek	120	12	26	112	162	61	11
vepřové:							
– játra	590	77	71	82	289	259	22
drůbeží:							
– játra	720	78	71	22	243	402	20
– srdce	320	41	12	138	223	187	18
mořské ryby							
ančovičky	800	185	6	212	411	341	20
sardinky	600	118	6	215	345	343	23
makrely	110	26	5	152	194	203	23
lososi	260	80	11	133	250	289	23
mořští měkkýši							
škeble	140	24	12	86	136	85	17
kalmaři	180	15	24	78	135	100	15
luštěniny							
hrách	880–1040	74–82	11–20	16–22	195–222	173–356	22
fazole	170–460	14–39	18–25	7–34	56–144	356–485	20
čočka	540	51	15	42	162	140	28

Obrázek 1. Absorbce dNT ze střeva



esenciální. Navíc bylo prokázáno, že dNT zvyšují expresi genů kódujících produkci střevních enzymů potřebných k využití dNT, což je interpretováno jako evoluční adaptace preferující tuto cestu před energeticky náročnější syntézou *de novo*.

Nutriční význam dNT

Denně přijímá dospělý člověk v průměru 1–2 g dNT. To je mnohem více než celkové množství vitamínů a minerálních látek, ale méně než sacharidů, lipidů a proteinů, přičemž jak lze odvodit z tabulky 2, nelze při běžném stravování porušit rovnováhu metabolismu dusíku v těle. Pro kojence a v období růstu je však třeba zabezpečit dostatečný přísun dNT, které jsou nezbytné především pro maturaci gastrointestinálního traktu a jeho enzymatické vybavy, zvláště metabolismu lipoproteinů a kyseliny linolenové.

Nenahraditelným zdrojem dNT je mateřské mléko (1). Nehledě na mnoho dalších ochranných faktorů, hormonů, esenciálních nutričních složek a buněčných elementů obsahuje mateřské mléko 20–25 % neproteinového dusíku. Největší část neproteinové frakce mateřského mléka tvoří urea, o jejímž nutričním významu se mnoho neví. Volné a buněčně vázané nukleotidy tvoří hlavně CMP a AMP (2–5 %). Od 5 do 8 týdnů laktace obsahuje mateřské mléko 10–120 mg.l⁻¹ DNA a 100–600 mg.l⁻¹ RNA. Ve srovnání s mlékou většiny savců je obsah dNT v mateřském mléce daleko vyšší (10), což se vysvětluje specifickými růstovými požadavky odlišujícími vývoj kojence od mláďat jiných druhů savců. Např. kravské mléko na rozdíl

od mateřského obsahuje jen 5 % neproteinového dusíku, a proto kojenecké a dětské formule připravené z kravského mléka jsou bez suplementace dNT pro plnohodnotné zabezpečení růstu organismu nedostačující. Pro kojence má činit příjem nukleotidů 160 mg.kg⁻¹ hmotnosti/den, jak vyplývá z denního průměrného hmotnostního růstu 10 g.kg⁻¹/den, celkových ztrát nukleotidů a exkrece kyseliny močové, nebo musí být adekvátní *de novo* syntéza hrazena příjmem 212 mg aminokyselin (15). V tabulce 4 jsou uvedena množství nukleotidů pro suplementaci kojeneckých formulí, která odpovídají platným normám pro státy Evropské unie (5). Mléčné formule suplementované dNT jsou dostupné od r. 1983 a množství a poměry dNT odpovídají doporučení příslušných institucí (14). Zpočátku se suplementovaly 10,2 mg.l⁻¹ dNT, v r. 1989 33 mg.l⁻¹ a od r. 1996 72 mg.l⁻¹.

Kojení mateřským mlékem i dNT suplementované mléčné formule dNT urychluje reparaci enterocytů a zvyšuje obsah mukózních proteinů, které mají důležitou úlohu při fixaci sekrečního imunoglobulinu A, a nepřímo tak optimalizuje mukózní imunitu (3). Pozitivně ovlivňuje rozvoj probiotických bakterií (bifidobakterií a laktobacilů), které potlačují růst gramnegativní střevní flóry (15). Vyšší procentuální zastoupení gramnegativních mikrobů bylo naopak zaznamenáno u dětí, které dostávaly formule bez dNT. U dětí žijících v kontaminovaném prostředí bylo podáváním formulí s dNT dosaženo snížení počtu průjemových onemocnění a zlepšení celkového zdravotního stavu (2).

Tabulka 3. Přehled intenzifikátorů aróma povolených v ČR (17, 19)

E 626	guanylová kyselina (5'-GMP)
E 627	dinatrium-guanylát (guanylát sodný)
E 628	dikalium-guanylát (guanylát draselný)
E 629	kalcium-guanylát (guanylát vápenatý)
E 630	inosinová kyselina (5'-IMP)
E 631	dinatrium-inosinát (inosinát sodný)
E 632	dikalium-inosinát (inosinát draselný)
E 633	kalcium-inosinát (inosinát vápenatý)
E 634	vápenaté soli 5'-ribonukleotidů
E 635	sodné soli 5'-ribonukleotidů

Tabulka 4. Obvyklé suplementace dNT v mg/100 kJ* v kojeneckých mléčných formulích

puriny		pyrimidiny	
AMP	0,36	CMP	0,60
GMP	0,12	UMP	0,42
IMP	0,24		

* Celkový obsah dNT nesmí překročit 1,2 mg/100 kJ

Závěr

Výživa odpovídající růstovým a energetickým nárokům dané věkové kategorie je jednou ze základních podmínek harmonického vývoje a udržení zdraví. V obdobích růstu a stárnutí, infekčního onemocnění a rekonvalescence je důležité zabezpečit zvýšený příjem nejen některých nutričních složek (proteiny, vitaminy, stopové prvky), ale také dNT. Zvýšený příjem dNT je rovněž třeba zabezpečit pro těhotné a kojící ženy, populace obyvatel vystavené vlivům různých škodlivin životního nebo pracovního prostředí a pro seniory. Komplexní úloha dNT v organismu je v současné době v popředí zájmu výzkumných i klinických pracovníků. Především je studován vliv dNT suplementace na vývoj organismu v postnatálním období, růst dětí zejména v malnutrizovaných regionech a průmyslově znečištěných oblastech, podporu imunitních funkcí před obdobími očekávaných infekčních epidemií, regenerační pochody a normalizaci metabolických, fyziologických a imunitních funkcí při pozátěžové a pooperační rekonvalescenci, chronických infekčních stavech a v průběhu stárnutí.

Literatura u autora

a na www.solen.cz

RNDr. Petr Šíma, CSc.

Sektor imunologie a gnotobiologie
Mikrobiologický ústav v.v.i. AV ČR
Václavská 1083, Praha 4, 142 20
e-mail: sima@biomed.cas.cz

Literatura

1. Barness LA. Dietary sources of nucleotides – from breast milk to weaning. *J. Nutr.* 1994; 124 (1): 128S–130S.
2. Brunser O, Espinoza J, Araya M, Cruchet S, Gil A. Effect of dietary nucleotide supplementation on diarrhoeal disease in infants. *Acta Paediatr.* 1994; 83(2): 188–191.
3. Carver JD. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal, and hepatic function. *J. Nutr.* 1994; 124 (1): 144S–148S.
4. Clifford AJ, Story JD. Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. *J. Nutr.* 1976; 106(3): 435–442.
5. Commission Directive 96/4/EC. Official Journal of the European Communities L49, 1996.
6. Cory JG. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism. In: Devlin, T. M. ed. *Textbook of Biochemistry* 529–571, Wiley-Liss, Inc. New York, USA, 1992.
7. D’Mello JPF. Utilization of dietary purines and pyrimidines by non-ruminant animals. *Proc. Nutr. Soc.* 1982; 41 (3): 301–308.
8. Grimble GK. Why are dietary nucleotides essential nutrients, *Brit. J. Nutr.* 1996; 76(4): 475–478.
9. Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* 1992; 72(1): 57–64.
10. Molina JA, Romera JM, Gil A. Nucleotides and nucleic acids in human milk. In: Gil A, Uauy R, eds. *Nutritional and biological significance of dietary nucleotides and nucleic acids*. Abbott Laboratories, Granada, 1996: 63–67.
11. Quan R, Barness LA, Uauy R. Do infants need nucleotide supplemented formula for optimal nutrition? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1990; 11: 429–427.
12. Rodwell VW. Nucleotides. In: Murray KR, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. eds. *Harper’s Biochemistry*, Prentice-Hall International Inc., London, 1993: 353–362.
13. Roux JM. Nucleotide supply of the developing animal: role of so called ‘salvage pathways.’ *Enzyme* 1973; 15(1): 361–377.
14. Scientific Committee for Food. Second Addendum to the Reports of the Scientific Committee for Food concerning the essential requirements of infant formulae and follow up milks based on cow’s milk proteins and the minimal requirements for soya based formulae and follow-up milks. In *Science and Techniques* 24th series, pp. 25–30, Commission of the European Communities. Luxembourg, 1991.
15. Uauy R, Quan R, Gil A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. *J. Nutr.* 1994; 124 (8): 1436S–1441S.
16. van Buren, CT, Rudolph, FB. Dietary nucleotides: a conditional requirement. *Nutrition* 1997; 13(5): 470–472.
17. Velišek, J. *Chemie potravin 3*. Osis, Tábor, 2002.
18. Voet, D, Voetová, JG. *Biochemie*, Victoria Publishing, Praha, 1995.
19. Vrbová, T. *Víme co jíme?* EcoHouse, Praha, 2001.
20. WHO (document A51/5). *Wld Hlth Org.: Health 21 – health for all in the 21st century*, Geneva 1998.
21. Zollner, N. Purine and pyrimidine metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 1982; 41 (3): 329–342.