

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Význam dietárních nukleotidů ve výživě člověka**

**Bakalářská práce**

**Jana Mlejnková**

**Výživa a potraviny (B-NUTRIB)**

**Vedoucí práce: Ing. Monika Sabolová, Ph.D.**

**© 2022 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Význam dietárních nukleotidů ve výživě člověka“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí Ing. Monice Sabolové, Ph.D. za cenné rady, rychlou zpětnou vazbu, ochotu a pomoc při zpracování této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během celého studia.

# Význam dietárních nukleotidů ve výživě člověka

## Souhrn

Nukleotidy jsou nízkomolekulární sloučeniny důležité pro řadu biochemických a fyziologických procesů v živých organismech. Tvoří základní stavební složky nukleových kyselin, které hrají klíčovou roli při uchování a přenosu genetické informace, řídí syntézu bílkovin a významně se podílejí na procesu obnovy buněk a tkání.

Nukleotidy jsou tedy pro lidský organismus velice důležité a tělo si je dokáže syntetizovat. Syntéza *de novo* je velmi zdoluhavý a metabolicky i energeticky náročný proces. Jednodušší a energeticky výhodnější mechanismus pro tvorbu nukleotidů je šetřící dráha, kdy buňky využívají již existující purinové a pyrimidinové báze a nukleosidy, a vytvářejí z nich nukleotidy. Protože lze nukleotidy syntetizovat endogenně, nejsou považovány za esenciální živiny. Některé tkáně, například rychle rostoucí tkáně imunitního a gastrointestinálního systému, nejsou schopné zajistit dostatek nukleotidů prostřednictvím syntézy *de novo* a vyžadují exogenní dodání nukleotidů. Pro tyto tkáně jsou nukleotidy semiesenciální živiny.

V podobě DNA a RNA se nukleotidy vyskytují v jádrech buněk a v mitochondriích, a představují tak všudypřítomnou složku potravin rostlinného i živočišného původu. Potravin živočišného původu obsahují větší množství nukleotidů než potraviny pocházející z rostlin. Výjimku tvoří luštěniny, které obsahují relativně vysoké množství nukleotidů v semenech. Obzvláště bohatým zdrojem nukleotidů jsou vnitřnosti zvířat, ryby a mořské plody.

Pro novorozence a kojence je jediným zdrojem dietárních nukleotidů mateřské mléko. Nukleotidy pozitivně působí na růst a vývoj kojenců, podporují vývoj imunity, zlepšují střevní funkce a funkce imunitního systému a snižují riziko infekce a výskyt průjmu. Dietární nukleotidy mají tedy pro novorozence a kojence velký význam, a jsou proto přidávány do kojenecké výživy.

Kromě období růstu a vývoje by měl být zvýšený příjem nukleotidů zajištěn také při infekčním onemocnění a období rekonvalescence. Nedostatečný příjem nukleotidů může nepříznivě ovlivňovat imunitní systém a vést ke zvýšení náchylnosti k infekcím způsobených patogeny. Dietární nukleotidy podporují růst prospěšných bifidobakterií ve střevě a významně se podílejí na udržování optimální funkce gastrointestinálního traktu.

**Klíčová slova:** Imunita, mateřské mléko, postnatální období, regenerace, růst.

# The role of dietary nucleotides in human nutrition

## Summary

Nucleotides are low-molecular compounds important for a number of biochemical and physiological processes in living organisms. They form the basic building blocks of nucleic acids, which play a key role in the preservation and transfer of genetic information, control protein synthesis and play an important role in the process of rebuilding cells and tissues.

Therefore nucleotides are very important to the human body and can be synthesised by the body. *De novo* synthesis is a very lengthy and metabolically and energy-intensive process. A simpler and more energy-efficient mechanism for nucleotide formation is the salvage pathway, where cells use existing purine and pyrimidine bases and nucleosides to form nucleotides. Because nucleotides can be synthesised endogenously, they are not considered essential nutrients. Some tissues, such as rapidly growing tissues of the immune and gastrointestinal systems, are unable to provide enough nucleotides through *de novo* synthesis and require exogenous delivery of nucleotides. For these tissues, nucleotides are semiessential nutrients.

In the form of DNA and RNA, nucleotides are found in cell nuclei and mitochondria, and thus constitute a ubiquitous component of food of both plant and animal origin. Foods of animal origin contain more nucleotides than foods derived from plants. The exception is legumes, which contain relatively high amounts of nucleotides in seeds. Animal guts, fish and seafood are a particularly rich source of nucleotides.

The only source of dietary nucleotides for neonates and infants is breast milk. Nucleotides have a positive effect on the growth and development of infants, promote immune development, improve intestinal and immune system functions, and reduce the risk of infection and the occurrence of diarrhoea. Therefore, dietary nucleotides are of great importance to neonates and infants and are therefore added to infant formula.

In addition to the growth and development periods, increased intake of nucleotides should also be ensured in infectious diseases and the recovery period. Inadequate intake of nucleotides can adversely affect the immune system and lead to increased susceptibility to infections caused by pathogens. Dietary nucleotides promote the growth of beneficial bifidobacteriae in the intestine and play an important role in maintaining optimal gastrointestinal function.

**Keywords:** Immunity, breast milk, postnatal period, regeneration, growth.

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1 Biochemie nukleotidů .....</b>	<b>3</b>
3.1.1 Struktura nukleotidů .....	3
3.1.2 Metabolismus nukleotidů.....	8
<b>3.2 Funkce nukleotidů.....</b>	<b>12</b>
3.2.1 Biochemické funkce nukleotidů .....	12
3.2.2 Fyziologické a biologické funkce nukleotidů.....	16
<b>3.3 Potravinové zdroje nukleotidů .....</b>	<b>24</b>
<b>4 Závěr .....</b>	<b>29</b>
<b>5 Literatura.....</b>	<b>30</b>

# 1 Úvod

Příjem potravy je součástí života člověka. Výživa působí na růst a správný vývoj organismu, ovlivňuje jeho fyziologické funkce a má význam pro obnovu tkání. Strava má dodávat lidskému organismu adekvátní množství energie. Zdroje energie jsou vysokomolekulární látky (sacharidy, tuky a bílkoviny), které by měly být v potravě zastoupeny v odpovídajícím množství. Nezbytnou součástí výživy jsou také vitaminy a minerální a stopové prvky. Až v devadesátých letech 20. století upozornili odborníci také na nutriční význam nukleotidů, které jsou v podobě DNA a RNA obsaženy v potravinách rostlinného i živočišného původu. Tyto nukleotidy, které člověk přijímá z potravin, označujeme jako tzv. dietární nukleotidy.

Nukleotidy jsou látky tvořené monosacharidem, dusíkatou bází a fosfátovým zbytkem. Monosacharidy, které se podílejí na stavbě nukleotidů, jsou D-ribosa a 2-deoxy-D-ribosa. Dusíkaté báze vyskytující se v nukleotidech jsou heterocyklické sloučeniny odvozené od purinu nebo od pyrimidinu. Mezi purinové báze řadíme adenin a guanin, mezi pyrimidinové cytosin, thymin a uracil. Pokud se některá z purinových nebo pyrimidinových bází váže s D-ribosou nebo 2-deoxy-D-ribosou, vzniká nukleosid. Všechny nukleosidy mohou na svou hydroxylovou skupinu, nejčastěji na 5' uhlíku sacharidu, vázat jednu, dvě nebo tři fosfátové skupiny. Pokud je na sacharid navázaná pouze jedna fosfátová skupina, vzniká nukleosid-monofosfát. Další fosfátové skupiny se váží na vzniklý mononukleotid a tvoří se nukleosid-difosfát a -trifosfát. Všechny tyto nukleosidfosfáty lze souhrnně označit pojmem nukleotidy.

Ještě v osmdesátých letech 20. století odborníci nepovažovali dietární nukleotidy za významnou nutriční složku, protože v metabolismu dusíku mají zanedbatelnou úlohu. Tento názor se o deset let později radikálně změnil, když byly objeveny důkazy o důležitosti dietárních nukleotidů v organismu. Zjistilo se, že organismus dokáže nukleotidy z potravy využívat přímo a nemusí je vytvářet *de novo* s velkým využitím energie.

První část této práce je zaměřena na biochemii nukleotidů. Zabývá se jejich strukturou, popisuje vznik nukleových kyselin a přibližuje metabolismus nukleotidů. Další část přináší poznatky o biochemických, fyziologických a biologických funkcích nukleotidů. V závěrečné části jsou zmíněné potravinové zdroje nukleotidů.

## **2 Cíl práce**

Hypotéza: Dietární nukleotidy mají nezastupitelnou roli ve výživě člověka a zásadní vliv mají zejména ve výživě novorozenců a kojenců.

Cíl práce: Cílem bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše zaměřené na dietární nukleotidy, jejich strukturu a funkce, výskyt v potravinách a jejich význam ve výživě člověka.



## 3 Literární rešerše

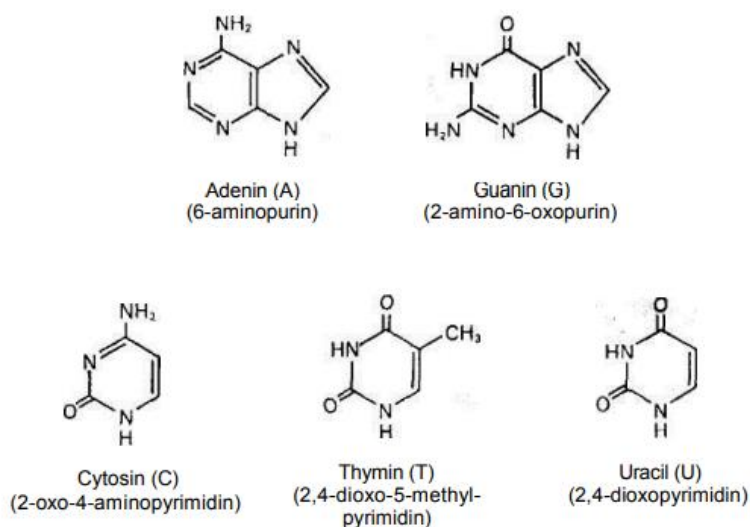
### 3.1 Biochemie nukleotidů

Nukleotidy jsou nízkomolekulární sloučeniny, které jsou nedílnou součástí řady biochemických procesů nezbytných pro buněčný metabolismus (Cosgrove 1998). Tvoří základní stavební složky nukleových kyselin. Deoxyribonukleová kyselina (DNA) a ribonukleová kyselina (RNA) jsou nositeli dědičnosti, řídí syntézu bílkovin a významně se podílejí na procesu obnovy buněk a tkání včetně imunitních reakcí (Turek et al. 2016).

#### 3.1.1 Struktura nukleotidů

Nukleotidy jsou složeny z pětiuhlíkatého monosacharidu, nukleové báze a z jedné nebo více fosfátových skupin (Cosgrove 1998). Monosacharidy, které se podílejí na stavbě nukleotidů a nukleových kyselin, jsou D-ribose a 2-deoxy-D-ribose. Deoxyribose nemá na 2. uhlíku hydroxylovou skupinu. Oba monosacharidy jsou v nukleotidech vázány v cyklické formě s pětičlenným kruhem, tedy ve formě furanosy (Dostál et al. 2011).

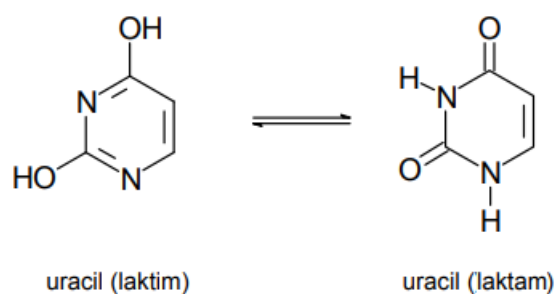
Nukleové báze jsou z chemického hlediska deriváty dvou dusíkatých heterocyklických sloučenin, pyrimidinu a purinu. Obě sloučeniny mají slabě zásaditý charakter (Kodíček et al. 2018). Mezi pyrimidinové báze řadíme cytosin (2-hydroxy-4-aminopyrimidin), uracil (2,4-dihydroxypyrimidin) a thymin (2,4-dihydroxy-5-methylpyrimidin). Purin je kondenzovaný systém pyrimidinu a imidazolu (Dostál et al. 2011). Číslování atomů v heterocyklu je specifické. Směr číslování šestičlenného kruhu purinu jde proti směru pohybu hodinových ručiček, tedy opačně, než je tomu v pyrimidinovém kruhu (Murray et al. 2002). Deriváty purinu jsou báze adenin (6-aminopurin) a guanin (2-amino-6-hydroxypurin) (Dostál et al. 2011). Dalšími přirozeně se vyskytující puriny jsou xantin, hypoxantin a kyselina močová (Hess & Greenberg 2012). Grafické znázornění hlavních purinových a pyrimidinových bází je na Obrázku 1.



**Obrázek 1:** Purinové (nahore) a pyrimidinové (dole) báze (Murray et al. 2002)

Purinové i pyrimidinové báze jsou planární molekuly. Je to dáno přítomností konjugovaných dvojných vazeb. Díky tomuto systému vazeb všechny báze absorbují záření v UV-oblasti, a tím v této oblasti absorbují i všechny nukleové kyseliny. Toho se často využívá pro stanovení nukleových kyselin (Kodíček et al. 2018). To, že jsou puriny a pyrimidiny rovinné molekuly, má velký význam i pro těsné naskládání bází ve dvouřetězcové šroubovici DNA (Murray et al. 2002).

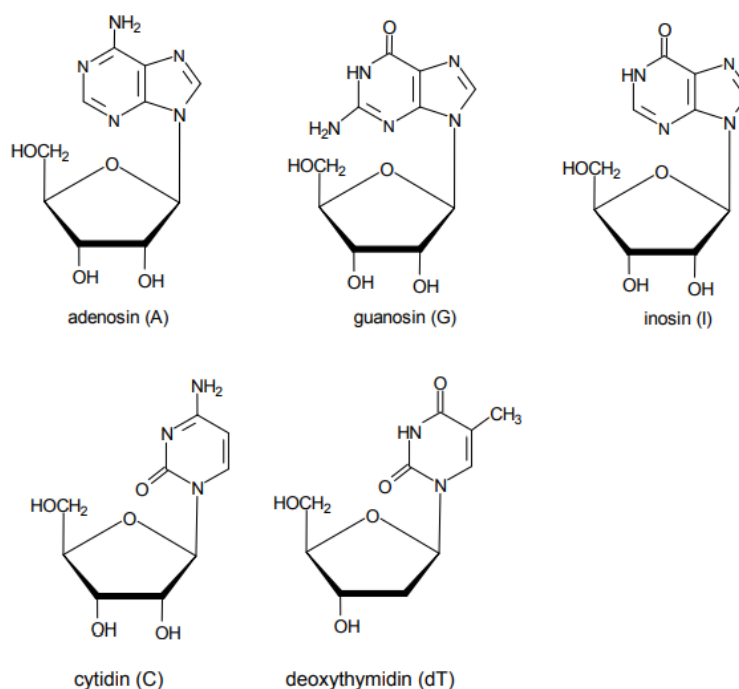
Všechny báze se vyskytují ve dvou tautomerních formách. Ketoskupina guaninu, thyminu a uracilu se přesunem protonu mění na hydroxylovou skupinu. Jedná se o tautomerii keto-enol spojenou s přesunem dvojně vazby. Aminoskupiny adeninu a cytosinu vytvářejí dvojice amino/imino tautomeru (Murray et al. 2002; Kodíček et al. 2018). V buňkách s hodnotou pH přibližně 7,0 se vyskytuje hydroxylová skupina převážně v laktamové (tzn. oxo) formě, aminoskupiny guaninu a cytosinu zůstávají ve formě laktimové. Laktam-laktimová tautomerie je druh tautomerie, který existuje u dusíkatých heterocyklů. Laktimová forma obsahuje enolový hydroxyl, zatímco laktamová forma obsahuje keto skupinu a je stabilnější (Dostál et al. 2011). Příklad laktam-laktimové tautomerie je uveden na Obrázku 2.



**Obrázek 2:** Laktam-laktimová tautomerie (Dostál et al. 2011)

### 3.1.1.1 Nukleosidy

Jestliže se ribosa nebo deoxyribosa naváže N-glykosidovou vazbou k dusíku nukleové báze pyrimidinu nebo purinu, vznikne nukleosid (viz Obrázek 3). Tato glykosidová vazba je vždy mezi atomem C1 ribosy nebo deoxyribosy a dusíkem N9 purinových bází nebo dusíkem N1 pyrimidinových bází (Murray et al. 2002; Kodíček et al. 2018). Čísla atomů v monosacharidové části molekuly jsou označena čárkou, aby došlo k jejich odlišení od uhlíkatých atomů nukleových bází (Kodíček et al. 2018). N-glykosidová vazba v nukleosidech formálně vzniká odštěpením vody (Dostál et al. 2011). Monosacharidy, které se účastní vazby, jsou ve formě  $\beta$  anomeru ( $\beta$ -D-ribofuranosa nebo 2-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosa). Vzniklá N-glykosidová vazba má tedy konfiguraci  $\beta$  (Dostál et al. 2011; Kodíček et al. 2018).



**Obrázek 3:** Struktura nukleosidů (Dostál et al. 2011)

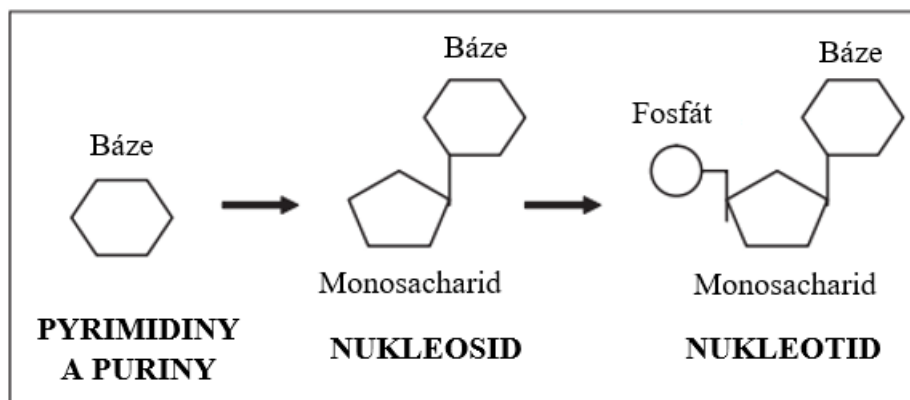
Nukleosidy mají triviální názvy, které vznikly odvozením od názvů dusíkatých bází. Purinové nukleosidy mají koncovku „-osin“ (adenosin, odvozen od adeninu; guanosin), pyrimidinové nukleosidy koncovku „-idin“ (uridin, odvozen od uracilu; cytidin) (Dostál et al. 2011). Obdobně se tvoří názvy deoxynukleosidů (deoxyadenosin). Nukleosid s názvem 2'-deoxythymidin se většinou nesystémově označuje jako thymidin (Kodíček et al. 2018).

Nukleosidy i nukleotidy jsou vysoce polární sloučeniny. Každá z fosfátových skupin nukleotidů má dvě ionizovatelné hydroxylové skupiny (Domínguez-Álvarez et al. 2017). Fosfátová skupina dodává nukleotidům kyselý charakter (Dostál et al. 2011).

### 3.1.1.2 Nukleotidy

Pokud je některá z volných hydroxylových skupin ribosy nebo deoxyribosy nukleosidu fosforylována, vznikají nukleotidy (viz Obrázek 4). Samotné nukleosidy mohou být zpravidla v poloze C5' fosforylovány jednou, dvěma nebo třemi fosfátovými skupinami. Tyto skupiny jsou mezi sebou vázány anhydridovými vazbami (Kodíček et al. 2018). Nukleotidy jsou tedy fosforečné estery nukleosidů a mohou se vyskytovat v mono-, di- nebo trifosfátových formách (Carver & Walker 1995). V případě nukleových kyselin jsou jednotlivé nukleotidy vždy propojeny fosfodiesterovou vazbou mezi uhlíky C5' a C3' ribosy nebo deoxyribosy (Kodíček et al. 2018). Pokud se na hydroxylovou skupinu monosacharidu estericky váže jedna fosfátová skupina, vzniká mononukleotid (Murray et al. 2002). Obecný název nukleotidu je nukleosid-fosfát, v případě mononukleotidu se tedy jedná o nukleosid-monofosfát. Na fosfát nukleosid-monofosfátu se anhydridovou vazbou může navázat další jedna nebo dvě fosfátové skupiny. Vznikají tak nukleosid-difosfáty nebo nukleosid-trifosfáty (Dostál et al. 2011). Jedná se o estery kyseliny difosforečné a trifosforečné (Kodíček et al. 2018). K vytvoření těchto anhydridových vazeb je potřeba velké množství Gibbsovy energie, která se získává oxidací živin. Navázáním

anorganického fosfátu na adenosin-difosfát (ADP) vzniká adenosin-trifosfát (ATP). Tomuto procesu se říká aerobní fosforylace (Dostál et al. 2011). ATP je univerzální intracelulární přenašeč chemické energie. Jedná se o makroergickou (energeticky bohatou) sloučeninu, která může jednoduchou reakcí přejít na produkt s mnohem nižší energií. Při této reakci se uvolní velké množství energie, která se využije pro nějaký endergonický proces (Kodíček et al. 2018).



**Obrázek 4:** Zjednodušená struktura nukleotidů (upraveno podle: Hess & Greenberg 2012)

Názvosloví nukleotidů se tvoří z názvu nukleosidů následovně: nukleosid- $x'$ -monofosfát, -difosfát nebo -trifosfát. Písmeno  $x'$  v názvu označuje atom uhlíku, na kterém je vázaná fosfátová skupina. Například adenosin-5'-monofosfát (AMP) je nukleotid vzniklý připojením fosfátové skupiny na nukleosid adenosin. Analogicky se tvoří názvy deoxynukleotidů, např. deoxyadenosin-5'-difosfát (dADP) (Kodíček et al. 2018). Hydroxylová skupina na uhlíku C5' je esterifikována nejčastěji, proto se podle dohody „5'-“ při popisu takto esterifikovaných nukleotidů vynechává (Murray et al. 2002). Názvy základních bází, nukleosidů a nukleotidů jsou přehledně uvedeny v Tabulce 1.

**Tabulka 1:** Názvy bází, nukleosidů a nukleotidů (upraveno podle: Murray et al. 2002)

<b>Báze</b>	<b>Ribonukleosid</b>	<b>Ribonukleotid (ribonukleosid-5'-monofosfát)</b>
Adenin (A)	Adenosin	Adenosinmonofosfát (AMP)
Guanin (G)	Guanosin	Guanosinmonofosfát (GMP)
Cytosin (C)	Cytidin	Cytidin-5'-monofosfát (CMP)
Uracil (U)	Uridin	Uridin-5'-monofosfát (UMP)
<b>Báze</b>	<b>Deoxyribonukleosid</b>	<b>Deoxyribonukleotid (deoxyribonukleosid-5'-monofosfát)</b>
Adenin (A)	Deoxyadenosin	Deoxyadenosin-5'-monofosfát (dAMP)
Guanin (G)	Deoxyguanosin	Deoxyguanosin-5'-monofosfát (dGMP)
Cytosin (C)	Deoxycytidin	Deoxycytidin-5'-monofosfát (dCMP)
Thymin (T)	Thymidin	Thymidin-5'-monofosfát (TMP)

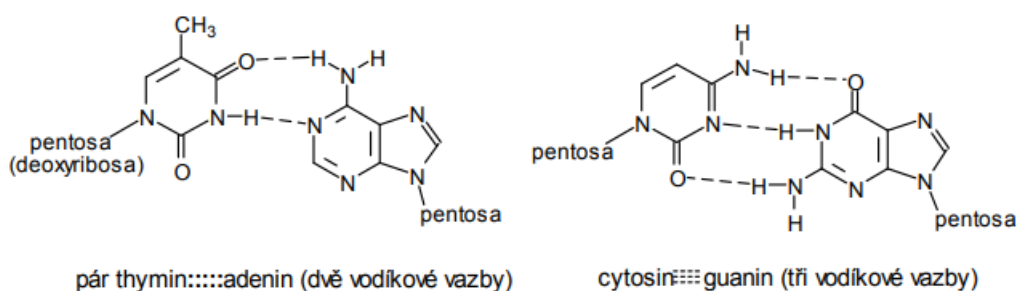
### 3.1.1.3 Polynukleotidy a nukleové kyseliny

Dva nukleotidy se mohou spojit pomocí dvou fosfátových zbytků. Vznikne tak dinukleotid s fosfoanhydridovou strukturou. Mezi tyto dinukleotidy patří například koenzymy CoA (Koenzym A) a NADP<sup>+</sup> (Nikotinamidadenindinukleotidfosfát), které se

uplatňují v řadě enzymatických reakcí (Koolman & Röhm 2012). Dalším způsobem, jak se mohou spojit dva nukleotidy, je reakce fosfátové skupiny na uhlíku C5' pentosy jednoho nukleotidu s hydroxylovou skupinou na 3' uhlíku pentosy druhého nukleotidu (Kodíček et al. 2018). Tak vzniká dinukleotid s fosfodiesterovou strukturou, který má na svém 5'-konci volný fosfátový zbytek a na 3'-konci volnou hydroxylovou skupinu. Dinukleotidy se mohou dále prodlužovat připojováním dalších mononukleotidů 3',5'-fosfodiesterovými vazbami a vznikají tak oligonukleotidy. Spojením velkého množství nukleotidů se tvoří polynukleotidy (Koolman & Röhm 2012).

Nukleové kyseliny jsou polynukleotidy složené z několika desítek až milionů nukleotidů spojených 3',5'-fosfodiesterovými vazbami (Dostál et al. 2011). Řetězce všech nukleových kyselin jsou tak složeny z pravidelně se střídající fosfátové skupiny a monosacharidové jednotky. Tímto uspořádáním se tvoří pentosa-fosfátová páteř zvaná též cukr-fosfátová kostra (Kodíček et al. 2018). Každý polynukleotidový řetězec má 5'-konec a 3'-konec. Pořadí nukleotidů v polynukleotidovém řetězci (primární struktura) se čte vždy ve směru od 5'-konce k 3'-konci (Dostál et al. 2011; Kodíček et al. 2018). V neutrálním prostředí jsou fosfátové skupiny plně disociovány a nesou tedy záporný náboj (Kodíček et al. 2018).

Polynukleotidy tvořené z ribonukleotidů se nazývají ribonukleové kyseliny (RNA). Deoxyribonukleotidy vytváří deoxyribonukleové kyseliny (DNA) (Koolman & Röhm 2012). DNA jsou tedy extrémně dlouhé polynukleotidy, které obsahují 2-deoxy-β-D-ribosu, zbytek kyseliny fosforečné, purinové báze adenin a guanin a pyrimidinové báze cytosin a thymin. Polovinu všech bází DNA tvoří puriny, druhou polovinu pak pyrimidiny. Obsah adeninu je stejný jako obsah thyminu a obsah guaninu se rovná obsahu cytosinu. Tento fakt se označuje jako Chargaffovo pravidlo. DNA tvoří dvoušroubovici, adenin se pomocí dvou vodíkových můstků páruje s thyminem, mezi párem guanin a cytosin jsou tři vodíkové můstky (viz Obrázek 5). Tato komplementarita bází je základem biologické funkce nukleových kyselin (Kodíček et al. 2018). Řetězce polynukleotidů jsou ve dvoušroubovici uspořádány antiparalelně, tzn. jeden řetězec má směr 5'→3', druhý 3'→5' (Dostál et al. 2011). Strukturu RNA místo deoxyribosy tvoří ribosa a pyrimidinová báze thymin je nahrazena uracilem. Na rozdíl od dvouvláknové DNA je RNA tvořena pouze jedním řetězcem. Přesto v určitých částech může docházet k párování bází (Kodíček et al. 2018).



**Obrázek 5:** Párování bází (Dostál et al. 2011)

### 3.1.2 Metabolismus nukleotidů

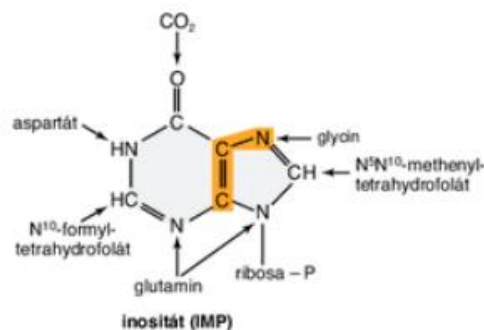
Nukleotidy i nukleové kyseliny se neustále tvoří a odbourávají (Cosgrove 1998). Enzym RNasa (ribonukleasa) štěpí fosfodiesterové vazby RNA. Úplným rozštěpením RNA vznikají nukleotidy a nukleosidy. Podobně působí i DNasa (deoxiribonukleasa), která se účastní hydrolýzy DNA. Z nukleových kyselin tedy hydrolýzou vznikají nukleotidy, ze kterých se pomocí nukleotidas odštěpuje fosfátová skupina, a vznikají tak nukleosidy (Kodíček et al. 2018). Nukleosidy jsou v organismu buď resorbovány nebo dále degradovány na purinové a pyrimidinové báze (Dostál et al. 2011). Ribonukleotidy se v buňkách vyskytují v milimolární koncentraci ( $10^{-3}$  mol/l) a jejich obsah zůstává relativně konstantní, zatímco deoxyribonukleotidy se vyskytují v mikromolární koncentraci ( $10^{-6}$  mol/l) a jejich obsah během buněčného cyklu velmi kolísá (Carver & Walker 1995).

Nukleotidy mohou být získány biosyntézou *de novo*, šetřící dráhou (salvage pathway) nebo z exogenních zdrojů, tedy příjmem potravy (Hess & Greenberg 2012). Při syntéze *de novo* jsou prekurzory pro tvorbu nukleotidů aminokyseliny glutamin, glycin, kyselina asparagová a oxid uhličitý (Cosgrove 1998). Syntéza *de novo* je velmi zdlouhavý a metabolicky náročný proces, který vyžaduje velké množství energie v podobě ATP. Alternativní mechanismus pro tvorbu nukleotidů je šetřící dráha. Při tomto procesu buňky využívají již existující purinové a pyrimidinové báze a nukleosidy, a vytvářejí z nich nukleotidy (Carver & Walker 1995, Hess & Greenberg 2012). Podíl pyrimidinových bází, které se znovu použijí pro tvorbu nukleotidů, je výrazně menší než podíl purinových bází adeninu a guaninu (Koolman & Röhm 2012). Šetřící dráha je tedy jednodušší a energeticky výhodnější proces, který využívají především buňky, které nemohou provádět syntézu *de novo*, nebo je tato syntéza nedostatečná (Hess & Greenberg 2012). Například eryocyty nemohou syntetizovat nukleotidy *de novo* a jejich syntéza závisí na šetřící dráze (Cosgrove 1998). Některé tkáně nejsou schopné uspokojit požadavky na tvorbu nukleotidů prostřednictvím syntézy *de novo* a vyžadují exogenní dodání bází a nukleosidů, které využijí v šetřící dráze. Jedná se například o rychle rostoucí tkáň imunitního a gastrointestinálního systému (Cosgrove 1998; Hess & Greenberg 2012). Buňky v těchto tkáních přednostně využívají šetřící dráhy a exogenní příjem nukleotidů může mít důležitý vliv na jejich správnou funkci. Pro rychle rostoucí tkáň jsou tedy nukleotidy semiesenciální živiny. Živiny mohou být považovány za semiesenciální, pokud je jejich endogenní syntéza nedostatečná, ale jejich nedostatek nevede ke klasickému projevu deficitu (Cosgrove 1998). Hess & Greenberg (2012) uvádějí, že exogenní zdroje se mohou stát nezbytnými při hypermetabolickém stavu, který může být vyvolán buněčným stresem nebo rychlým růstem.

#### 3.1.2.1 Purinový metabolismus

Purinový skelet je v buňkách syntetizován z glycinu, asparátu, glutaminu, derivátů tetrahydrofolátu a oxidu uhličitého (Carver & Walker 1995). Kromě glycinu jsou atomy ke vznikající struktuře připojovány po jednom (Kodíček et al. 2018). Všechny enzymy, které se účastní syntézy a degradace purinových nukleotidů, se vyskytují v cytosolu buněk (Carver & Walker 1995).

Prvním krokem v syntéze purinových nukleotidů je tvorba 5-fosforibosyl-1-difosfátu (zkráceně PRPP). PRPP vzniká přenosem difosfátu z ATP na uhlík C1 D-ribosa-5-fosfátu (Carver & Walker 1995; Murray et al. 2002). V dalším kroku se na PRPP za odštěpení difosfátu přenesou dusíkový atom z glutaminu. Při této reakci se změnila konfigurace na uhlíku C1 ribosy. Následně se připojí glycin a imidazolový kruh se uzavře uhlíkem pocházejícím z tetrahydrofolátu (aktivní forma vitamínu B<sub>9</sub>). V poslední fázi se postupně přidávají jednotlivé atomy budující pyrimidinový kruh: uhlík z oxidu uhličitého, dusík z asparátu, uhlík z tetrahydrofolátu a dusík z glutaminu (Kodíček et al. 2018). Tím se purinový kruh uzavře a vzniká inosinmonofosfát (IMP) (viz Obrázek 6), který slouží jako prekurzor pro AMP a GMP (Carver & Walker 1995). Nukleosidmonofosfáty AMP a GMP se fosforylují na nukleosiddifosfáty ADP a guanosindifosfát (GDP) a poté na trifosfáty ATP a guanosintrifosfát (GTP). Tyto reakce jsou katalyzovány nukleosiddifosfátkinasami a nukleosiddifosfátkinasami (Koolman & Röhm 2012).



**Obrázek 6:** Inosinmonofosfát (IMP) (Kodíček et al. 2018)

Purinové nukleotidy, nukleosidy a báze degradují na močovou kyselinu, která se z lidského organismu vylučuje močí (Carver & Walker 1995). Při jejím nadbytku může dojít k bolestivému kloubnímu onemocnění zvanému dna (Kodíček et al. 2018).

Purinový nukleotid GMP se nejprve hydrolytickou defosforylací rozkládá na nukleosid guanosin (Koolman & Röhm 2012). Při odbourávání purinových nukleosidů dochází ke štěpení N-glykosidové vazby, kdy se ribosylový zbytek přesune na anorganický fosfát a dojde k uvolnění báze. Z guanosinu se uvolní ribosa-1-fosfát a báze guanin. Guanin se deaminací přeměňuje na xantin, který je xanthinoxidoreduktasou oxidován na močovou kyselinu. AMP se odštěpením fosfátové skupiny přemění na adenosin, který je následně deaminován na inosin. Z inosinu se uvolní ribosa-1-fosfát a vznikne hypoxantin, který je xanthinoxidoreduktasou oxidován na xantin a následně na močovou kyselinu (Murray et al. 2002; Kodíček et al. 2018). Proces odbourávání purinových nukleosidů je znázorněn na Obrázku 7.

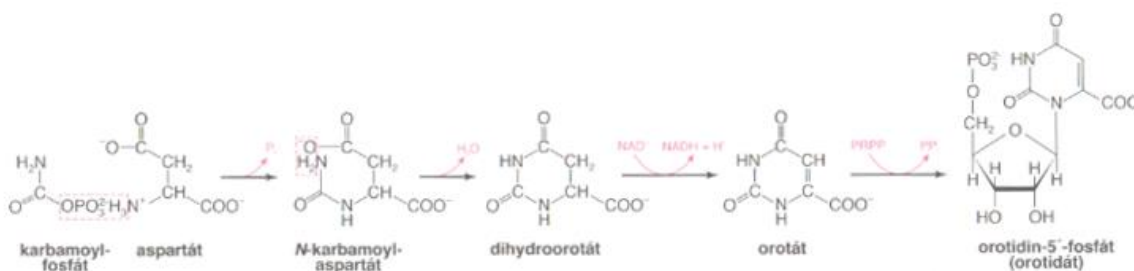


**Obrázek 7:** Odbourávání purinových nukleosidů (Kodíček et al. 2018)

### 3.1.2.2 Pyrimidinový metabolismus

Pyrimidinový skelet je v buňkách syntetizován *de novo* z asparátu, glutaminu a oxidu uhličitého. Při syntéze purinů je ribosafosfát jedním z prvních reaktantů, při syntéze pyrimidinů se nejprve vytvoří pyrimidinový kruh a až později se připojuje ribosafosfát (Carver & Walker 1995; Murray et al. 2002). Jeden z enzymů, které se účastní syntézy pyrimidinů se nachází v mitochondriích, zbytek je v cytosolu buňky (Carver & Walker 1995).

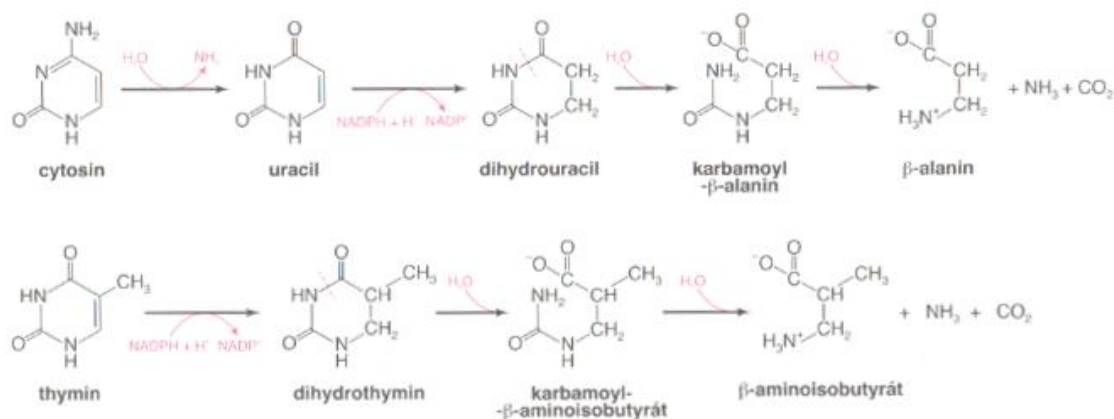
Biosyntetická dráha pyrimidinů začíná tím, že se z glutaminu a oxidu uhličitého za spotřeby ATP vytvoří karbamoylfosfát. Spojením karbamoylfosfátu s aspartátem vznikne karbamoylaspartát. Následným odštěpením vody se vytvoří dihydroorotát. Pomocí nikotinamidadeninukleotidu ( $\text{NAD}^+$ ) dojde k odštěpení vodíkových atomů z C5 a C6, vznikne dvojná vazba a metabolit se změní na orotát. Tato reakce je katalyzována dihydroorotátdehydrogenasou, jediným mitochondriálním enzymem, který se účastní biosyntézy. Až v této fázi do reakce vstupuje PRPP a vzniká orotidin-5'-fosfát (orotidinmonofosfát, OMP) (Murray et al. 2002; Kodíček et al. 2018). Dekarboxylací orotidinmonofosfátu vznikne uridinmonofosfát (UMP), ze kterého se přenosem fosfátu z ATP vytvoří uridindifosfát a trifosfát (UDP a UTP). Aminací UTP glutaminem vzniká cytidintrifosfát (CTP) (Murray et al. 2002). Deoxythymidintrifosfát (dTTP), stavební složka DNA, vzniká během několika kroků z UDP (Koolman & Röhm 2012). Biosyntéza OMP je znázorněna na Obrázku 8.



**Obrázek 8:** Biosyntéza základní kostry pyrimidinových nukleotidů



Při degradaci pyrimidinových nukleotidů nejprve dochází k jejich přeměně na nukleosidy a poté na volné báze uracil nebo thymin. Cytidin je deaminací přeměněn na uridin, ze kterého se uvolňuje báze uracil (Carver & Walker 1995). Uracil a thymin se odbourávají podobným způsobem: poměrně složitou cestou se za účasti NADPH-dependentích reduktas a hydrolas pyrimidinový kruh redukuje a hydrolyticky štěpí. Následným odštěpením amoniaku a oxidu uhličitého vzniká produkt odbourávání uracilu – neproteinogenní aminokyselina  $\beta$ -alanin, zatímco koncovým produktem odbourávání thyminu je  $\beta$ -aminoisobutyrát (viz Obrázek 9) (Kodíček et al. 2018).



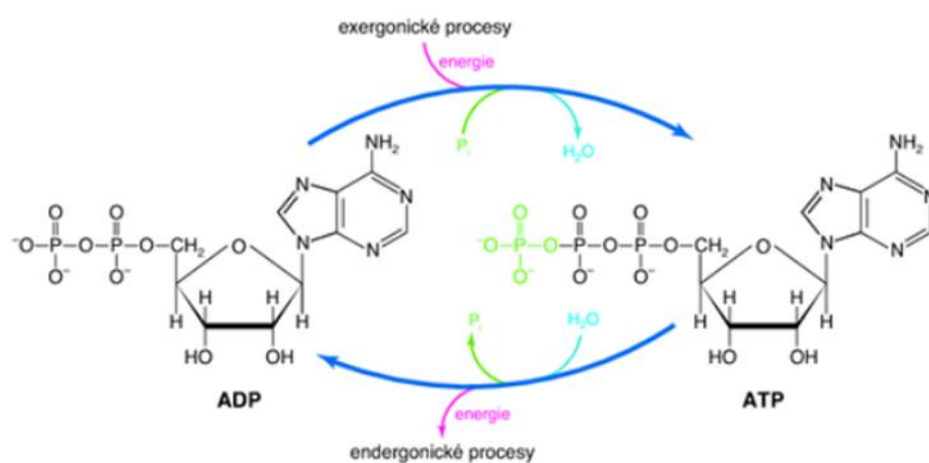
**Obrázek 9:** Odbourávání pyrimidinových nukleotidů (Kodíček et al. 2018)

## 3.2 Funkce nukleotidů

### 3.2.1 Biochemické funkce nukleotidů

Nukleotidy mají v organismu řadu významných funkcí. Nukleosidtrifosfáty (NTP) nebo deoxynukleosidtrifosfáty (dNTP) slouží jako substráty (prekurzory) biosyntézy nukleových kyselin (RNA a DNA). Během polymeračních reakcí se odštěpuje difosfátový zbytek. Monomerní jednotky nukleových kyselin tedy tvoří nukleotidy ve formě nukleosidmonofosfátů (NMP) nebo deoxynukleosidmonofosfátů (dNMP) (Kodíček et al. 2018). DNA a RNA hrají klíčovou roli při uchování a přenosu genetické informace, buněčném dělení a syntéze bílkovin (Hess & Greenberg 2012). Kromě toho se nukleotidy (především ATP a GTP) uplatňují v energetickém metabolismu, kde slouží jako rezervoáry energie, která může být využita během energeticky náročných procesů, jako jsou například různé syntetické reakce (Kodíček et al. 2018). ATP slouží jako hlavní biologický přenašeč volné energie (Murray et al. 2002).

Nukleotidy fungují také jako fosforylační činidla – jsou donory fosfátových skupin (Kodíček et al. 2018). ATP a ADP jsou hlavním donorem a akceptorem fosfátové skupiny. Usnadňují přenos chemické energie z katabolických reakcí poskytujících energii pro energeticky náročné biosyntézy (Hess & Greenberg 2012). Energií získanou nějakým exergonickým procesem je tedy možné ukládat do endergonické syntézy ATP (Kodíček et al. 2018). Cyklus přeměny ATP-ADP je přehledně znázorněn na Obrázku 10.



**Obrázek 10:** Cyklus ATP-ADP (Kodíček et al. 2018)

Přenos fosfátové skupiny se uplatňuje například při glykolýze, což je nejvýznamnější katabolický proces, do kterého vstupují monosacharidy. Hned při úvodní „aktivační“ reakci je glukosa aktivována fosforylací za katalýzy enzymem hexokinasou. Donorem fosfátového zbytku je ATP (Kodíček et al. 2018):



Příkladem vzniku ATP je opět jedna z reakcí glykolýzy, kdy se fosfátová skupina za účasti fosfoglycerátkinasy přenáší z energeticky bohatého substrátu na ADP (Kodíček et al. 2018):

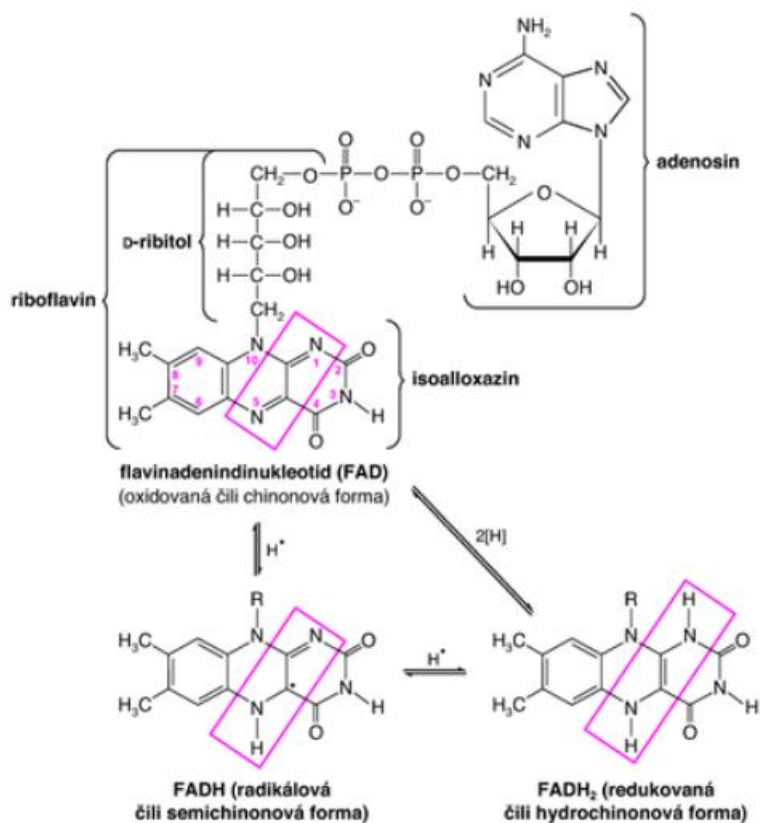


Nukleotidy se vážou také na některé biosyntetické meziproducty a slouží jako jejich aktivátory před tím, než vstoupí do syntetických metabolických procesů (Kodíček et al. 2018). Příkladem jsou uridin-5'-difosfoglukosa (UDP-glukosa) a UDP-galaktosa, které se podílejí na biosyntéze zásobního živočišného polysacharidu glykogenu, dále pak glykoproteinů a proteoglykanů (Hess & Greenberg 2012). Cytidin-5'-difosfocholin (CDP-cholin) se účastní biosyntézy fosfolipidů, které jsou důležitými složkami biologických membrán (Kodíček et al. 2018).

Cyklické formy nukleotidů mají důležitou regulační úlohu v signálních drahách (Kodíček et al. 2018). Cyklické nukleotidy jsou zvláštní skupinou nukleosid-monofosfátů, kde je fosfát vázán diesterově mezi 3'-OH a 5'-OH skupiny ribosy (Dostál et al. 2011). Cyklický adenosin-3',5'-monofosfát (cAMP) a cyklický guanosin-3',5'-monofosfát (cGMP) zastávají důležitou úlohu druhého posla v řadě signálních drah, kde působí jako regulátory aktivity enzymů (Hess & Greenberg 2012; Kodíček et al. 2018). cGMP se uplatňuje při přeměně světelného signálu na nervový vzruch, podílí se na zpracování hormonálního signálu a při regulaci napětí hladkého svalstva (Kodíček et al. 2018). Mono- a trifosfátové formy adenosinu, CTP a GTP se podílí na alosterické regulaci enzymů (Hess & Greenberg 2012).

Některé nukleotidy jsou součástí struktury kofaktorů, jako jsou například kofaktory oxidoreduktas (koenzymy NAD<sup>+</sup> a NADP<sup>+</sup>, prostetické skupiny FAD (flavinadeninidnukleotid) a FMN (flavinmononukleotid)) nebo koenzym A. Enzymy jsou až na nepatrné výjimky bílkoviny. Některé enzymy jsou tvořeny pouze polypeptidy, některé potřebují pro své katalytické působení i nepeptidovou strukturu. Tato nebílkovinná struktura se nazývá kofaktor. Kofaktor může být na enzym vázán trvale, pak se jedná o složené enzymy, nebo se na enzym váže pouze přechodně v průběhu reakce. V případě složených enzymů se jejich peptidová struktura nazývá apoenzym a pro kofaktor se používá termín prostetická skupina. Do skupiny kofaktorů, které nejsou trvale vázány na enzym, patří především koenzymy (Kodíček et al. 2018).

FAD je prostetickou skupinou enzymů, které přenášejí atomy vodíku z jednoho substrátu na druhý. Základ tvoří adeninmononukleotid, ke kterému je přes další fosfát připojen ribitol – cukerný alkohol odvozený od ribosy, a následně isoalloxazinový heterocyklus (viz Obrázek 11). Lidský organismus nedokáže isoalloxazinový systém syntetizovat, a je tedy potřeba ho získávat z potravy, kde se vyskytuje v podobě vitamínu B<sub>2</sub> – riboflavinu (Kodíček et al. 2018). Zdrojem riboflavinu v potravě je mléko a mléčné výrobky, vejce, maso a různé rostlinné potraviny. Dospělý člověk by měl přijímat asi 2 mg vitamínu B<sub>2</sub> denně (Dostál et al. 2011). Riboflavin přijímaný potravou je hydrolyzován na volný riboflavin a následně vstřebáván v proximální části tenkého střeva. Volný riboflavin transportovaný do enterocytů je fosforylován za vzniku FMN a následně přeměněn na FAD (EFSA 2017).



**Obrázek 11:** Flavinadenin dinucleotid a jeho redukce

Vědecký panel pro dietetické výrobky, výživu a alergie (NDA) organizace EFSA uvádí, že průměrná potřeba riboflavinu je u dospělých 1,3 mg/den. Tento údaj byl použit k výpočtu referenčního příjmu riboflavinu, který byl u dospělých stanoven na 1,6 mg/den. Pro kojence ve věku 7–11 měsíců je adekvátní příjem 0,4 mg/den. U dětí obou pohlaví ve věku 1–17 let se referenční příjem riboflavinu pohybuje mezi 0,6 a 1,6 mg/den. U těhotných a kojících žen jsou z důvodu vychytávání plodem a zvyšování hladiny riboflavinu v placentě během těhotenství, a ztrát mateřským mlékem během období laktace zvýšené požadavky na riboflavin. Referenční příjem je stanoven na 1,9 mg/den u těhotných a 2,0 mg/den u kojících žen (EFSA 2017).

Riboflavin je nedílnou součástí koenzymů FAD a FMN, které působí jako kofaktory různých flavoproteinových enzymů. Riboflavin se podílí na metabolismu niacinu a vitamínu B<sub>6</sub>. FAD je vyžadován ve folátovém cyklu, a tím se účastní metabolismu homocysteinu (EFSA 2017). FAD se může vyskytovat i v radikálové (FADH) a redukované (FADH<sub>2</sub>) formě. Struktura, která neobsahuje adenosinovou složku a tvoří ji jen isoalloxazinový heterocyklus, ribitol a fosfát, se nazývá FMN (Kodíček et al. 2018).

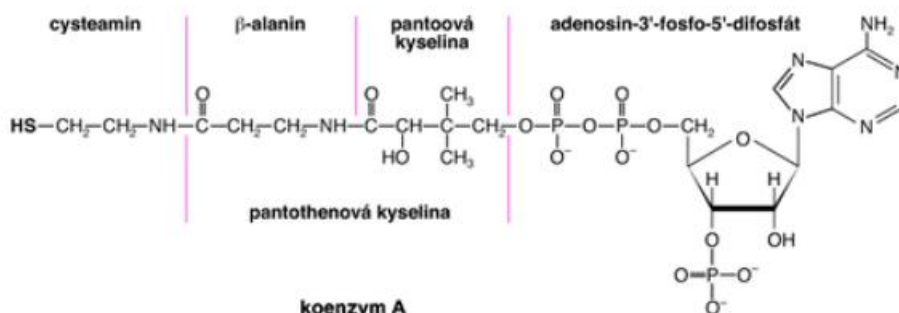
NAD<sup>+</sup> je tvořen dvěma nukleotidy. Adenosin-fosfát je spojen anhydridovou vazbou s fosfátem druhého nukleotidu, který obsahuje amid nikotinové kyseliny (Dostál et al. 2011). NAD<sup>+</sup> je mimořádně významná molekula, která se uplatňuje v katabolických procesech, jako jsou glykolýza, citrátový cyklus nebo  $\beta$ -oxidace mastných kyselin. NAD<sup>+</sup> přenáší vodíkové atomy uvolněné během dehydrogenací různých substrátů do dýchacího řetězce. Struktura, kde

je hydroxyskupina na uhlíku C2' ribosy adeninového nukleotidu NAD<sup>+</sup> fosforylována, se označuje NADP<sup>+</sup> (Kodíček et al. 2018). NADP<sup>+</sup> tedy oproti NAD<sup>+</sup> obsahuje jednu fosfátovou skupinu navíc (Dostál et al. 2011). NAD<sup>+</sup> a NADP<sup>+</sup> se označují jako pyridinové koenzymy. Jejich základní složkou je amid nikotinové kyseliny, která v lidském organismu může vznikat z aminokyseliny tryptofanu. Většinou přijímáme nikotinovou kyselinu a její amid nikotinamid jako vitamin B<sub>3</sub> – niacin (Kodíček et al. 2018). U dospělého člověka je denní potřeba niacinu 13–20 mg (Dostál et al. 2011). Mezi hlavní zdroje niacinu patří játra, maso a masné výrobky, ryby, arašídů a celozrnné výrobky. V tepelně neupravené živočišné potravě se niacin vyskytuje především ve formě nukleotidů NAD a NADP. Zdrojem niacinu je také káva (EFSA 2014). Potraviny bohaté na plnohodnotné bílkoviny jako je mléko, mléčné výrobky a vejce, jsou dobrým zdrojem tryptofanu a představují tedy i dobrý zdroj niacinu, protože niacin vzniká v buňkách z tryptofanu (Dostál et al. 2011; EFSA 2014).

Přibližně 60 mg tryptofanu poskytuje 1 mg niacinu definovaného jako 1 mg ekvivalentu niacinu (NE, z anglického výrazu niacin equivalent). Dlouhodobý nedostatečný příjem tryptofanu a niacinu má za následek snížené vylučování metabolitů niacinu močí a může vést ke vzniku onemocnění zvanému pelagra (EFSA 2014). Hlavními symptomy pelagry jsou demence, dermatitida a diarhoea. Kvůli těmto symptomům je nemoc označována jako tzv. „nemoc tří D“. Pelagra se vyskytovala především v oblastech, kde byla hlavní potravinou kukuřice, protože v kukuřici je niacin vázán v nevyužitelné formě jako niacytin. Nové odrůdy kukuřice už obsahují vyšší množství niacinu a tryptofanu. Pelagru může vyvolat i vysoký příjem leucinu. Aminokyselina leucin inhibuje enzym chinolinátfosforibosyltransferáza, který hraje klíčovou roli v přeměně tryptofanu na niacin (Holeček 2006). Nedostatek železa, riboflavinu nebo vitamínu B<sub>6</sub> rovněž snižuje přeměnu tryptofanu na niacin. Neléčená pelagra má za následek smrt na multiorganové selhání. Ve vyspělých zemích je pelagra vzácná. Může vznikat například při nadměrné konzumaci alkoholu, u pacientů s mentální anorexií nebo gastrointestinálními chorobami charakterizovanými malabsorpcí nebo poruchami metabolismu tryptofanu (EFSA 2014).

Na základě experimentálních studií sledujících nedostatek niacinu bylo zjištěno, že potřeba niacinu je silně závislá na příjmu energie. Vědecký panel pro dietetické výrobky, výživu a alergie (NDA) uvádí průměrnou potřebu niacinu u dospělých 1,3 mg NE/MJ (5,5 mg NE/1000 kcal). Tento údaj byl stanoven Vědeckým výborem pro potraviny (1993) na základě údajů o vylučování metabolitů niacinu močí. Z průměrného požadavku byl NDA odvozen referenční příjem 1,6 mg NE/MJ (6,6 mg NE/1000 kcal). Dle NDA neexistuje žádný důkaz, že by se vztah mezi potřebou niacinu a potřebou energie u kojenců ve věku 7–11 měsíců, dětí a těhotných a kojících žen lišil od vztahu stanoveného pro dospělé. Světová zdravotnická organizace (anglicky: World Health Organization, WHO) a Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů (anglicky: Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) stanovily referenční příjem 14 mg NE/den pro ženy a 16 mg NE/den pro muže. Referenční hodnoty pro niacin u těhotných a kojících žen jsou dle WHO a FAO 18 mg NE/den a 17 mg NE/den (EFSA 2014).

Koenzym A také obsahuje ve své struktuře vitamin B<sub>5</sub> (kyselina pantothenová) (viz Obrázek 12). Na konci molekuly koenzymu A je thiolově vázaná síra – jediný funkční atom, prostřednictvím kterého mohou být k molekule navázány acylové zbytky. Tímto způsobem jsou aktivovány karboxylové kyseliny, aby mohly vstoupit do různých metabolických procesů. Tyto struktury se označují jako acyl-CoA. Nejznámější je acetyl-CoA (Kodíček et al. 2018).



Obrázek 12: Koenzym A (Kodíček et al. 2018)

### 3.2.2 Fyziologické a biologické funkce nukleotidů

Nukleotidy mají celou řadu biologicky a fyziologicky významných funkcí jako například zajištění normálního růstu a vývoje u kojenců, úprava střevní mikrobioty, správná funkce jater nebo modulace imunity (Ding et al. 2021).

#### 3.2.2.1 Růst a vývoj

Příjem dietárních nukleotidů má velký význam především u novorozenců a kojenců (Maldonado et al. 2001). Nukleotidy jako nebičkovinné sloučeniny obsahující dusík mohou podporovat růst a vývoj u lidí a zvířat. Díky vysokému výskytu v mateřském mléce jsou nukleotidy považovány za podmíněně esenciální živiny u kojenců. Za určitých podmínek může být jejich syntéza nedostatečná. Přidání nukleotidů do kojenecké výživy může zlepšit růst a vývoj kojenců a snížit riziko infekce. Rozsáhlá studie ukázala, že obohacením kojenecké stravy o nukleotidy došlo ke zvýšení hmotnostního přírůstku kojenců (Ding et al. 2021). Exogenní nukleotidy stimulují zrání lymfoidních buněk a přispívají k působení T-lymfocytů. Dále zvyšují odolnost vůči některým infekcím, regulují množství „přirozených zabíječů“ (v angličtině „natural killer“, NK-buňky) a makrofágů a podporují syntézu imunoglobulinů. (Maldonado et al. 2001).

Po izolaci nukleotidů z mateřského mléka byly zjištěny koncentrace ribonukleotidů v rozmezí od 69,4 mg/l v kolostru do 71,8 mg/l ve zralém mléce. Koncentrace volných nukleotidů se snižují s postupujícím obdobím laktace nebo dobou kojení (Hess & Greenberg 2012). Kolostrum neboli mlezivo je mléko, které se tvoří první dny po porodu. Kolostrum je pro dítě velmi cenné. Obsahuje více bílkovin a méně tuků a sacharidů než zralé mléko. Důležitý je obsah obranných látek, které chrání novorozence před řadou mikroorganismů a cizorodých

látek (Sedlářová et al. 2008). Mateřské mléko obsahuje protilátky nutné pro vývoj imunity novorozence a v tomto ohledu je tedy nenahraditelné (Mourek 2012).

Mateřské mléko je doporučované jako jediný zdroj výživy v prvních šesti měsících života, a je tedy i jediným zdrojem nukleotidů pro novorozence a kojence. Mateřské mléko obsahuje specifické složení nukleotidů, které se výrazně liší od mléka kravského (Maldonado et al. 2001). Pro kojence, kteří nemohou být krmeni mateřským mlékem, existuje alternativní forma výživy. Studie na zvířatech ukazují, že přidání nukleotidů do stravy zlepšuje střevní funkce a snižuje riziko infekce způsobené kvasinkou *Candida albicans* a bakterií *Staphylococcus aureus*. Tyto studie na zvířatech přispěly k přidávání ribonukleotidů do kojenecké mléčné výživy. Produkty doplněné o nukleotidy u kojenců vykazovaly významné účinky na růst hmotnosti, snížení rizika průjmu a zlepšení některých imunologických parametrů (Gutiérrez-Castrellón et al. 2007). Přidáním nukleotidů do kojenecké výživy dochází ke zvýšení produkce imunoglobulinů a zvýšení odolnosti vůči infekci, což poukazuje na příznivý vliv nukleotidů na imunitní funkce (Maldonado et al. 2001).

Existuje tedy dostatek důkazů, které ukazují na zdravotní přínosy nukleotidů a podporují jejich přidávání do kojenecké výživy. Dostupné studie uvádějí, že zdravotních přínosů lze dosáhnout již přidáním 1,9 mg nukleotidů na 418,4 kJ, což odpovídá 12 mg/l. Ve studiích se suplementací 10,78 mg/418,4 kJ (72 mg/l) jsou tyto přínosy zachovány nebo zvýšeny. Při vyšších úrovních suplementace byly pozorovány větší účinky na vybrané cílové parametry, tedy na celkový počet lymfocytů a NK-buněk, epizody průjmu a akutní respirační infekce. Na základě dalších důkazů je pro zlepšení vývoje imunitního systému a snížení výskytu průjmu potřeba suplementace výživy na úrovni alespoň 5 mg/418,4 kJ (33 mg/l) (Gutiérrez-Castrellón et al. 2007).

Nukleotidy ovlivňují střevní mikrobiotu novorozence a stimulují vývoj tenkého střeva a jater nebo jejich opravu v případě poškození (Maldonado et al. 2001). Exogenní zdroje nukleotidů mají příznivý vliv na funkci enterocytů během období růstu a vývoje. Dochází k rychlému množení buněk a zvyšují se nároky na syntézu DNA a RNA. Několik studií ukázalo, že enterocyty mají omezenou schopnost *de novo* syntézy purinů. Tento proces je tedy v tenkém střevě omezený nebo zcela chybí. Výjimka nastává v případě, kdy strava neobsahuje žádné puriny a střevo je nuceno zvýšit syntézu purinů. Pokud jsou puriny součástí stravy, střevní sliznice přednostně využívá šetřící dráhy. Schopnost syntetizovat pyrimidiny je vysoká, tento proces je však neefektivní a energeticky náročný (Hess & Greenberg 2012).

### **3.2.2.2 Vliv na gastrointestinální trakt**

Dietární nukleotidy mohou snížit výskyt infekčních komplikací. Mají vliv na zvýšení fagocytózy peritoneálních makrofágů, aktivity NK-buněk, sekreci protilátek závislých na T-buňkách a počtu buněk kostní dřeně a neutrofilů v periferní krvi, čímž zvyšují odolnost vůči nemocem. Suplementace nukleotidů může zlepšit imunitu a odolnost vůči stresu a posílit obranyschopnost organismu proti virovým, bakteriálním a parazitárním infekcím (Ding et al. 2021). Jedním z potenciálních mechanismů, kterými nukleotidy snižují výskyt infekce, je

modulace střevní mikrobioty (Gil 2002). Přidáním nukleotidů do kultivačního média došlo ke zvýšenému růstu bifidobakterií, prospěšných bakterií ve střevě, které chrání před infekcí enteropatogenními organismy (Hess & Greenberg 2012).

Různé *in vivo* i *in vitro* pokusy ukázaly, že suplementace nukleotidy snižuje množství enterobakterií a zvyšuje počet prospěšných bifidobakterií ve střevní mikrobiotě. Tento fakt by mohl souviset s nižším výskytem průjmu u kojenců, kterým byla podávána strava obohacená o nukleotidy. Studie na zvířatech prokázaly, že nukleotidy ve stravě přispívají k rychlejší obnově poškozené střevní sliznice a její enzymatické aktivitě. Dietární nukleotidy tedy podporují zrání enterocytů. Experimenty na zvířatech také ukázaly, že nukleotidy ovlivňují zrání střevních lymfocytů, a tím i imunitní funkce (Maldonado et al. 2001).

Při obnově tkání gastrointestinálního traktu po poškození nebo podvýživě dochází ke zvýšenému obratu střevních buněk (Hess & Greenberg 2012). Nukleotidy mají významnou roli při udržování optimální funkce gastrointestinálního traktu a regulaci střevní mikrobioty. Nedostatečný příjem nukleotidů může negativně působit na střevo, což může mít nepříznivý vliv na trávení. Nukleotidy ovlivňují i růst a diferenciaci buněk gastrointestinálního traktu. Mají vliv také na udržování jaterních funkcí, zlepšují jejich obnovu při alkoholickém poškození a přispívají k obnově tkáně při jaterní cirhóze (Ding et al. 2021).

Účinky dietárních nukleotidů na játra a střeva byly studovány na pokusu na myších. Myším byla podávána krmiva: 1) se zanedbatelným množstvím nukleotidů, 2) s obsahem 0,25 % (m/m) nukleotidů, 3) doplněná o 0,0425 % (m/m) AMP, GMP, CMP, UMP a IMP (celkem tedy 0,21 % nukleotidů (m/m)), 4) doplněná pouze o 0,0425 % (m/m) AMP. Hmotnost jater vyjádřená v procentech tělesné hmotnosti byla výrazně nižší u myší kmených stravou se zanedbatelným množstvím nukleotidů než u myší, kterým byla podávána krmiva doplněná o nukleotidy (Carver 1994). Výrazné omezení nukleotidů způsobilo u zvířat hromadění lipidů v játrech a snížilo tloušťku střevní sliznice (Ding et al. 2021).

Na zvířatech byla zkoumána také metabolická odpověď na suplementaci dietárních nukleotidů u jater poškozených alkoholem (Cai et al. 2016). Alkohol je jednou z příčin vzniku steatózy, tedy abnormálního nahromadění lipidů v cytoplasmě buněk jater – hepatocytů (Mačák et al. 2012). Poškození jater bylo měřeno histopatologickým vyšetřením, jaterními enzymy a expresí markerů oxidačního stresu. Bylo zjištěno, že u krys suplementace nukleotidy zabránila rozvoji steatózi hepatocytů. Alkoholické onemocnění jater se projevuje zvýšenými hladinami žlučových kyselin, které podporují poškození jater. Suplementací nukleotidy u krys došlo ke snížení těchto zvýšených hladin jaterních žlučových kyselin. Získaná data rovněž ukázala, že doplňováním dietárních nukleotidů významně vzrostla koncentrace aminokyselin leucinu a fenylalaninu v játrech, což ukazuje na další příznivé účinky nukleotidů na alkoholické poškození jater. Tento výzkum tedy ukázal, že suplementace nukleotidy může částečně zmírnit poškození jater způsobené alkoholem (Cai et al. 2016).



### 3.2.2.3 Modulace imunity

Imunitní systém je složitá síť specializovaných buněk, tkání a molekul, které mezi sebou vzájemně interagují a udržují stálé vnitřní prostředí jedince (Ferenčík et al. 2005). Imunita je jednou ze základních vlastností živých organismů. Je to schopnost organismů odolávat škodlivým mikroorganismům ve vstupu do jejich buněk (Walzem et al. 2020). Účelem imunitního systému je také rozeznání a eliminace nebezpečných vnitřních podnětů. Ohrožení vnitřního původu představují odumřelé, nádorově změněné nebo jinak poškozené buňky a tkáně vlastního organismu. Naopak neškodné podněty jsou imunitním systémem tolerovány (Bartůňková et al. 2021). Imunitní systém se od ostatních systémů liší tím, že není tvořen přesnou anatomickou strukturou (Ferenčík et al. 2005). Nezastupitelnou roli v imunitním systému mají leukocyty a lymfatická tkáň. Lymfatická tkáň se dále dělí na centrální (thymus a kostní dřeň) a periferní (lymfatické žlázy) (Mourek 2012).

Mezi nejzákladnější vlastnosti imunitního systému patří schopnost rozpoznat vlastní a nevlastní molekuly, paměť, specifčnost a rozmanitost reakcí. Rozpoznané molekuly se označují jako antigeny. Buňky, které antigeny rozpoznávají, jsou leukocyty. Na cizí antigeny odpovídá imunitní systém imunitní reakcí. Imunitní systém si dokáže pamatovat antigen, se kterým se již setkal, což umožňuje rychlejší a intenzivnější imunitní reakci při opakovaném kontaktu. Díky obrovské rozmanitosti imunitních reakcí dokáže imunitní systém odpovídat na miliony různých antigenů (Ferenčík et al. 2005). Poruchy ve funkcích imunitního systému mohou vést k imunodeficienci, tedy ke zvýšené náchylnosti k infekcím, nebo mohou zvýšit riziko vzniku nádorového onemocnění (Bartůňková et al. 2021).

Imunitní mechanismy se dělí na imunitu specifickou a nespecifickou. Specifická imunita se ještě dále rozděluje na látkovou a buněčnou. Nespecifická imunita je vrozená schopnost organismu reagovat proti cizorodým antigenům. Specifická imunita se rozvíjí až po vniknutí antigenu do organismu a účinkuje cíleně a přesně (Mourek 2012). Za humorální (látkový) typ specifické imunity odpovídají B-lymfocyty, které se po kontaktu s antigenem mění na buňky syntetizující specifické protilátky (plazmatické buňky) (Ferenčík et al. 2005). Některé B-lymfocyty se stávají tzv. paměťovými buňkami, které cirkulují v těle a čekají na opětovné setkání se „svým“ antigenem. Za buněčnou odpověď jsou odpovědné T-lymfocyty, které se dělí na tři skupiny: T<sub>H</sub>-lymfocyty, T<sub>H</sub>-lymfocyty a T<sub>S</sub>-lymfocyty. T-lymfocyty vykonávají regulační a cytotoxickou funkci (Mourek 2012).

Mezi hlavní orgány imunitního systému patří játra. Jsou hlavním orgánem zodpovědným za syntézu bílkovin komplementového systému a obsahují velké množství fagocytárních buněk (Walzem et al. 2020). Komplement je soubor plazmatických bílkovin a glykoproteinů. Spolu s fagocytózou a NK-buňkami představuje komplement nástroje nespecifické imunity (Mourek 2012). Rychle se množící buňky imunitního systému nejsou schopny zajistit potřebu nukleotidů pouze syntézou *de novo* a důležitou roli tak představuje šetřící dráha syntézy nukleotidů a příjem nukleotidů ze stravy (Ding et al. 2021; Hess & Greenberg 2012).

Nukleotidy mohou být v lidském organismu využity jako imunomodulátory (Ding et al. 2021), přičemž imunomodulace je vědomé zasahování do činnosti imunitního systému a ovlivňování imunitních reakcí (Bystroň 2015). Exogenní nukleotidy přijímané stravou zvyšují imunitu tím, že přispívají k zásobě nukleotidů dostupných pro leukocyty. Aktivace T-lymfocytů má za následek rychlý nárůst syntézy nukleotidů, které se později uplatňují jako prekurzory pro syntézu nukleových kyselin (Carver 1994). Nedostatečný příjem nukleotidů může mít nepříznivé účinky na imunitní systém a vést ke zvýšení náchylnosti k infekcím způsobených patogeny (Ding et al. 2021). Tato teorie byla potvrzena na pokusech na zvířatech, kdy bylo prokázáno, že vynechání nukleotidů ze stravy snižuje buněčnou imunitu. U zvířat, kterým byla podávána krmiva bez obsahu nukleotidů, byla zjištěna nižší proliferace lymfocytů než u zvířat krmených stravou doplněnou o nukleotidy (Carver 1994). Dieta bez nukleotidů u myši vedla k poklesu aktivace makrofágů a snížila se rezistence myši vůči kvasince *Candida albicans* (Kandida bělostná) a bakterii *Staphylococcus aureus* (Ding et al. 2021). Absence nukleotidů tedy může vést ke snížení odolnosti vůči bakteriálním a plísňovým infekcím (Hess & Greenberg 2012).

U myši, kterým byla podávána krmiva bez obsahu nukleotidů, bylo také pozorováno, že buňky sleziny produkovaly méně interleukinu-2 (IL-2) (Carver 1994). Interleukin-2 působí na mnoho typů buněk. Nejvýznamnější je jeho účinek na T-lymfocyty (Gaffen & Liu 2004). T-lymfocyty (T-buňky) se podle funkce v imunitních reakcích dělí na několik skupin. Nejvýznamnější jsou pomocné, cytotoxické a regulační T-lymfocyty (Vokurka et al. 2018). Interleukin-2 má schopnost stimulovat jak cytotoxické efektorové T-buňky, tak regulační T-buňky. Aktivace regulačních T-buněk je nežádoucí v protirakovinné léčbě, protože regulační T-buňky mohou tlumit reakce efektorových T-buněk proti nádorovým antigenům. Vlastnost interleukinu-2 stimulovat regulační T-buňky však může být využita k léčbě autoimunitních a chronických zánětlivých poruch (Arenas-Ramirez et al. 2015). Vynechání příjmu dietárních nukleotidů ovlivňuje imunitní reakce, a to zejména počáteční fáze zpracování antigenu a proliferaci lymfocytů (Carver 1994).

Mechanismus, kterým nukleotidy působí na imunitní systém je velmi složitý. Předpokládá se, že tkáňové nukleotidy pocházejí především ze syntézy *de novo*, a že nukleotidy přijímané potravou jsou metabolizovány ve střevě a v játrech a v periferních tkáních se nachází pouze ve velmi malém množství. Je tedy nepravděpodobné, že by dietární nukleotidy měly výrazný vliv na klonální expanzi lymfocytů v periferních tkáních. Nukleotidy tedy nemají přímý vliv na humorální imunitu, ale ovlivňují střevní imunitní odpověď (Maldonado et al. 2001). Střevní a imunitní tkáň spolu úzce souvisí. Významná část střevních buněk je imunitního původu a střevní epitelální buňky produkují molekuly s imunomodulačním účinkem, které regulují imunitní odpověď (Gil 2002).

#### **3.2.2.4 Význam nukleotidů v klinické výživě**

Operace, popáleniny nebo poranění vyvolávají zánětlivou reakci, která se u některých pacientů může stát nadměrnou a škodlivou. Tato přehnaná reakce neboli hyperzáněť, může být následována imunosuprimovaným stavem, který zvyšuje náchylnost k infekci. Řada živin má

schopnost regulovat zánět a související oxidační stres, a udržovat nebo zlepšovat imunitní funkce. Mezi tyto živiny patří několik aminokyselin, antioxidační vitaminy a minerální látky, n-3 mastné kyseliny s dlouhým řetězcem a nukleotidy. Různé studie poukazují na důležitost každé z těchto živin u zraněných nebo kriticky nemocných pacientů a pacientů po chirurgickém zákroku (Calder 2007).

Využití specifických živin nebo kombinací živin jako intervence u pacientů v kritické péči se nazývá imunonutrice. Primárními cíli klinických nutričních intervencí je poskytnout potřebnou energii a živiny nezbytné pro život a poté snížit počáteční zánětlivou reakci a související oxidační stres, zabránit infekci a obnovit optimální imunitní funkci (Hess & Greenberg 2012). Pacientům v kritické péči jsou živiny dodávány parenterální nebo enterální cestou. Do imunomodulační umělé výživy jsou obecně zařazované živiny, u kterých bylo na zvířecích modelech prokázáno, že působí na zlepšení imunitní funkce, regulují zánět, udržují nebo zlepšují funkci střevní bariéry nebo zlepšují antioxidační obranyschopnost, a které se ukázaly jako bezpečné a účinné v klinických studiích u příslušných skupin pacientů. Enterální imunonutriční směsi obvykle obsahují arginin, nukleotidy a n-3 mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (Calder 2007). Výsledky metaanalýzy prokázaly přínosy enterální imunonutrice ve snížení počtu epizod infekce a délky hospitalizace u kriticky nemocných pacientů (Hess & Greenberg 2012).

Během procesu infekce po poranění se zvyšuje požadavek na nukleotidy, aby se usnadnila syntetická schopnost imunitních buněk. Absence nukleotidů ve stravě má za následek selektivní ztrátu pomocných T-lymfocytů a potlačení produkce interleukinu-2. Výsledky četných experimentálních studií naznačují, že v klinické výživě může být dostatečný přísun nukleotidů kritickým faktorem pro podporu střevních funkcí a imunitního stavu (Suchner et al. 2000). Zahrnutí nukleotidů do nutričních přípravků je nezbytné pro rychlou obnovu základních tělesných funkcí za hypermetabolického stavu (Hess & Greenberg 2012).

### **3.2.2.5 Vliv nukleotidů na zlepšení paměti**

Nukleotidy mohou zlepšit funkce mozku, podpořit učení a paměť a zotavit dědičné poruchy paměti nebo poruchy paměti v důsledku stáří. U myší měla suplementace nukleotidy během těhotenství a laktace schopnost zvrátit prenatální deficit učení a paměti způsobené ethanolem (Ding et al. 2021). Ethanol může inhibovat proliferaci a diferenciaci mozkových buněk, indukovat nadměrnou apoptózu nebo zvyšovat hladiny oxidačního stresu, což má za následek poškození vyvíjejícího se nervového systému plodu. Nukleotidy a jejich metabolické produkty hrají zásadní roli v buněčné replikaci a metabolismu. ATP působí jako kotransmitter ve většině nervů v periferním i centrálním nervovém systému a je účinný jako rychlý excitační neurotransmitter a neuromodulátor (Dong et al. 2014).

Těhotné ženy potřebují větší příjem nukleotidů, aby splnily potřeby vyvíjejícího se embrya. Příjem etanolu urychlí degradaci nukleotidů a zvýší vylučování příbuzných látek močí, což naruší rovnováhu zásoby nukleotidů. Předpokládá se, že u těhotných žen vystavených

alkoholu (zejména u těhotných alkoholiček) má význam vyšší suplementace nukleotidy než u těhotných abstinetek (Dong et al. 2014).

Účinky směsi dietárních nukleosidů a nukleotidů (NS+NT) na paměť byly testovány u myši se zrychleným stárnutím. Protože mozek má omezenou kapacitu pro *de novo* syntézu nukleosidů a nukleotidů, musí spoléhat na játra, která mu dodají nukleotidy prostřednictvím šetřící dráhy. Jak myši stárnou a funkce jater klesá, je možné, že nedochází k dostatečnému zásobování nukleosidů a nukleotidů z jater do mozku. Snížení endogenních zásob nukleotidů tedy může být odpovědné za zhoršování paměti s rostoucím věkem (Kunii et al. 2004).

Dlouhotrvající perorální podávání NS+NT směsi je spojeno se snížením zhoršování morfologie mozku a paměti související s věkem. U starých myši výsledky testů ukázaly lepší paměť ve skupině, které byla podávána NS+NT směs (5 g/kg potravy), než v kontrolní skupině bez podání nukleotidů. Tyto výsledky naznačují, že zhoršování paměti související s věkem u myši může být sníženo podáváním NS+NT směsi po delší dobu. Studie také ukázala, že podávání směsi NS+NT snížilo zhoršování učení a paměti u starých myši (Kunii et al. 2004). Výsledky studie tedy naznačují, že exogenní nukleosidy a nukleotidy by mohly zlepšit funkci mozku. Výsledky další studie ukázaly, že směs NS+NT měla schopnost zvrátit senilní nebo dědičné poruchy paměti (Ding et al. 2021).

### **3.2.2.6 Další funkce nukleotidů**

Nukleotidy mají také silné protizánětlivé účinky. Infuze adenosinu a ATP vedla k silné vazodilataci při léčbě hemoragického šoku, tkáňové ischemie a plicní hypertenze (Hess & Greenberg 2012).

U dobrovolných trénovaných mužských subjektů byly zkoumány ergogenní účinky suplementace nukleotidy na metabolické a imunitní odpovědi na krátkodobou vysoce intenzivní zátěž. Před zátěží byly subjektům odebrány vzorky slin a vzorky krve. Ve slinách byla sledována hladina kortizolu a IgA, a v krvi hladina laktátu, laktátdehydrogenázy a kreatinkinázy (Mc Naughton et al. 2007). Vliv suplementace nukleotidy na hladinu IgA a kortizolu ve slinách byl zkoumán také po déle trvající vytrvalostní zátěži (Mc Naughton et al. 2006).

Imunoglobulin A (IgA) je hlavní imunoglobulin nacházející se ve slinách. IgA má významný účinek v obraně proti mikroorganismům způsobujících infekce horních cest dýchacích. Ukázalo se, že sportovci mají oslabenou imunitu a jsou tedy náchylnější k infekci horních dýchacích cest. Studie ukázala, že hladina IgA se snižuje po vytrvalostním cvičení i po kratší intenzivní zátěži (Mc Naughton et al. 2007). Po krátkodobém cvičení s vysokou intenzitou i po déle trvajícím vytrvalostním cvičení byly hladiny IgA ve slinách významně vyšší ve skupinách, kterým byl podáván nukleotidový doplněk, v porovnání s kontrolními a placebo skupinami (Hess & Greenberg 2012). Placebo skupinám byl podáván produkt, který neobsahoval žádnou biologicky aktivní látku (Mc Naughton et al. 2007).

U obou typů aktivit byly hladiny kortizolu po cvičení významně nižší po suplementaci nukleotidy v porovnání s kontrolními a placebo skupinami (Hess & Greenberg 2012). Kortizol je katabolický steroidní hormon produkovaný kůrou nadledvin jako odpověď na stresovou situaci (fyzickou i psychickou). Jeho syntéza a uvolňování jsou regulovány adrenokortikotropním hormonem z adenohypofýzy, který stimuluje nadledviny k produkci kortizolu. Kortizol reaguje na stresovou situaci tak, že snižuje funkce organismu, které nejsou nezbytné (například imunitní systém a reprodukce), aby bylo možné využít veškerou energii na vyrovnání se se stresem. Kortizol stimuluje glukoneogenezi v játrech a zvyšuje glykogenolýzu, což vede ke zvýšení glukózy v krevním oběhu. Zasahuje také do produkce T-lymfocytů, čímž se snižuje odolnost vůči patogenům (Roubík et al. 2018).

U skupiny s vytrvalostní zátěží byly koncentrace laktátu v krvi po cvičení významně vyšší než hodnoty před cvičením, ale nebyl žádný rozdíl mezi skupinou s nukleotidy a placebo skupinou (Mc Naughton et al. 2006). U skupiny vykonávající vysoce intenzivní cvičení po suplementaci nukleotidy také nedošlo k žádným významným změnám v koncentracích laktátu, laktátdehydrogenázy nebo kreatinkinázy v krvi (Mc Naughton et al. 2007).

### 3.3 Potravinové zdroje nukleotidů

Hlavním zdrojem nukleotidů je endogenní syntéza. Nukleotidy lze získat i ve formě nukleoproteinů (proteiny spojené s nukleovou kyselinou), které se přirozeně vyskytují ve všech potravinách živočišného i rostlinného původu. Koncentrace nukleových kyselin RNA a DNA v potravinách závisí na hustotě buněk (Hess & Greenberg 2012). Největší koncentrace se nacházejí v potravinách s větší hustotou buněk nebo s obsahem buněk pocházejících z metabolicky aktivní tkáně. Potraviny živočišného původu tedy obsahují větší množství nukleosidů a nukleotidů než potraviny pocházející z rostlin. Výjimku tvoří fazole a další luštěniny, které obsahují relativně vysoké množství nukleotidů v semenech (Domínguez-Álvarez et al. 2017).

Maso, ryby a semena mají vyšší obsah nukleotidů než mléko, vejce a ovoce (Hess & Greenberg 2012). Obzvláště bohatým zdrojem nukleotidů jsou vnitřnosti zvířat, například játra, ledviny nebo srdce. Dále pak ryby, mořské plody a luštěniny (Carver & Walker 1995; Domínguez-Álvarez et al. 2017). Celkový obsah RNA se pohybuje v rozmezí 50–400 mg/100 g u vnitřností, 80–350 mg/100 g u mořských plodů a 140–490 mg/100 g u luštěnin (Hess & Greenberg 2012). Pouhá analýza nukleotidů a nukleosidů v potravinách a potravinových výrobcích nemusí být přesná. Je to především z důvodu, že se v potravinách vyskytuje velké množství různých nukleových bází, které se mohou vzájemně přeměňovat nebo, v případě čerstvých potravin jako jsou čerstvé mořské plody, ovoce a zelenina, může docházet k poklesu jejich množství. Obsah nukleotidů a nukleosidů v potravinách tedy není konstantní (Ding et al. 2021). Příkladem je pokles obsahu nukleových bází, nukleosidů a nukleotidů během vadnutí čajových lístků. V čerstvých čajových listech byl v největším množství zastoupen adenosin (300 µg/g). Po 18 hodinách nebylo jeho množství identifikovatelné. Obsah nukleotidu AMP klesl během 48 hodin ze 104 µg/g na 52 µg/g, u GMP dokonce z necelých 140 µg/g klesl pod 40 µg/g (Zhao et al. 2018).

Dospělý člověk přijímá z potravy v průměru 1–2 g nukleotidů denně. To je méně než sacharidů, lipidů a bílkovin, ale mnohem více než celkové množství minerálních látek a vitaminů (Šíma 2008). Nejvyšší obsah nukleotidů byl zjištěn u luštěnin a luštěninových výrobků. Vysoký obsah je také v mase hospodářských zvířat a drůbeže, především pak v jejich vnitřnostech, a v mořských rybách a plodech (Ding et al. 2021). Srovnání obsahů purinů a ribonukleotidů v potravinách je znázorněno v Tabulce 2.

**Tabulka 2:** Obsah purinů a ribonukleotidů (mg/100 g) a bílkovin (%) v potravinách (upraveno podle: Šíma 2008)

Potravina	Adenin	Guanin	Hypoxantin	Xantin	Celkové puriny	RNA	Bílkoviny
<b>vnitřnosti</b>							
<b>hovězí:</b>							
– 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
<b>vepřové:</b>							
– játra	590	77	71	82	289	259	22
<b>drůbeží:</b>							
– játra	720	78	71	22	243	402	20
– srdce	320	41	12	138	223	187	18
<b>mořské ryby</b>							
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
<b>mořští měkkýši</b>							
škeble	140	24	12	86	136	85	17
kalmaři	180	15	24	78	135	100	15
<b>luštěniny</b>							
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

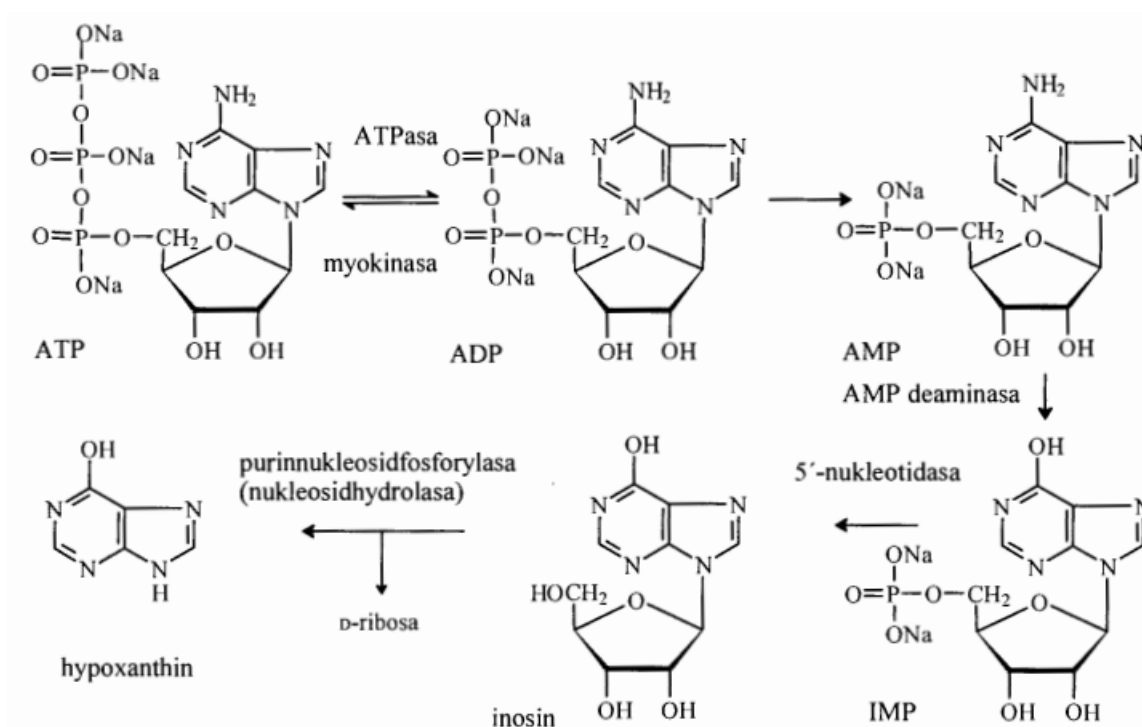
Některé nukleotidy, jako je IMP a GMP se používají jako intenzifikátory aroma neboli látky zvýrazňující chuť a vůni (Domínguez-Álvarez et al. 2017). Intenzifikátory aroma jsou látky, které zvýrazňují nebo mění původní aroma některých potravin, i když samy výrazné aroma nemají. Kromě disodných solí purinových 5'-nukleotidů IMP a GMP do této kategorie přídatných látek patří monosodná sůl L-glutamové kyseliny (natrium-hydrogen-glutamát). Tato sůl vykazuje vlastní chuť zvanou umami nebo také „pátá chuť“. Jako aditivum se do potravin přidává v koncentracích 0,05–0,8 %. Využívá se ke zvýraznění chuti u masových a zeleninových výrobků, jako jsou polévky a omáčky, masové a zeleninové konzervy, rajčatové šťávy, kečupy a dresingy. Disodné soli 5'-ribonukleotidů, 5'-inosinové (IMP) a 5'-guanylové kyseliny (GMP), se k potravinám se přidávají v množství 0,001–0,2 % a mají stejný účinek na chuť jako glutamát. Dle legislativy je povoleno používat glutamovou, inosinovou a guanylovou kyselinu a jejich soli jako intenzifikátory aroma jednotlivě nebo v kombinacích až do nejvyššího povoleného množství. Toto množství je u glutamové kyseliny a zmiňovaných nukleotidů v potravinách stanoveno na 10 000 mg/kg resp. 500 mg/kg. Při použití IMP a GMP lze asi desetkrát snížit množství přidaného glutamátu v potravině, aniž by došlo ke změně intenzity chuti umami. Běžně se používají směsi, které obsahují 95 % hmotnosti glutamátu sodného 2,5 % hmotnosti IMP a 2,5 % hmotnosti GMP. Glutamová, inosinová a guanylová kyselina jsou běžnými složkami potravin (Velíšek 2002). Jejich obsah v některých potravinách je uveden v Tabulce 3. Využívání nukleotidů jako intenzifikátory aroma a jejich přidávání do

potravin může zvýšit jejich celkový příjem (Carver & Walker 1995). Ačkoliv neexistují žádná přesná doporučení na množství nukleosidů a nukleotidů, které by bylo ve výživě prospěšné, je lepší přijímat alespoň nějaké množství nukleotidů než žádné (Domínguez-Álvarez et al. 2017).

**Tabulka 3:** Přirozený obsah glutamové, inosinové a guanylové kyseliny v některých potravinách (upraveno podle: Velíšek 2002)

Potravina	Obsah v mg/kg		
	Volná Glu	IMP	GMP
Vepřové maso	230	1860	37
Kuřecí maso	440	1150	22
Hrášek	750	0	0
Rajčata	2460	0	0

V maso a rybách je nejvíce zastoupen IMP, protože vzniká *post mortem* z ATP, resp. deaminací AMP (viz Obrázek 13). V maso korýšů je hlavním nukleotidem AMP. Vysoký obsah GMP mají některé houby a kvasničné extrakty, které se používají jako polévkové přípravky (Šíma 2008). Podobné organoleptické vlastnosti jako IMP a GMP má také dinatrium-5'-xanthinát (disodná sůl 5'-xanthinové kyseliny, XMP) (Velíšek 2002).



**Obrázek 13:** Vznik IMP z ATP

Houby jsou bohatým zdrojem nukleotidů. Příkladem je entomogenní houba *Cordyceps sinensis* (v češtině známá jako Houšnice čínská) (Ding et al. 2021). Jejím hostitelským



organismem jsou larvy můry *Hepialus fabricius*, které se vyskytují na pastvinách v Tibetu a Himalájích (Jablonský & Bajer 2007). Díky svému obsahu nukleosidů a nukleotidů patří Housenice čínská mezi tradiční nutraceutika v Asii (Ding et al. 2021). Kromě nukleotidů obsahuje Housenice čínská také glukany, které jsou hlavní účinnou látkou této houby. Účinné látky houby stimulují imunitní systém, zlepšují činnost jater, ledvin a dýchacího a oběhového systému (Jablonský & Bajer 2007).

Nukleosidy jsou považovány za nejdůležitější aktivní složky Housenice čínské. Tato houba obsahuje především velké množství adenosinu, guanosinu a uridinu. Hlavní roli ve farmakologickém účinku Housenice má adenosin, který ovlivňuje koronární cirkulaci a cirkulaci krve v mozku, podílí se na kontrole průtoku krve a prevenci srdeční arytmie (Li et al. 2001). Kromě zmiňovaných nukleosidů Housenice čínská obsahuje adenin, cytosin a cytidin, guanin, hypoxantin, inosin, thymin a thymidin, 2'-deoxyuridin a kordycepín. Kordycepín neboli 3'-deoxyadenosin je považován za sloučeninu s protirakovinným účinkem. Je to z důvodu jeho schopnosti substituovat adenosin, čímž dojde k ukončení syntézy RNA molekul (Chen et al. 2013).

Z důvodu nedostatku Housenice čínské v přírodě a její vysoké ceně se na trhu objevuje mnoho falešných náhražek této houby. Stanovení obsahu nukleosidů je důležitou součástí kontroly kvality Housenice čínské. Při zkoumání obsahu nukleosidů v Housenici čínské bylo zjištěno, že obsah nukleosidů se liší podle oblasti, ze které houba pocházela (Xie et al. 2010). Obsah některých nukleosidů v Housenici čínské z různých provincií Čínské lidové republiky je uveden v Tabulce 4.

**Tabulka 4:** Obsah některých nukleosidů v Housenici čínské z různých oblastí (upraveno podle: Xie et al. 2010)

Oblast	Thymin (µg/g)	Adenin (µg/g)	Adenosin (µg/g)	Kordycepín (µg/g)
Čching-chaj	174,2	29,7	186,5	91,2
Tibet	138,5	38,1	79,6	48,7
S'-čchuan	142,6	20,4	126,1	31,3

Množství nukleotidů bylo zkoumáno i u jiných hub, než je Housenice čínská. Vyšší obsah 5'-nukleotidů (IMP + GMP + XMP) byl pozorován například u hub: *Amanita virgineoides* (muchomůrka, 36,93 mg/g), *Craterellus cornucopioides* (Stroček trubkovitý, 13,88 mg/g), *Tricholoma giganteum* (čeď čirůvkovitá), 13,60 mg/g), *Lentinus edodes* (Houževnatec jedlý, 11,60 mg/g) a *Hericiium erinaceus* (Korálovec ježatý, 10,31 mg/g) (Phan et al. 2018).

Čaj, velmi rozšířený nealkoholický nápoj, také obsahuje vysoké množství nukleotidů (Ding et al. 2021). Tyto nukleotidy jsou důležitými prekurzory pro biosyntézu nukleových kyselin a kofeinu v čajových listech. Některé nukleotidy, jako je inosin-5'-monofosfát nebo guanosin-5'-monofosfát, podporují chuť umami v čaji. V čerstvých čajových listech jsou

v největším množství zastoupeny nukleosid-trifosfáty. Při zpracování čajových listů dochází ke změně obsahu nukleotidů a vyrobené zelené a černé čaje obsahují více nukleosid-difosfátů než nukleosid-trifosfátů. V čajových listech jsou nejvíce zastoupeny adeninové nukleotidy, naopak v nejmenším množství se vyskytují nukleotidy s cytosinovými bázemi. Celkové množství 5'-nukleotidů v čerstvých čajových listech je zhruba 1,6× vyšší než ve zpracovaném čaji. V čerstvých čajových listech bylo naměřeno 1 850 nmol nukleotidů/g sušiny, zatímco ve zpracovaném čaji 1 170 nmol/g. Zelený čaj obsahuje více 5'-nukleotidů než černý čaj. Inosin-5'-monofosfát, zodpovědný za chuť umami, se ve zpracovaném čaji vyskytuje v množství od 50 do 200 nmol/g sušiny (Koshiishi et al. 2001).

## 4 Závěr

- Cílem této bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše zaměřené na význam dietárních nukleotidů ve výživě člověka.
- Nukleotidy jsou nezbytné pro tvorbu nukleových kyselin DNA a RNA, které hrají klíčovou roli při uchování a přenosu genetické informace, buněčném dělení a syntéze bílkovin. Účastní se celé řady metabolických procesů jako součásti struktury kofaktorů, fungují jako fosforylační činidla, působí jako rezervoáry energie a slouží k přenosu volné energie. Cyklické formy nukleotidů mají důležitou regulační úlohu v signálních drahách.
- Nukleotidy podporují růst a vývoj. Jejich příjem má tedy velký význam především u novorozenců a kojenců. Nenahraditelným zdrojem dietárních nukleotidů je mateřské mléko, které se svým složením liší od mléka většiny savců. Pro kojence, kteří nemohou být krmeni mateřským mlékem, existuje alternativní forma výživy doplněná o nukleotidy. Obohacení kojenecké stravy o nukleotidy pozitivně působí na hmotnostní přírůstek kojenců, podporuje vývoj imunity, zlepšuje funkce imunitního systému a snižuje výskyt průjmu.
- Nukleotidy se významně podílí na udržování optimální funkce gastrointestinálního traktu a regulaci střevní mikrobioty. Suplementace nukleotidy vede ke zvýšenému růstu bifidobakterií, prospěšných bakterií ve střevě, které chrání před infekcí enteropatogenními mikroorganismy. Nukleotidy mají vliv také na jaterní funkce a zlepšují jejich obnovu při alkoholickém poškození.
- Exogenní nukleotidy přijímané stravou přispívají k zásobě nukleotidů dostupných pro leukocyty, čímž zvyšují imunitu. Zvýšený příjem nukleotidů by měl být, kromě období růstu a vývoje, zajištěn také při infekčním onemocnění a období rekonvalescence. Vyšší množství dietárních nukleotidů by měly přijímat těhotné a kojící ženy.
- Nukleotidy mohou zlepšit funkce mozku, podpořit učení a paměť a zotavit dědičné poruchy paměti nebo poruchy paměti v důsledku stáří. U sportovců vedla suplementace nukleotidy ke snížení hladiny kortizolu po cvičení.
- Na téma významu dietárních nukleotidů existuje řada studií, které přináší poznatky o různých funkcích nukleotidů. I přesto stále probíhají nové výzkumy, jejichž cílem je lépe porozumět fungování nukleotidů. Především je studován vliv dietárních nukleotidů na vývoj organismu v postnatálním období, růst dětí, regenerační pochody, imunitní funkce při pozátěžové a pooperační rekonvalescenci, chronické infekční stavy a na průběh stárnutí.

## 5 Literatura

- Arenas-Ramirez N, Woytschak J, Boyman O. 2015. Interleukin-2: Biology, Design and Application. *Trends in Immunology* **36**:763-777.
- Bartůňková J, Šedivá A, Bloomfield M, Klocperk A, Milota T, Podrazil M, Sobotková M, Strížová Z. 2021. *Imunodeficiency*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Bystroň J. 2015. Jaké máme v současné době možnosti ovlivnění imunity v běžné klinické praxi. *Klinická farmakologie a farmacie* **29**(3):95-99.
- Cai X, Bao L, Wang N, Xu M, Mao R, Li Y. 2016. Dietary Nucleotides Supplementation and Liver Injury in Alcohol-Treated Rats: A Metabolomics Investigation. *Molecules* **21**:435.
- Calder PC. 2007. Immunonutrition in surgical and critically ill patients. *British Journal of Nutrition* **98**:133-139.
- Carver JD. 1994. Dietary Nucleotides: Cellular Immune, Intestinal and Hepatic System Effects. *The Journal of Nutrition* **124**:144-148.
- Carver JD, Walker WA. 1995. The role of nucleotides in human nutrition. *Nutritional Biochemistry* **6**:58-72.
- Chen PX, Wang S, Nie S, Marcone M. 2013. Properties of *Cordyceps Sinensis*: A review. *Journal of Functional Foods* **5**:550-569.
- Cosgrove M. 1998. Nucleotides. *Nutrition* **14**:748-751.
- Ding T, Song G, Liu X, Xu M, Li Y. 2021. Nucleotides as optimal candidates for essential nutrients in living organisms: A review. *Journal of Functional Foods* (104498) DOI: 10.1016/j.jff.2021.104498.
- Domínguez-Álvarez J, Mateos-Vivas M, Rodríguez-Gonzalo E, García-Gómez D, Bustamante-Rangel M, Zamarréño MD, Carabias-Martínez R. 2017. Determination of nucleosides and nucleotides in food samples by using liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Trends in Analytical Chemistry* **92**:12-31.
- Dong W, Wu Z, Xu L, Fang Y, Xu Y. 2014. Maternal supplementation of nucleotides improves the behavioral development of prenatal ethanol-exposed mice. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience* **14**:879-890.
- Dostál J, Bochořáková H, Paulová H, Sláma J, Slanina J, Tallová J, Tomandl J, Tomandlová M. 2011. *Lékařská chemie II: bioorganická chemie*. Masarykova univerzita, Brno.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for niacin. *EFSA Journal* **12**(7):3759.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, et al. 2017. Dietary Reference Values for riboflavin. *EFSA Journal* **15**(8):4919.
- Ferenčík M, Rovenský J, Shoenfeld Y, Mařha V. 2005. *Imunitní systém – informace pro každého*. Grada Publishing, a.s., Praha.

- Gaffen SL, Liu KD. 2004. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. *Cytokine* **28**:109-123.
- Gil A. 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *European Journal of Clinical Nutrition* **56**(Suppl 3):S1-S4.
- Gutiérrez-Castrellón P, Mora-Magaña I, Díaz-García L, Jiménez-Gutiérrez C, Ramirez-Mayans J, Solomon-Santibáñez GA. 2007. Immune response to nucleotide-supplemented infant formulae: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition* **98**:64-67.
- Hess JR, Greenberg NA. 2012. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal system: Potential clinical applications. *Nutrition in Clinical Practise* **27**:281-294.
- Holeček M. 2006. Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Jablonský I, Bajer J. 2007. Rostliny pro posílení organismu a zdraví. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Kodíček M, Valentová O, Hynek R. 2018. Biochemie: chemický pohled na biologický svět. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.
- Koolman J, Röhm K. 2012. Barevný atlas biochemie. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Koshiishi C, Crozier C, Ashihara H. 2001. Profiles of Purine and Pyrimidine Nucleotides in Fresh and Manufactured Tea Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**:4378-4382.
- Kunii D, Wang M, Chan Y, Wong Y, Hosoda K, Yamamoto S. 2004. Ameliorative effects of nucleosides on senescence acceleration and memory deterioration in senescence-accelerated mice. *International Congress Series* **1260**:143-149.
- Li SP, Li P, Dong TTX, Tsim KWK. 2001. Determination of nucleosides in natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps* mycelia by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **22**:144-150.
- Mačák J, Mačáková J, Dvořáčková J. 2012. Patologie. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Maldonado J, Navarro J, Narbona E, Gil A. 2001. The influence of dietary nucleotides on humoral and cell immunity in the neonate and lactating infant. *Early Human Development* **65**:69-74.
- Mc Naughton L, Bentley DJ, Koepfel P. 2006. The effects of a nucleotide supplement on salivary IgA and cortisol after moderate endurance exercise. *The Journal of sports medicine and physical fitness* **46**:1-6.
- Mc Naughton L, Bentley DJ, Koepfel P. 2007. The effects of a nucleotide supplement on the immune and metabolic response to short term, high intensity exercise performance in trained male subjects. *Journal of sports medicine and physical fitness* **47**:112-118.
- Mourek J. 2012. Fyziologie. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2002. Harperova biochemie. H+H, Jinočany.

- Phan C, Wang J, Cheah S, Naidu M, Sabaratnam PD, Sabaratnam V. 2018. A review on the nucleic acid constituents in mushrooms: nucleobases, nucleosides and nucleotides. *Critical Reviews in Biotechnology* **38**:762-777.
- Roubík R, et al. 2018. *Moderní výživa ve fitness a silových sportech*. Erasport, s.r.o., Praha.
- Sedlářová P, et al. 2008. *Základní ošetrovatelské péče v pediatrii*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Suchner U, Kuhn KS, Fürst P. 2000. The scientific basis of immunonutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* **59**:553-563.
- Šíma P. 2008. Význam nukleotidů jako složky výživy pro růst, regeneraci a imunitu. *Interní medicína pro praxi* **10**(12):555–557.
- Turek B, Šíma P, Michalová. 2016. *Vyvážená strava a zdraví*. Sdružení českých spotřebitelů, z.ú. a Potravinářská komora ČR, Praha.
- Velíšek J. 2002. *Chemie potravin 3*. OSSIS, Tábor.
- Vokurka M, Kofránek J, Maršálek P, Maruna P, Nečas E, Šulc K, Živný J. 2018. *Patofyziologie pro nelékařské směry*. Univerzita Karlova, Praha.
- Walzem F, Kilsen R, Kerpan I. 2020. *Lékařská mikrobiologie III: Imunitní systém*. Cambridge Stanford Books, Cambridge.
- Xie J, Huang L, Hu W, He Y, Wong K. 2010. Analysis of the Main Nucleosides in *Cordyceps Sinensis* by LC/ESI-MS. *Molecules* **15**:305-314.
- Zhao F, Qui X, Ye N, Qian J, Wang D, Zhou P, Chen M. 2018. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with quadrupoleorbitrap ultra high resolution mass spectrometry to quantitate nucleobases, nucleosides, and nucleotides during white tea withering process. *Food Chemistry* **266**:343-349.

