

Обмен нуклеотидов

Дисциплина: биохимия (С2.Б.4)

Специальность: 31.05.01 лечебное дело

НГМУ, кафедра медицинской химии

Д.б.н., доцент Суменкова Дина Валерьевна

Лекция 16. Обмен нуклеотидов

- Нуклеотиды и их производные выполняют многообразные функции в организме человека: участвуют в синтезе нуклеиновых кислот, нуклеотидных коферментов (NAD, NADP, FAD, FMN), участвуют в образовании активных форм углеводов (УДФ-глюкоза), аминокислот (SAM), «энергетических молекул» (АТФ, ГТФ), участвуют в передаче сигнала гормонов в клетку (цАМФ, цГМФ).
- Нарушение процессов обмена нуклеотидов лежит в основе патогенеза некоторых заболеваний человека (подагра, мегалобластная анемия, иммунодефицитные состояния).
- В основе механизма действия ряда противовирусных и противоопухолевых препаратов лежит ингибирование процессов синтеза нуклеотидов.

- Образование фосфорибозилдифосфата (ФРДФ) – ключевой момент в синтезе нуклеотидов
- Синтез и катаболизм пуриновых нуклеотидов: ход процесса, регуляция, «запасные» пути синтеза. Нарушения обмена пуриновых нуклеотидов
- Синтез и катаболизм пиримидиновых нуклеотидов: ход процесса, регуляция, «запасные» пути синтеза. Нарушения обмена пиримидиновых нуклеотидов
- Образование дезоксирибонуклеотидов
- Синтез нуклеотидов – мишень действия лекарственных препаратов (задание для самостоятельной работы, см. слайд 38)

План лекции

Знать:

- Основные метаболические пути превращения пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов

Знания об обмене нуклеотидов необходимы для понимания:

- ✓ механизмов возникновения заболеваний, связанных с нарушением их синтеза и катаболизма
- ✓ механизма действия противоопухолевых и противовирусных лекарственных препаратов – ингибиторов синтеза нуклеотидов

- Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания
- Структура пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов
- Виды химических связей в нуклеотидах
- Роль нуклеотидов в организме человека

**Вспомните самостоятельно
из курса химии**

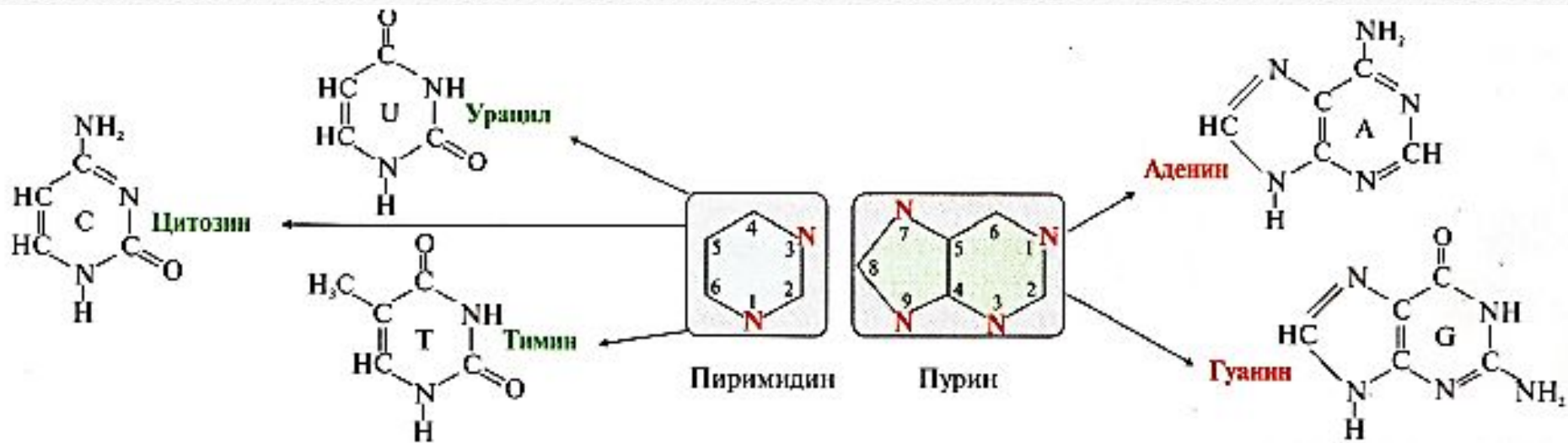
Компоненты нуклеотида:

- ❑ АЗОТИСТОЕ ОСНОВАНИЕ (АО) (циклические соединения, производные пурина или пиримидина)
- ❑ ПЕНТОЗА (рибоза или дезоксирибоза)
- ❑ ОСТАТОК ФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ (нуклеотид моно-, ди- или трифосфаты)

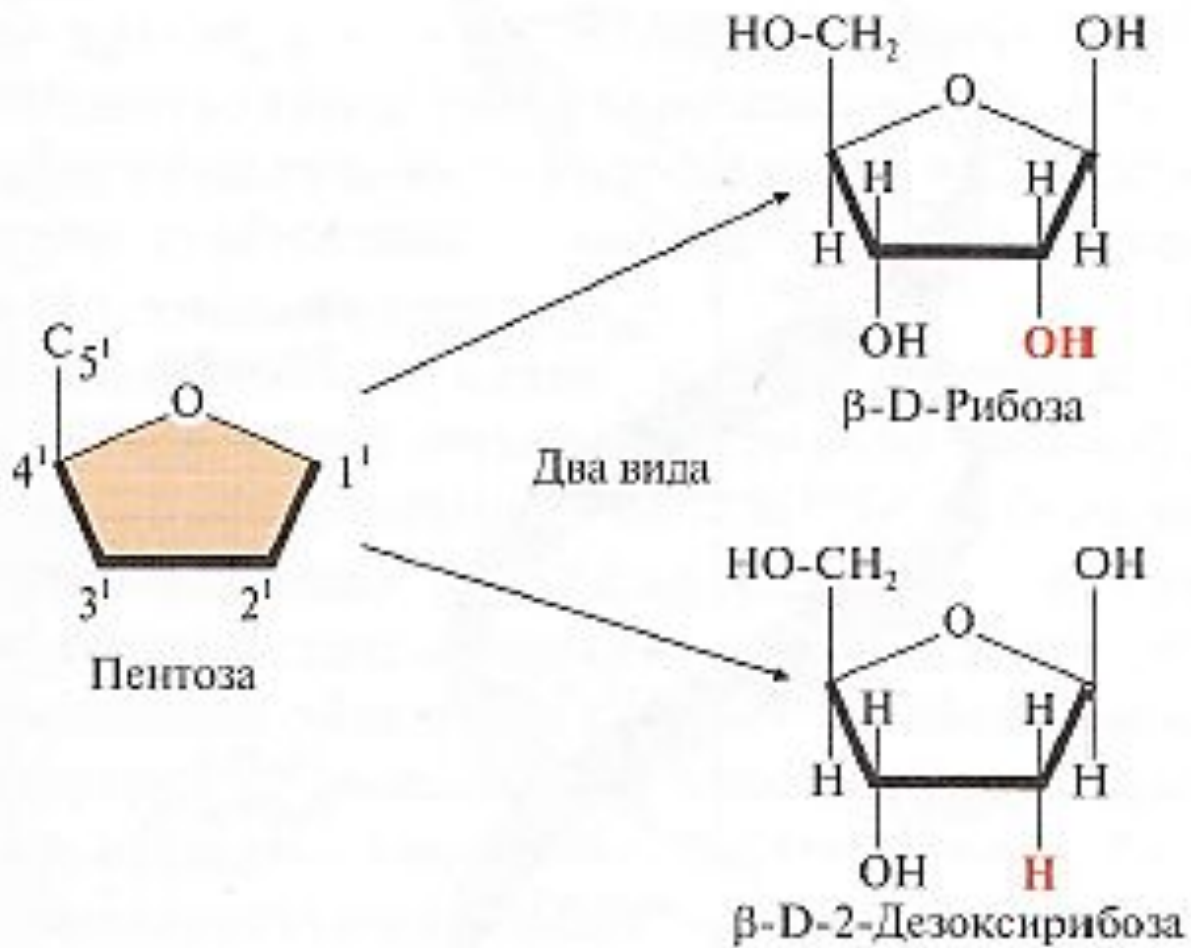
Виды химических связей между компонентами нуклеотида:

- N-гликозидная связь между АО (N_9 у пуриновых и N_1 у пиримидиновых) и пентозой ($1'$)
- 5'-фосфоэфирная связь между пентозой и фосфорной кислотой

Структура нуклеотида



Азотистые основания



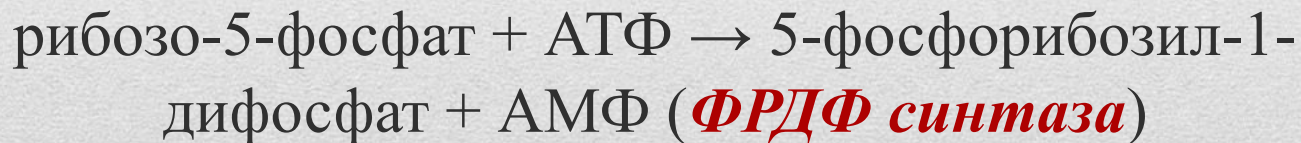
Пентозы

Почти все клетки способны к синтезу нуклеотидов.

Продукты расщепления нуклеиновых кислот тканей и пищи используются повторно в незначительной степени.

Образование ФРДФ – центральное место в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов

- Источник образования ФРДФ: рибозо-5-фосфат (продукт ПФП окисления глюкозы)



Образование фосфорибозилдифосфата (ФРДФ)

❑ Сборка пуринового гетероциклического основания осуществляется на ФРДФ при участии глицина, глутамина, аспартата, CO_2 и одноуглеродных производных N_4 -фолатов в цитозоле:

❑ формирование 5-членного кольца

❑ формирование 6-членного кольца

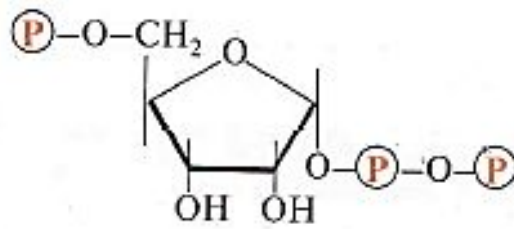
❑ образование первого пуринового нуклеотида — **инозинмонофосфата** (ИМФ)

Синтез ИМФ включает 10 стадий и требует затрат 6 АТФ

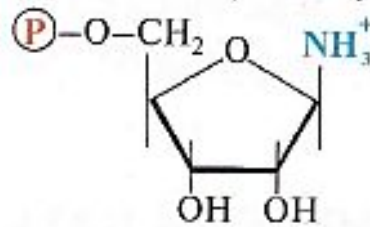
❑ образование **АМФ** и **ГМФ**

Синтез пуриновых нуклеотидов

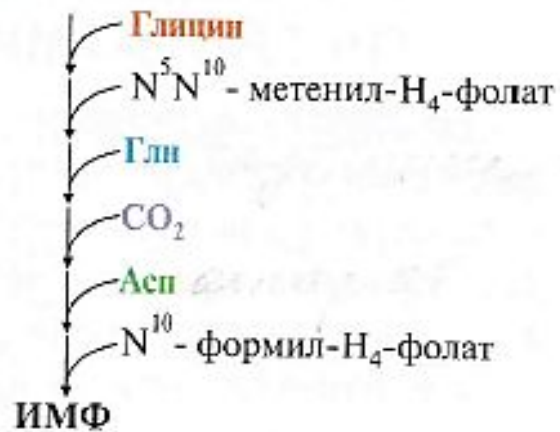
(см. схему синтеза на след. слайде)

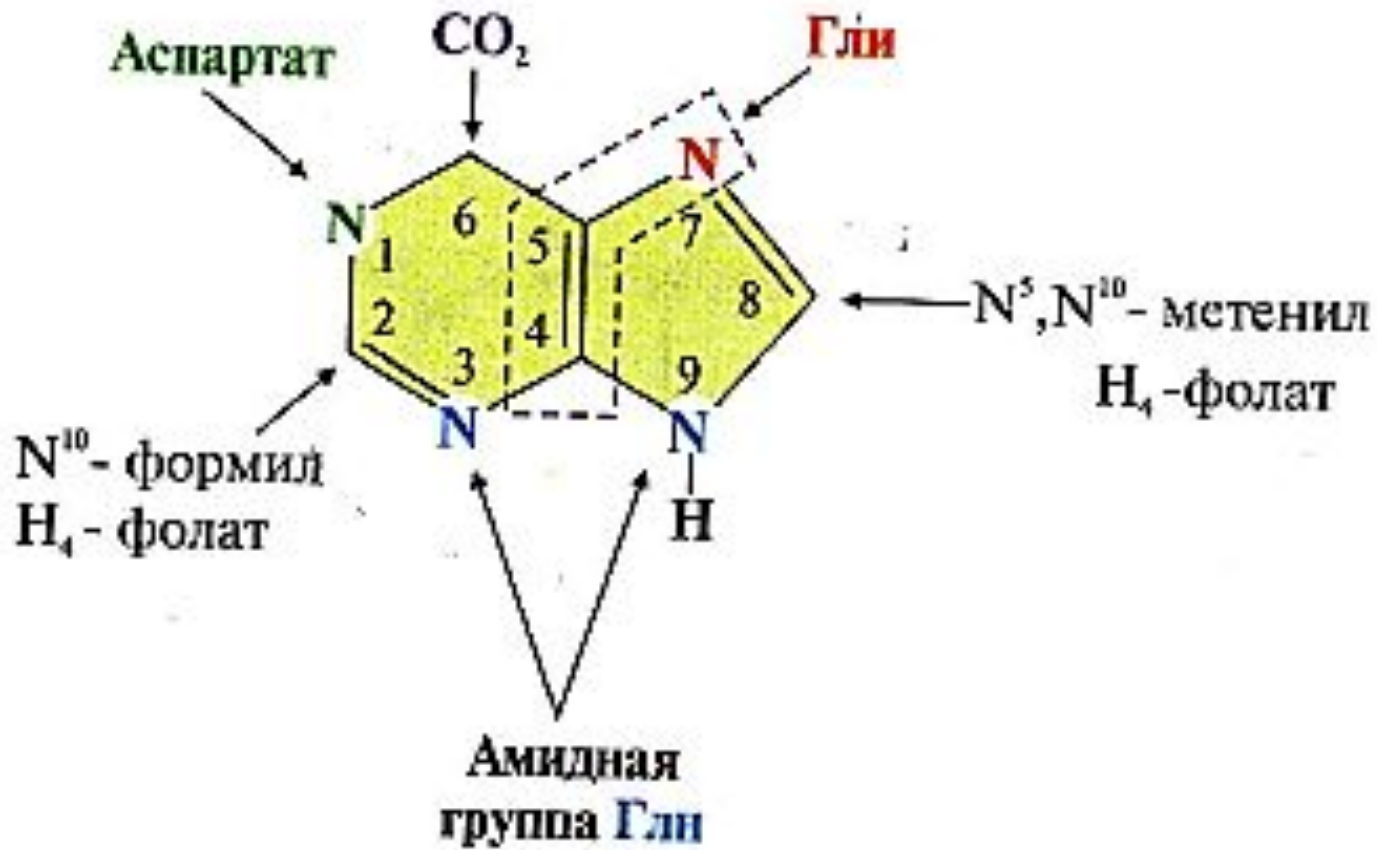


ФРДФ



5-Фосфорибозил-1-амин





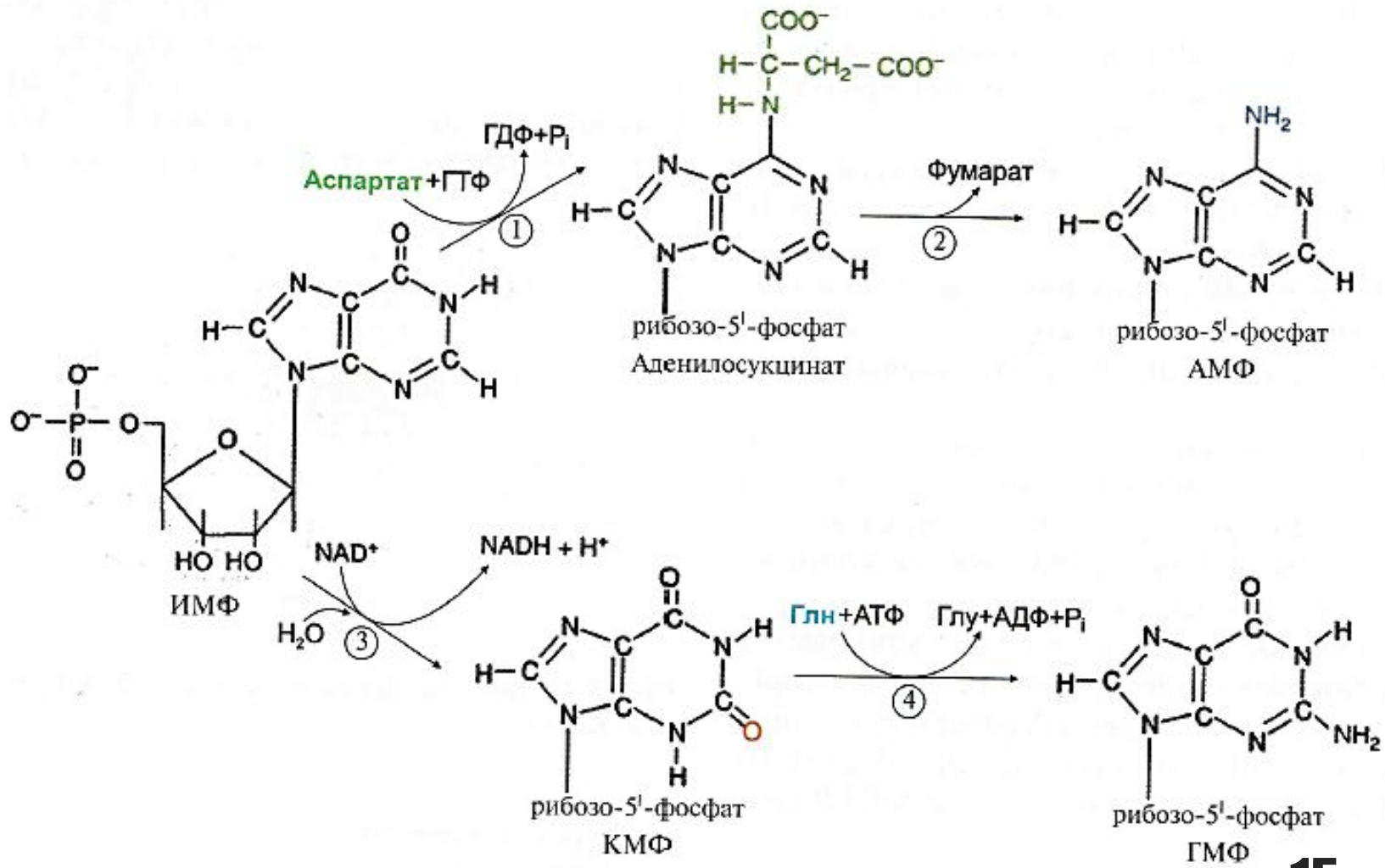
Происхождение атомов С и N в пуриновом основании

- В образовании АМФ из ИМФ участвует аспаргат
- В образовании ГМФ из ИМФ участвует глутамин

Схема реакций представлена на след. слайде.

- Нуклеозидди- и трифосфаты синтезируются при участии АТФ и киназ:
 - $\text{АМФ} + \text{АТФ} \leftrightarrow 2\text{АДФ}$ (*аденилаткиназа*)
 - $\text{ГМФ} + \text{АТФ} \rightarrow \text{ГДФ} + \text{АДФ}$ (*гуанилаткиназа*)
 - $\text{ГДФ} + \text{АТФ} \rightarrow \text{ГТФ} + \text{АДФ}$
- **Внимание!** Образование АТФ происходит путем субстратного (в процессе гликолиза, цикла Кребса) и окислительного (в процессе работы тканевого дыхания) фосфорилирования АДФ

Образование АМФ и ГМФ из ИМФ
Образование АДФ, ГДФ, ГТФ



В синтезе АМФ из ИМФ участвуют ферменты:

- 1 – *аденилосуццинатсинтетаза*
- 2 – *аденилосуцциназа*

В синтезе ГМФ из ИМФ участвуют ферменты:

- 3 – *ИМФ-дегидрогеназа*
- 4 – *ГМФ-синтетаза*

КМФ – ксантозин-5-монофосфат

**Ферменты синтеза АМФ и ГМФ:
подписи к схеме слайда 15.**

• **Аллостерические ферменты:**

□ *ФРДФ-синтаза*

□ *Амидофосфорибозилтрансфераза*

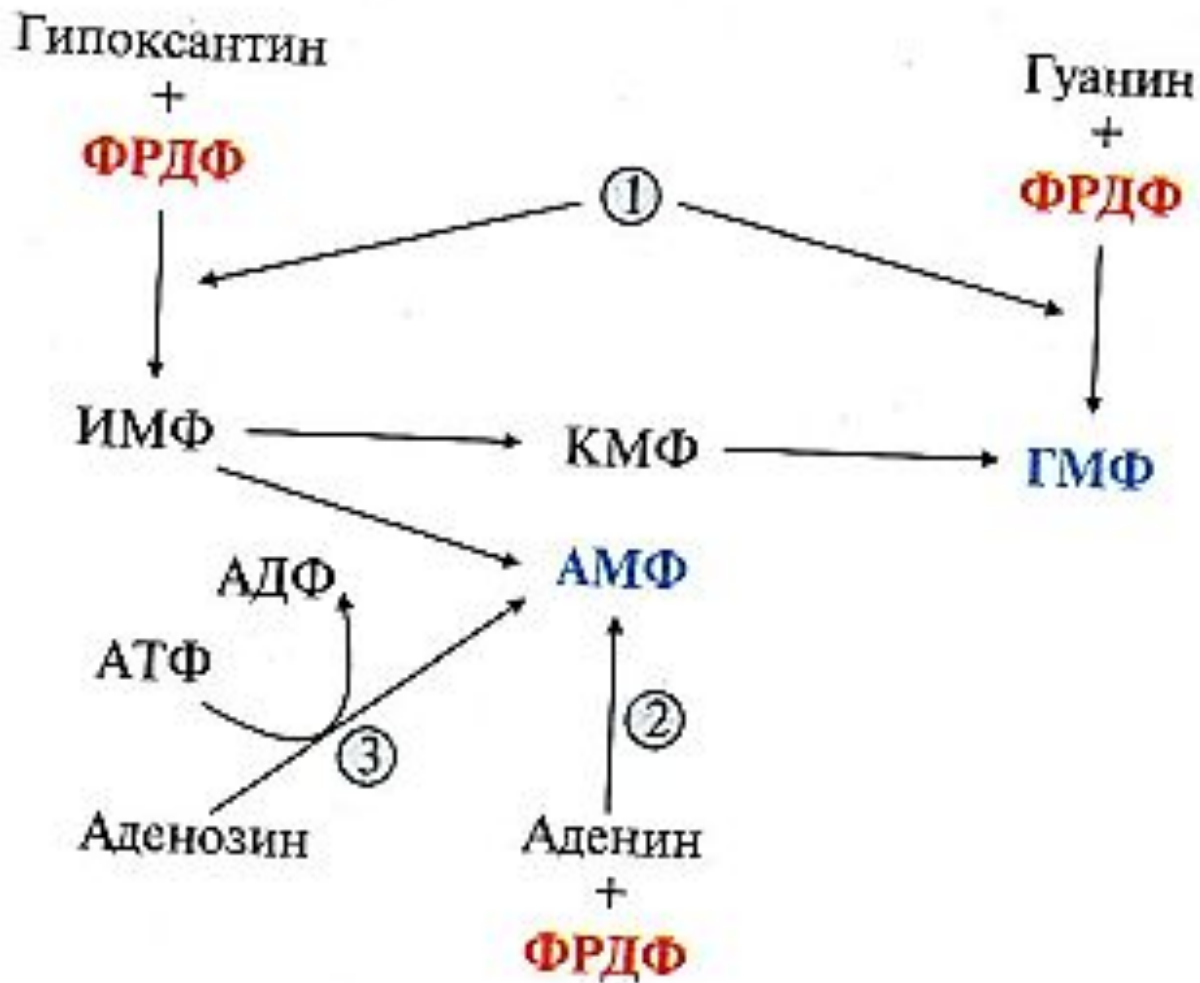
□ *ИМФ-дегидрогеназа*

□ *Аденилосукцинатсинтетаза*

Отрицательные эффекторы: АМФ, ГМФ

- В период активного роста тканей синтез пуриновых нуклеотидов из простых предшественников не способен полностью обеспечить нуклеиновые кислоты субстратами, поэтому в этих условиях важную роль играют запасные пути, или «пути спасения»
- Для синтеза нуклеотидов по «пути спасения» используются азотистые основания и нуклеозиды, образующиеся в процессе катаболизма нуклеиновых кислот

Запасные пути синтеза пуриновых нуклеотидов : «пути спасения»



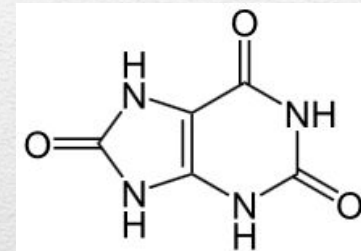
Пути спасения в синтезе пуриновых нуклеотидов

К слайду 19:

- 1 – *гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза*
- 2 – *аденинфосфорибозилтрансфераза*
- 3 - *аденозинкиназа*

**Ферменты «пути спасения» в
синтезе пуриновых нуклеотидов**

- Схема реакций катаболизма представлена на следующих слайдах
- Терминальный фермент катаболизма: **ксантиноксидаза** (аэробная дегидрогеназа); кофакторы: Fe^{3+} , Mo^{2+} , FAD
- **Конечный продукт: мочевая кислота**
 - ✓ образуется в основном в печени и кишечнике
 - ✓ выводится с мочой и через кишечник
 - ✓ слабая кислота: в биологических жидкостях находится в комплексе с белками или в виде натриевой соли (ураты)
 - ✓ в крови: 0,15 – 0,47 ммоль/л (3-7 мг/дл)
 - ✓ выводится в сутки: 0,4 – 0,6 г мочевой кислоты и уратов



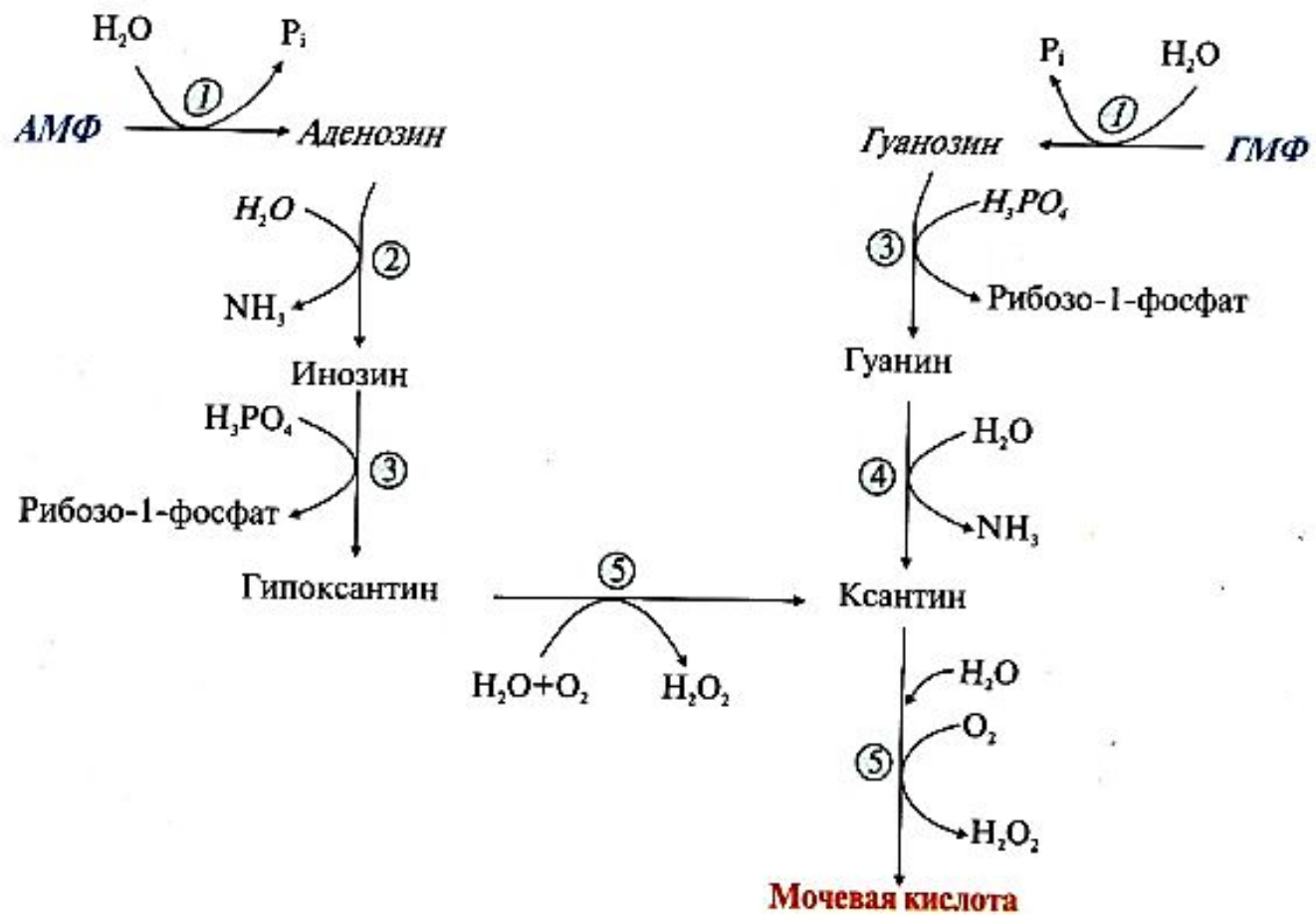


Схема реакций катаболизма пуриновых нуклеотидов

К слайду 22:

- 1 – *фосфатаза (нуклеотидаза)*
- 2 – *аденозиндезаминаза*
- 3 – *пуриннуклеозидфосфорилаза*
- 4 – *гуаназа*
- 5 – *ксантиноксидаза*

**Ферменты катаболизма пуриновых
нуклеотидов**

- **Причина: дефект генов ферментов**
- ✓ гиперактивация или устойчивость ФРДФ-синтазы к аллостерическим ингибиторам
- ✓ снижение активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (отсутствие активности вызывает тяжелое заболевание синдром Леша-Нихена, сопровождающееся психическими отклонениями)
- **Проявления: гиперурикемия**

Подагра (отложение мочевой кислоты в суставах)

Аллопуринол (лекарственный препарат) – структурный аналог гипоксантина - используется в лечении подагры.

Каков механизм действия препарата?

Катаболизм пуринов останавливается на стадии гипоксантина, который лучше растворяется в жидкостях организма, чем мочевая кислота.

Основные этапы синтеза:

- Формирование пиримидинового кольца (оротата) из глутамина, аспартата, CO_2
- Взаимодействие оротата с ФРДФ с образованием УМФ
- Фосфорилирование УМФ с образованием УТФ
- Образование ЦТФ из УТФ

- $\text{глутамин} + \text{CO}_2 + 2 \text{ АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{карбамоилфосфат} + 2 \text{ АДФ} + \text{P}_i$ (*карбамоилфосфатсинтетаза II*)
- присоединение аспартата (образование карбамоиласпартата), отщепление воды (образование циклического дигидрооротата)

Данные реакции катализирует мультиферментный комплекс **КАД-фермент**:

□ *карбамоилфосфатсинтетаза*

□ *аспартаттранскарбамоилаза*

□ *дигидрооротаза*

- окисление дигидрооротата при участии NAD-дегидрогеназы с образованием оротата
- реакция с ФРДФ: перенос фосфорибозила на оротат и декарбоксилирование оротидинфосфата с образованием УМФ (**УМФ-синтаза**: трансфераза и декарбоксилаза)

- Мутация в гене УМФ-синтазы приводит к нарушению образования УМФ из оротата и вызывает наследственное заболевание, которое сопровождается *оротацидурией*
- Клинические проявления: **мегалобластная анемия**, нарушение работы ЖКТ, сердца, интеллектуальной и двигательной активности
- Причина проявлений: «пиримидиновый голод», нарушение синтеза нуклеиновых кислот и деления клеток
- Для лечения применяют уридин или цитидин, которые используются в «запасных» путях синтеза УМФ и ЦМФ

□ Фосфорилирование УМФ: образование УТФ

- $\text{УМФ} + \text{АТФ} \rightarrow \text{УДФ} + \text{АДФ}$
- $\text{УДФ} + \text{АТФ} \rightarrow \text{УТФ} + \text{АДФ}$

Реакции катализируют *киназы*

□ Образование ЦТФ:

$\text{УТФ} + \text{глутамин} + \text{АТФ} \rightarrow \text{ЦТФ} + \text{глутамат} + \text{АДФ} + \text{H}_3\text{PO}_4$
(*ЦТФ синтетаза*)

**Фосфорилирование УМФ и
образование ЦТФ**

Аллостерическая регуляция по механизму отрицательной обратной связи:

- УТФ ингибирует КФС II в составе КАД-фермента
- УМФ и ЦМФ ингибируют УМФ-синтазу
- ЦТФ ингибирует ЦТФ-синтетазу

Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов

Запасные пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов не играют существенной роли:

- Урацил или Цитозин + ФРДФ \rightarrow УМФ или ЦМФ + РРi (*пиримидинфосфорибозилтрансфераза*)
- Урацил + рибозо-1-фосфат \rightarrow уридин + H_3PO_4 (*уридинфосфорилаза*)
- Уридин + АДФ \rightarrow УМФ + АДФ (*уридинкиназа*)

Запасные пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов

- Отщепление остатков фосфорной кислоты и рибозы (аналогично катаболизму пуриновых нуклеотидов)
- Пиримидиновые основания разрушаются ферментными системами: например

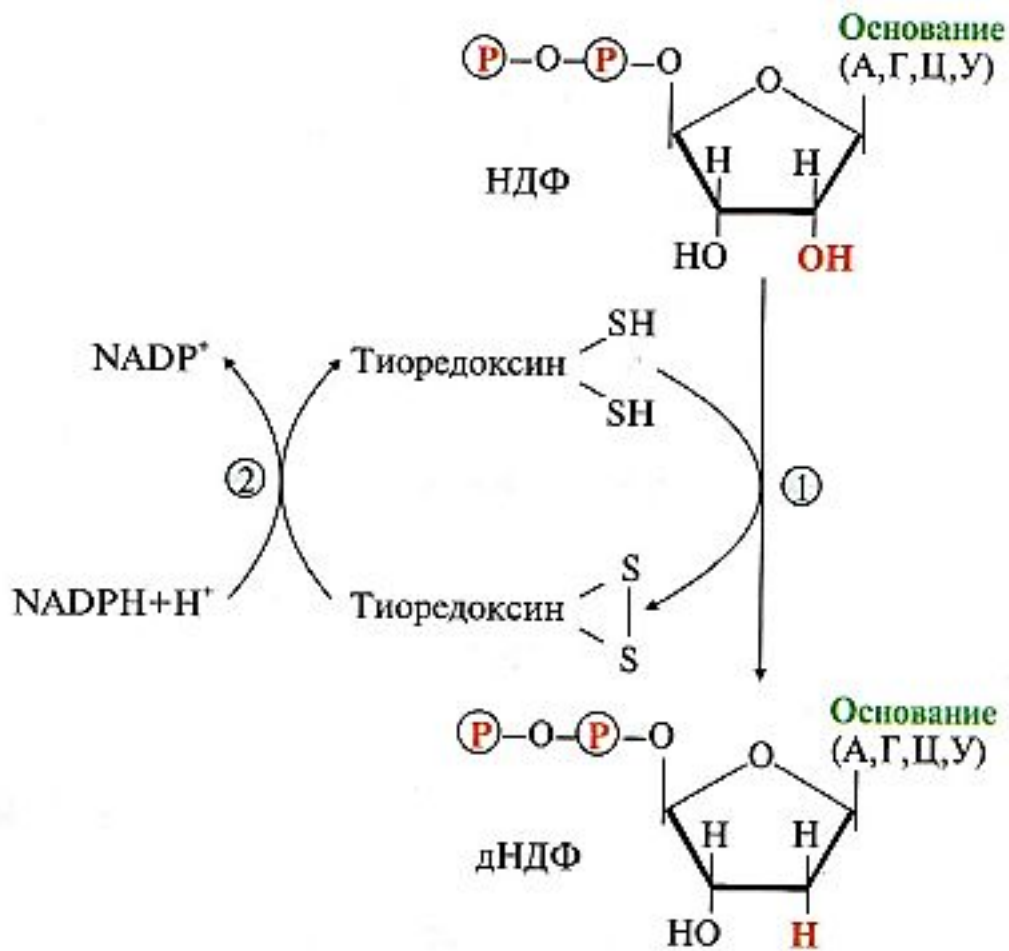


Конечные продукты – растворимы в воде

Бета-аланин включается в состав карнозина и ансерина (мышечные пептиды, антиоксиданты)

Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов

- Внутриклеточная концентрация дезоксирибонуклеотидов низкая
- Активность процесса их образования повышается перед делением клеток во время репликации
- ❑ Образование дНДФ (А, Г, Ц, У) из НДФ
- ❑ Образование дТМФ из дУМФ
 - 2 ферментных комплекса:
 - ❑ *Рибонуклеотидредуктаза (РНР)* (восстановление рибонуклеотидов с образованием дезоксипроизводных):
 - ✓ рибонуклеотидредуктаза
 - ✓ белок-восстановитель тиоредоксин
 - ✓ тиоредоксинредуктаза
 - ❑ *тимидилсинтаза*



«Работа» рибонуклеотидредуктазы

- Количество ферментов комплекса зависит от скорости синтеза ДНК (регуляция по механизму индукции)
- Аллостерическая регуляция:
 - Отрицательные эффекторы: дНТФ
 - дАТФ – ингибитор восстановления всех рибонуклеотидов
 - дГТФ – ингибитор восстановления пиримидиновых НДФ

Регуляция активности рибонуклеотидредуктазного комплекса

• **Возникают при ингибировании работы РНР-комплекса вследствие:**

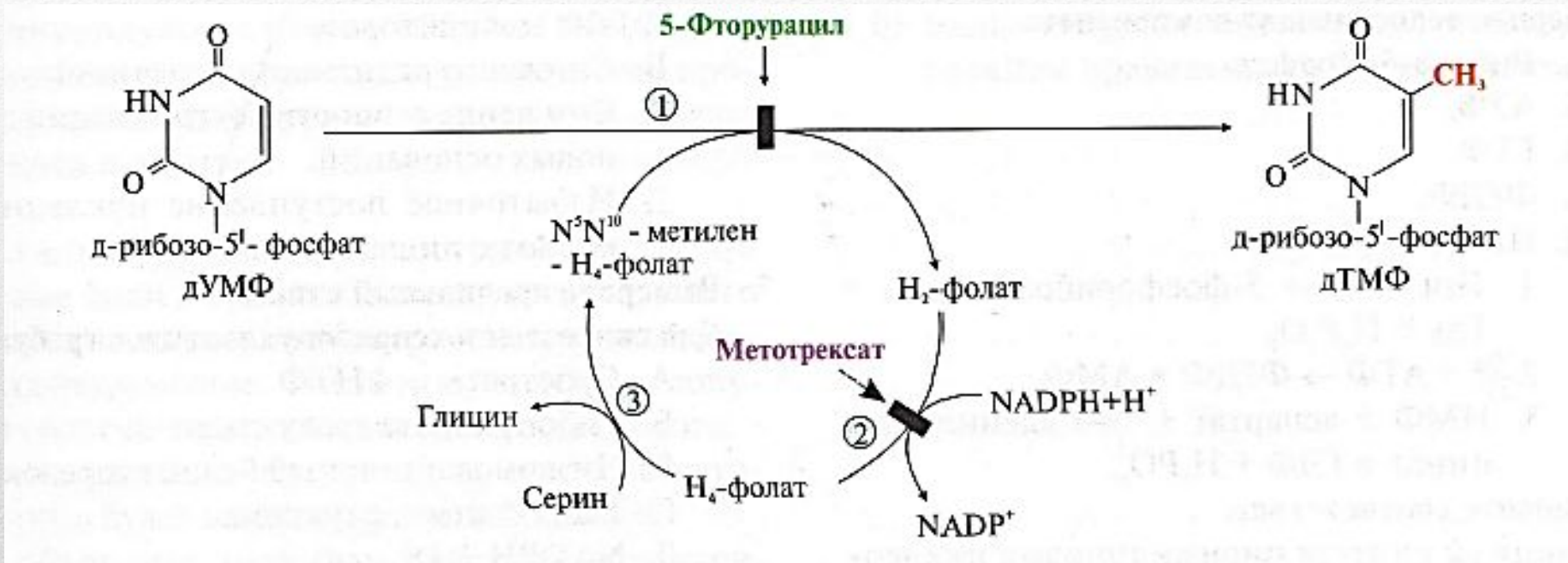
1) недостаточности аденозиндезаминазы (см. катаболизм АМФ)

В этом случае, накопление дАТФ приводит к ингибированию РНР и лишает клетки-предшественники В и Т-лимфоцитов образования дезоксирибонуклеотидов (пуриновых и пиримидиновых). Нарушается синтез ДНК, деление клеток. Возникают тяжелые формы клеточного и гуморального иммунодефицита. Дети погибают от частых инфекций.

2) недостаточность пурипнуклеозидфосфорилазы (см. катаболизм ГМФ)

В этом случае, накопление дГТФ приводит к ингибированию РНР и нарушению синтеза пиримидиновых дезоксирибонуклеотидов. Снижается клеточный иммунитет. Больные страдают частыми инфекционными заболеваниями.

Иммунодефициты



Тимидилсинтазный комплекс ферментов и его ингибирование фторурацилом и метотрексатом

Синтез тимидиловых нуклеотидов

36

- **Тимидилсинтаза** (включение одноуглеродного радикала в дУМФ)
 - **Дигидрофолатредуктаза**
 - **Сериноксиметилтрансфераза** (перенос оксиметильной группы с серина на N_4 -фолат с образованием метилен- N_4 -фолата)
- Запасные пути синтеза:
- Тимидин + АТФ \rightarrow дТМФ + АДФ (**тимидинкиназа**)

- Изучить информацию по теме: «Ферменты синтеза нуклеотидов – мишени действия противоопухолевых и противовирусных препаратов» (см. литературу)
- Составить таблицу (препарат – механизм действия – область применения) и охарактеризовать препараты: фторурацил, метотрексат, ацикловир, азидотимидин

- Большая часть используемых в клетках нуклеотидов синтезируется de novo из простых предшественников (с участием аминокислот, производных фолиевой кислоты). Центральное место в синтезе нуклеотидов занимает образование фосфорибозилдифосфата.
- «Запасные» пути синтеза (из имеющихся в клетке азотистых оснований и нуклеозидов) играют важную роль в образовании пуриновых нуклеотидов.
- Нарушение метаболизма пуриновых нуклеотидов лежит в основе патогенеза подагры, синдрома Леша-Нихена. Нарушение синтеза пиримидиновых нуклеотидов лежит в основе патогенеза мегалобластной анемии.
- Механизм действия ряда противовирусных и противоопухолевых лекарственных препаратов связан с нарушением синтеза нуклеотидов.

Заключение

- 1.** Биохимия: учебник для ВУЗов / Е. С. Северин -М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. -784 с. (раздел 10)
- 2.** Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / ред. С. Е. Северин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 624 с. (С. 476 – 495, для выполнения самостоятельной работы «Лекарственные препараты-ингибиторы синтеза нуклеотидов» см. С. 487)
- 3.** Биологическая химия: учебник для студентов медицинских вузов / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2007. – 568 с.