

Обмяна на нуклеотиди

Цели

Целите на преподавателя са: да се опишат пътищата за разграждане и синтеза на пуриновите и пиримидиновите нуклеотиди и се дадат примери за приложението на тези познания в медицината.

След работа с този раздел студентите ще могат да постигнат следните учебни цели:

А. Знания

1. Да дадат определение и примери за значението на следните пътища в нуклеотидната обмяна: синтеза и разграждане на пуринови нуклеотиди, синтеза и разграждане на пиримидинови нуклеотиди;
2. За пътищата на разграждане да пишат с формули химичните реакции и да посочат ензимите, които ги катализират;
3. Да представят с формули първите скорост-определящи реакции от синтеза на пуринови и пиримидинови нуклеотиди;

Б. Разбирания

1. Да обяснят кои са регулаторните ензими в синтеза на пуринови и пиримидинови нуклеотиди и какви фактори повлияват тяхната активност;
2. Да обяснят ролята на тетраhydrofolat и нейни производни за синтеза на нуклеотиди;
3. Да обяснят ролята на глутамин и S-аденозилметионин за синтеза на нуклеотиди;
4. Да обяснят как протича синтеза на дезоксирибонуклеотиди и каква е връзката на тази синтеза с пентозофосфатния път;
5. Да обяснят ролята на тимидилат синтетазата;
6. Да обяснят ролята на ФРФФ като възлов метаболит;
7. Да обяснят действието на антиметаболити като 6-меркаптопурин, 5-флуорурацил и др.;
8. Да обяснят действието на алопуринол за прекратяване на подагрена криза;

В. Умения

1. Да приложат познанията си върху повлияване на ензимното действие, за да илюстрират взаимовръзките и взаимното повлияване на пътищата за синтеза на нуклеотиди;
2. Да приложат познанията си върху синтеза на пиримидинови нуклеотиди и алостерично повлияване, за да предложат принципна схема за третиране на оротатурия;
3. Да решават клинични случаи, свързани с нарушения в нуклеотидната обмяна.

9.1. Резюме

Пуриновите нуклеотиди се разграждат в храносмилателния тракт от специфични нуклеотидази и неспецифични фосфатази до нуклеозиди. Върху последните действат нуклеотидази и пурииннуклеозид фосфорилаза. Адениновите нуклеотиди се дезаминират от аденозин дезаминаза и АМФ дезаминаза. Ксантин оксидаза катализира окислението на хипоксантин до ксантин и на ксантин до пикочна киселина. В човек пикочната киселина е краен продукт от разграждането на пуриновите нуклеотиди.

Пиримидиновите нуклеотиди се разграждат до лесно разтворимите продукти: CO_2 , NH_3 , β -аланин и β -аминоизобутират.

Пуриновите и пиримидиновите нуклеотиди се синтезират в два пътя:

- 1) Път "*de novo*" от нискомолекулни продукти;
- 2) Път от готови бази.

В пътя "*de novo*" пуриновият нуклеотид ИМФ се синтезира в 11 реакции. Изходен метаболит е рибозо-5-фосфат. Необходими са и аспартат, фумарат, глутамин, глицин и HCO_3^- и енергия под форма на АТФ. Регулаторни са първите два ензима: фосфорибозилпирофосфат синтетазата (ФРФФ синтетазата, синоним: рибозофосфат пирофосфокиназа) и ФРФФ amidотрансфераза.

Главният регулаторен ензим в пътя *de novo* е ФРФФ глутамил amidотрансферазата. Този ензим се инхибира алостерично както от АМФ, АДФ, АТФ, така и от ГМФ, ГДФ, ГТФ, а се активира алостерично от ФРФФ. Другият регулаторен ензим е ФРФФ синтетазата. Той се инхибира алостерично от АДФ и ГДФ.

В пътя от готови бази участват ензимите аденин фосфорибозилтрансфераза и гуанин/хипоксантин фосфорибозил трансфераза.

Пиримидиновият нуклеотид УМФ се синтезира в 6 реакции в пътя *de novo*. За различните етапи на синтезата са необходими глутамин, HCO_3^- , аспартат, 5-фосфорибозил пирофосфат (ФРФФ) и енергия под форма на АТФ. УМФ се превръща в УТФ и ЦТФ чрез фосфорилиране и аминиране. В животни регулаторен ензим е карбамилфосфат синтетазата II. Карбамил фосфат синтетазата II, катализираща първата реакция в синтезата на пиримидиновите нуклеотиди, се инхибира от УТФ, но се активира от ФРФФ. Втората реакция, катализирана от аспартат транскарбамилазата, се инхибира алостерично от ЦТФ и се активира от АТФ.

Дезоксирибонуклеозид дифосфатите се синтезират от съответните нуклеозид дифосфати под действие на рибонуклеотид редуктаза, която съдържа Fe и няколко активни $-\text{SH}$ групи, за регенериране на които е необходим тиоредоксин или глутаредоксин. Рибонуклеотид редуктазата се регулира алостерично, което осигурява адекватни количества от дезоксирибонуклеотиди за синтезата на ДНК.

Тимидилат синтазата катализира синтезата на дТМФ от дУМФ. Получаващият се успоредно с това дихидрофолат се превръща в тетраhydroфолат под действие на дихидрофолат редуктаза.

Общи метаболити за синтезата на пуринови и пиримидинови нуклеотиди са глутамин, аспартат, CO_2 , различни производни на тетраhydroфолат и ФРФФ. ФРФФ е особено важен общ метаболит. Той участва както в синтезите *de novo*, така и в синтезите от готови бази при пуриновите и пиримидиновите нуклеотиди. ФРФФ участва и в синтезата на никотинамидните редокс-системи. Освен като субстрат, той е алостеричен активатор на главните регулаторни ензими в синтезата на пуринови и пиримидинови нуклеотиди, а именно фосфорибозил amidотрансферазата и карбамилфосфат синтетазата II.

Дадени са примери за ензимни дефекти в обмяната на пуриновите нуклеотиди, предизвикващи подагра и синдром на Lesch-Nihan. Като пример за дефект в обмяната на пиримидиновите нуклеотиди е разгледана оротатурия. Структурни аналози на азотните бази или на тетраhydrofolat, необходим за синтезата на нуклеотидите, се използват за третиране на инфекции и злокачествен растеж.

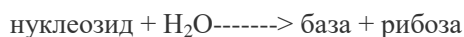
9.2. Обмяна на пуринови нуклеотиди

9.2.1. Разграждане на пуринови нуклеотиди

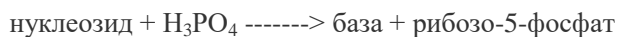
Постъпилите с храната нуклеинови киселини се разграждат в червата до нуклеотиди под действие на панкреатични нуклеази и чревни фосфодиестерази. Нуклеотидите са заредени и не могат да преминат през мембраните на чревните клетки. Нуклеотидите се хидролизират до нуклеозиди от различни специфични нуклеотидази и неспецифични фосфатази.

Нуклеозидите могат да бъдат абсорбирани от чревната мукоза или да продължат да се разграждат в червата под действие на нуклеозидази или нуклеозид-фосфорилази:

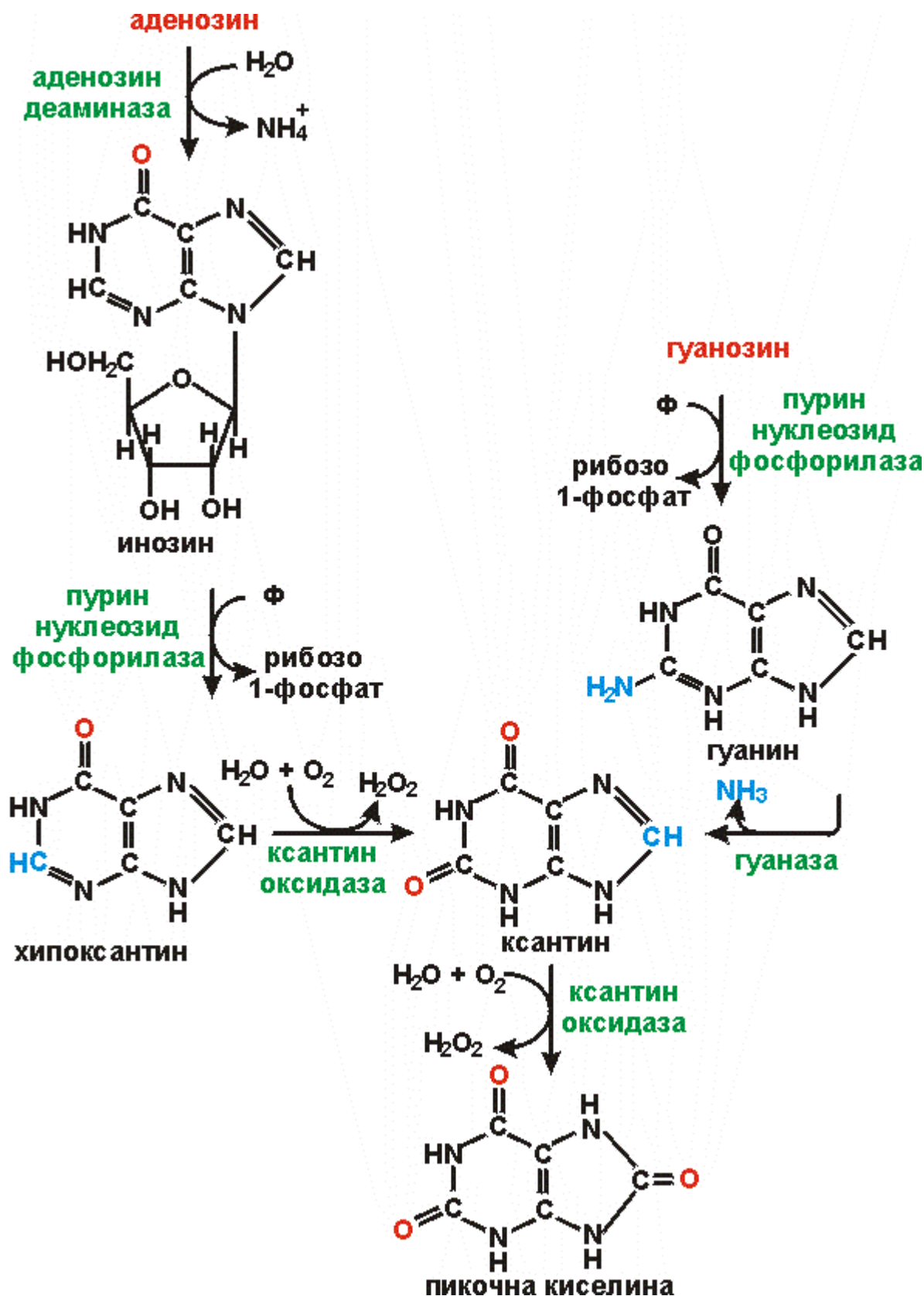
нуклеозидаза



нуклеозид фосфорилаза



Само малка част от получените с храната или от разграждане на нуклеинови киселини бази се включват в нуклеиновите киселини. По-голямата част от тях се разгражда. На фиг. 9-1 е представен катаболизма на пуриновите нуклеозиди в клетките.



Фиг. 9-1. Разграждане на пуринови нуклеозиди.

Гуанозин се разгражда от пурипнуклеозид фосфорилаза до гуанин и рибозо-5-фосфат. Гуанинът се дезаминара до ксантин под действие на гуаназа (синоним: гуаниндеаминаза).

Аденозин и деоксиаденозин не се разграждат от пурииннуклеозид фосфорилазата. АМФ и аденозин се дезаминират от АМФ дезаминаза и аденозин дезаминаза, съответно до инозинмонофосфат (ИМФ) и инозин. Инозин се дезаминира до хипоксантин под действие на пурииннуклеозид фосфорилазата.

Хипоксантин се окислява до ксантин, а ксантин до пикочна киселина под действие на един и същи ензим, наречен ксантин оксидаза. Този сложно устроен димерен ензим се намира само в черния дроб и в мукозата на тънките черва. Съдържа няколко редокс-центрове - ФАД, молибден с валентност, която се мени от IV в VI и обратно, и два различни Fe-S кластери. Отнетият от субстратите водород се предава директно на кислород. Получава се токсичния H_2O_2 , който се обезврежда до H_2O и O_2 под действие на каталаза.

В други видове пикочната киселина може да продължи да се разгражда. В човека и приматите крайният продукт е пикочна киселина, която се изхвърля с урината.

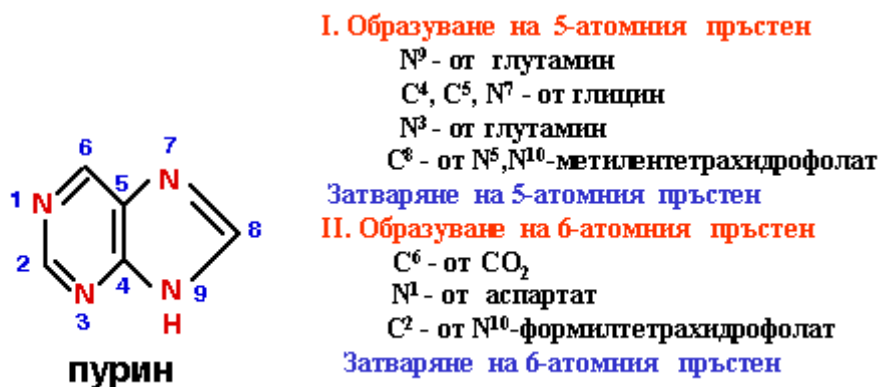
Пикочната киселина има много ниска разтворимост. Повишената концентрация на пикочна киселина е признак на заболяването подагра. Отлагането на кристали от пикочна киселина или натриев урат при подагрена криза в ставите или в бъбреците и пикочните пътища е изключително болезнено. За прекратяване на подагрена криза ефикасно действа алопуринол, който е много близък структурен аналог на хипоксантин и инхибира ксантин оксидазата.

9.2.2. Общ поглед върху синтеза на пуринови нуклеотиди по пътя *de novo*

Изследванията на John Buchanan с изотопно белязани съединения в храната на гъльби очертаха произхода на съставните атоми на пуриновия пръстен (фиг. 2). Азотните атоми на трета и девета позиция идват от глутамин. C^4 , C^5 и N^7 са от глицин. C^8 и C^2 идват като едновъглеродно-атомни отломки, носени от производни на тетраhydroфолат. C^6 е от CO_2 , а N^1 - от аспаргат.

Химичните реакции и точната им последователност са изяснени пак от Buchanan и Robert Greenberg. Интересното в тази синтеза, че не се получава първо свободна база, и после нуклеозид и нуклеотид, а върху рибозо-5-фосфат постепенно се добавят атоми или групи атоми до изграждане на цялостен нуклеотид. Първо се изгражда петатомният пръстен в следния ред: към рибозо-фосфат се присъединява N^9 , след това C^4 , C^5 и N^7 , N^3 и накрая C^8 , след което се затваря петатомният пръстен.

След това се добавя C^6 , N^1 , C^2 и се затваря шестатомният пръстен. С това завършва синтеза на първия пуринов нуклеотид инозинмонофосфат (ИМФ).



Фиг. 9-2. Произход на съставните атоми на пуриновия пръстен.

Нивата на ФРФФ са ниски в почиващи или неделящи се клетки, но се увеличават бързо по време на клетъчно делене.

9.2.3. Химични реакции в синтеза на инозин монофосфат по пътя *de novo*

На фиг. 9-3 са представени началните реакции от сложната синтеза на ИМФ, която протича в 11 реакции:

1. активиране на рибозо-5-фосфат до 5-фосфорибозил пирофосфат (ФРФФ);
2. получаване на 5-фосфорибозиламин (прибавяне на N⁹);
3. получаване на глицинамидриботид (прибавяне на атоми C⁴, C⁵ и N⁷);
4. получаване на формилглицинамидриботид (прибавяне на C⁸);
5. получаване на формилглицинамидинриботид (прибавяне на N³);
6. получаване на 5-аминоимидазолриботид (затваряне на имидазоловия пръстен);
7. получаване на карбоксиаминоимидазолриботид (добавяне на C⁶);
8. получаване на 5-аминоимидазол-4-(N-сукцинилкарбоксамид)риботид (добавяне на N¹);
9. получаване на 5-аминоимидазол-4-карбоксамидриботид (отделяне на фумарат);
10. получаване на 5-формаиноимидазол-4-карбоксамидриботид (добавяне на C²);
11. затваряне на пуриновия пръстен (отделяне на вода)

Първите две са скорост-определящи за цялата синтеза.

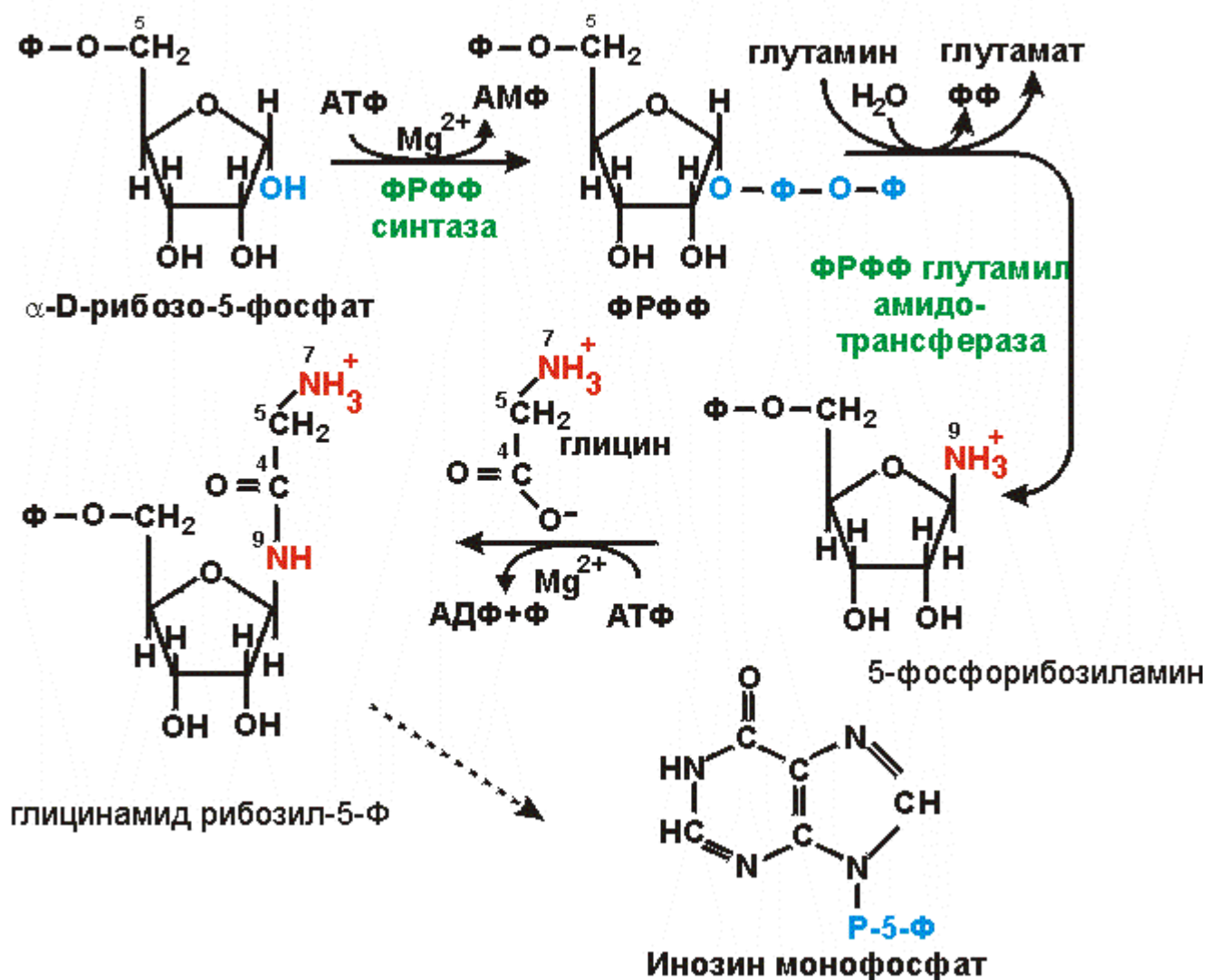
Субстрат за първата реакция е рибозо-5-фосфат, получаван в пентозо-фосфатния път. Фосфорибозилпирофосфат синтезата (рибозо-фосфат пирофосфокиназа) активира рибозо-5-фосфат с АТФ до 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРФФ). ФРФФ е предшественик и за синтеза на пиримидинови нуклеотиди, а също и на аминокиселините хистидин и триптофан. Именно поради това, че ФРФФ синтезата действа в такъв важен кръстовищен пункт, тя е стриктно регулирана.

Вторият ензим глутамин-ФРФФ амидотрансферазата или амидофосфорибозил трансфераза е главният регулаторен ензим за тази синтеза. Той катализира изместването на пирофосфатната група от amidния азот на глутамин. Получава се 5-фосфорибозиламин, в който азотният атом е N⁹ от бъдещия нуклеотид.

В следващия етап към този атом се присъединява глицин и така едновременно се добавят C⁴, C⁵ и N⁷.

Крайната реакция в тази верига е затваряне на шестатомния пръстен, при което се получава ИМФ. Синтезата е силно ендергонична - изразходват се 6 молекули АТФ за получаване на 2 молекула ИМФ.

Синтеза на пуринови нуклеотиди



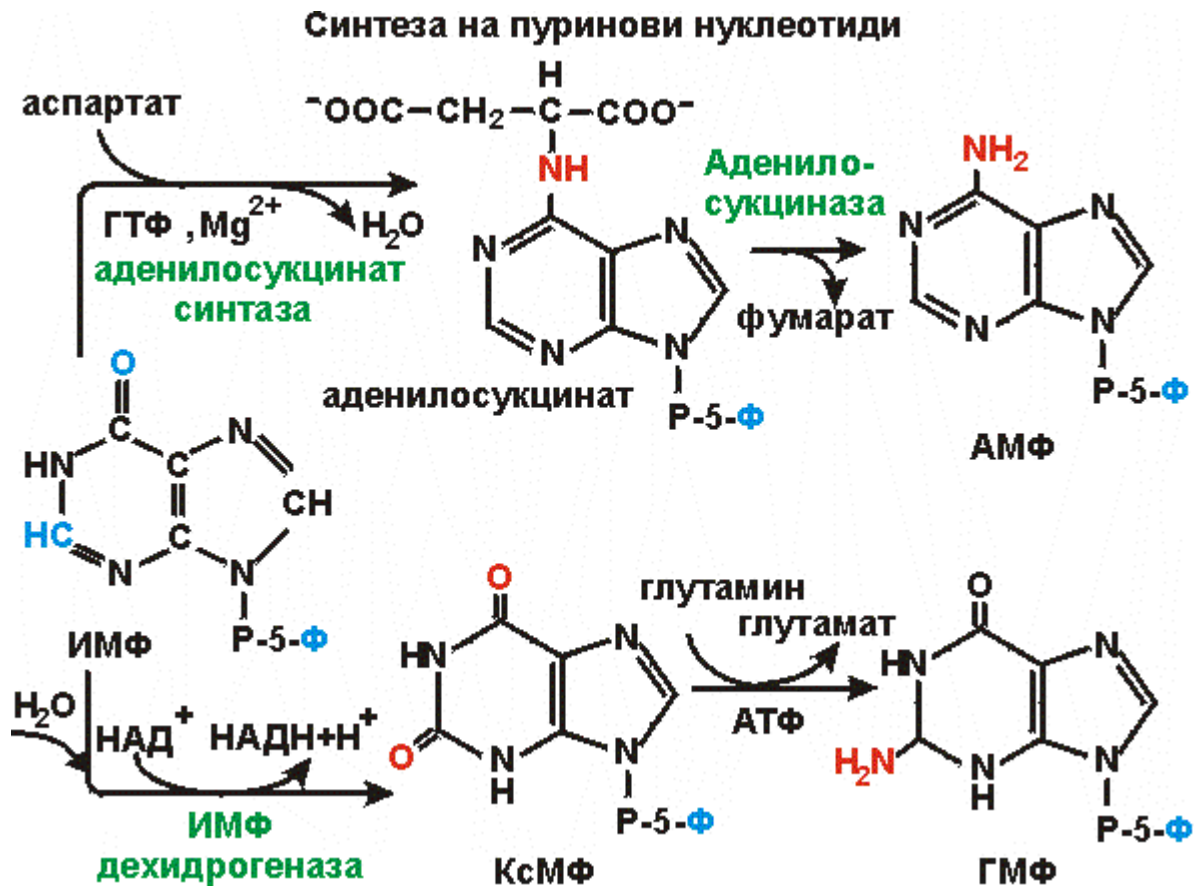
Фиг. 9-3. Начални реакции от синтеза на ИМФ от рибозо-5-фосфат.

9.2.4. Синтеза на аденозин монофосфат и гуанозин монофосфат от инозин монофосфат

ИМФ не се натрупва в клетката, а се превръща в АМФ и ГМФ чрез две реакции за всеки от тях (фиг. 9-4).

При синтеза на АМФ към ИМФ първо се присъединява аминогрупата на аспартат. Реакцията се осигурява енергетично от разграждане на ГТФ до ГДФ и P_i . Получава се аденилосукцинат. От него под действие на аденилосукциназа (аденилосукцинат лиаза) се отделя фумарат и се получава АМФ.

За получаване на ГМФ първо ИМФ се дехидрогенира с $НАД^+$ под действие на ИМФ дехидрогеназа до ксантозин монофосфат (КсМФ). След това КсМФ се превръща в ГМФ под действие на ГМФ синтаза. Ензимът пренася глутаминовата амидна група върху ксантиновата база. Реакцията се осигурява от разграждането на АТФ до АМФ и P_i . P_i се разгражда до неорганичен фосфат.

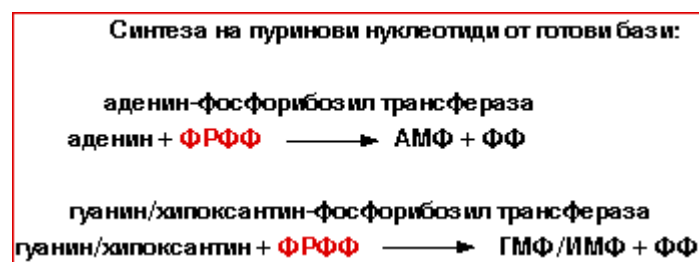


Фиг. 9-4. Синтеза на АМФ и ГМФ от ИМФ.

В бактерии ензимите за синтеза на пуринови нуклеотиди са отделни белтъци. В животни и хора, поради сливане на гени, една полипептидна верига катализира реакции 3,4 и 6, изброени в т. 9.2.3. Също една верига катализира реакции 7-8 и друга верига катализира реакции 10-11, изброени в т. 9.2.3. Това обединяване на ензимни активности в една верига осигурява предимства по отношение скоростта на синтезата и неотклонение на междинни метаболити в други пътища.

9.2.5. Синтеза на пуринови нуклеотиди от готови бази

Част от пуриновите бази, получени при разграждане на нуклеинови киселини, могат да превърнат в съответните нуклеотиди. В бозайниците това става с участието на два ензима: аденин ФРФФ трансфераза и гуанин/хипоксантин ФРФФ трансфераза (фиг. 9-5). Вторият ензим може да действа с два субстрата - гуанин и хипоксантин..

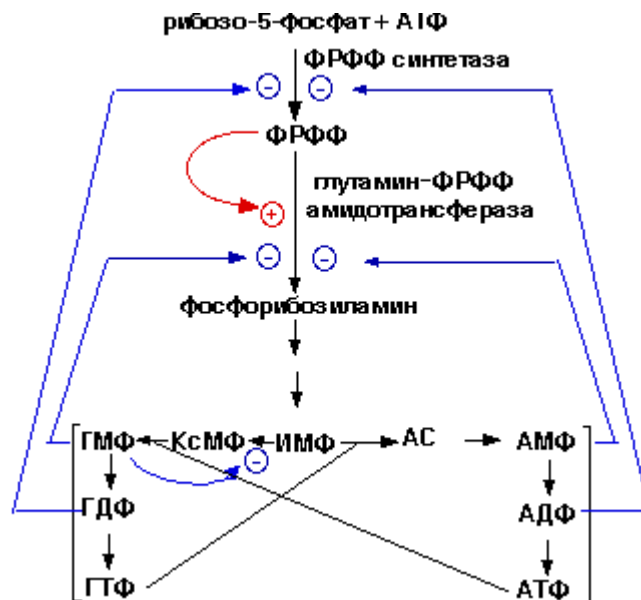


Фиг. 9-5. Превръщане на свободните бази аденин и гуанин/хипоксантин в нуклеотидите АМФ и ГМФ/ИМФ, съответно.

Този път първоначално е бил смятан за второстепенен спрямо пътя *de novo*. Но факта, че при недостатъчност на гуанин/хипоксантин ФРФФ трансферазата се проявяват заболявания като подагра и синдром на Леш-Нихан (вж т.9.4.1.) показва, че този път също има важно значение за обмяната на пуриновите нуклеотиди (виж . 9.3.3).

9.2.6. Регулация на биосинтезата на пуринови нуклеотиди

За да се осигури необходимото количество от пуринови нуклеотиди за синтеза на нуклеинови киселини, пътищата за тяхната синтеза се регулират в няколко етапа (фиг. 9-6).



Фиг. 9-6. Контрол върху синтеза на пуринови нуклеотиди.

Главният регулаторен ензим в пътя *de novo* е глутамин-ФРФФ амидотрансферазата. Този ензим се инхибира алостерично както от АМФ, АДФ, АТФ, така и от ГМФ, ГДФ, ГТФ. В ензима има два различни алостерични центрове - за адениловите и за гуаниловите нуклеотиди. По този начин скоростта на синтеза на АМФ е независимо, но синергично контролирана от нивата на адениловите и гуаниловите нуклеотиди. Освен това този ензим се активира алостерично от единия от своите субстрати - ФРФФ.

Другият регулаторен ензим е ФРФФ синтетазата. Той се инхибира алостерично от АДФ и ГДФ.

АМФ и ГМФ са конкурентни инхибитори спрямо ИМФ и така всеки потиска собствената си синтеза, което не позволява излишно натрупване на тези продукти.

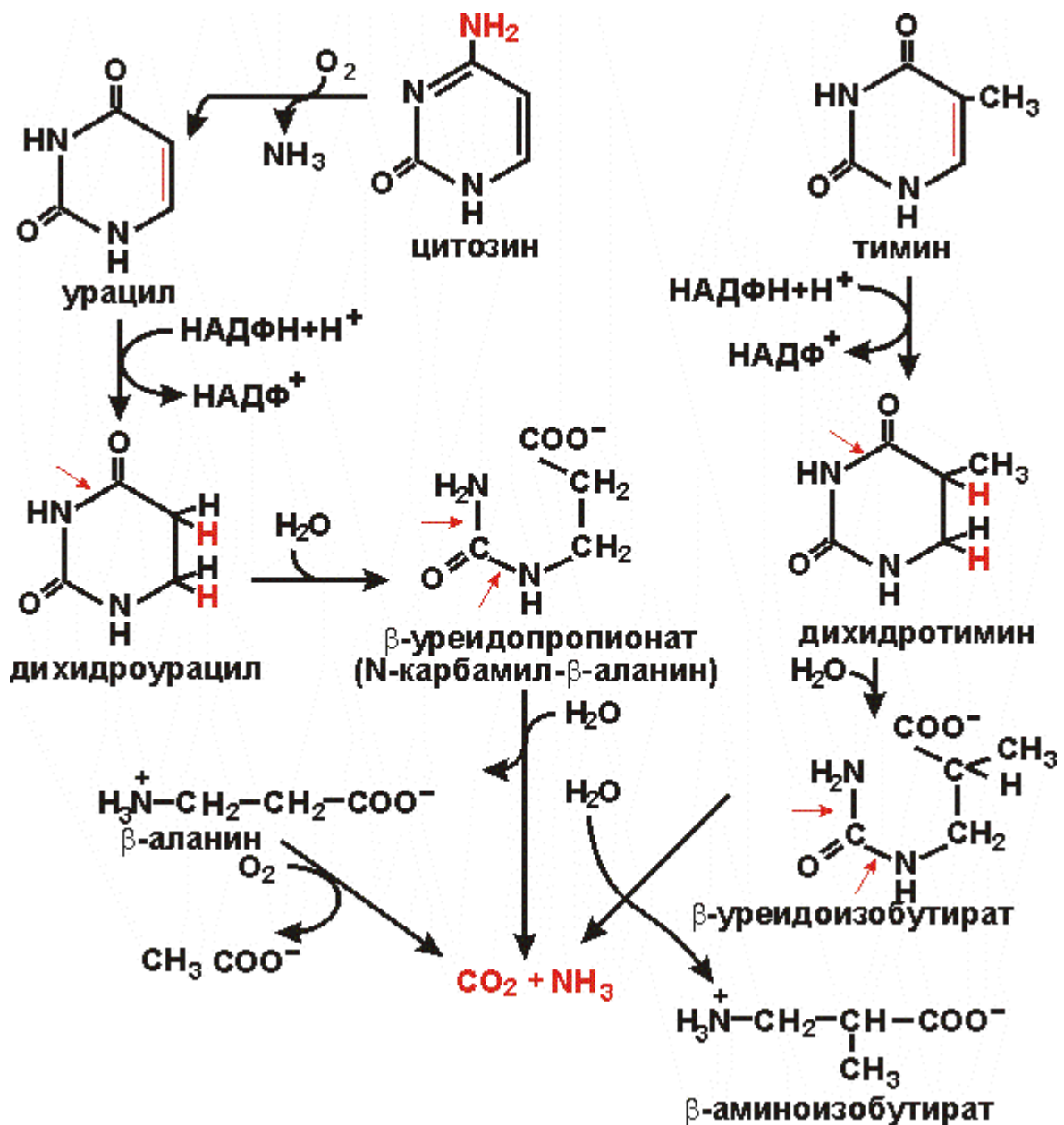
Освен това синтезите на АМФ и ГМФ са координирани. Както бе показано в т. 9.2.4 на фиг. 9-4, синтеза на АМФ се осигурява енергетично от ГТФ, синтеза на ГМФ се осигурява енергетично от АТФ. Скоростта на синтеза на АМФ се увеличава при увеличена концентрация на ГТФ, а синтеза на ГМФ се увеличава при увеличена концентрация на АТФ. Тази реципрочност осигурява синтеза на приблизително равни количества от АМФ и ГМФ.

9.3. Обмяна на пиримидинови нуклеотиди

9.3.1. Разграждане на пиримидинови нуклеотиди

Както пуриновите, така и пиримидиновите нуклеотиди първо се дефосфорилират под действие на нуклеотидази до нуклеозиди. Цитидин дезаминаза превръща цитидин в уридин. Уридин фосфорилаза разкъсва N-гликозидната връзка в уридин и тимидин, при което си получават базите урацил и тимин. Тяхното разграждане е представено на фиг. 9-7. Дезаминирането може да протече и на ниво бази, т.е. цитозин може да се дезаминира до урацил.

За разлика от окислителните реакции при разграждане на пуриновите бази, базите урацил и тимин се разграждат в черния дроб чрез редукция - получават се дихидроурацил и дихидротимин. При тяхното хидратиране се получава β -уреидопропионат и β -уреидоизобутират. От тези продукти, с участието на нова молекула вода, се отделя амоняк и CO_2 и се получава β -аланин и β -аминоизобутират.



Фиг. 9-7. Разграждане на пиримидинови бази.

β -Аланин може да се разгради до ацетат, CO_2 и амоняк или чрез трансаминиране и окисление да даде малонил-КоА, който може да си използва за синтеза на мастни киселини.

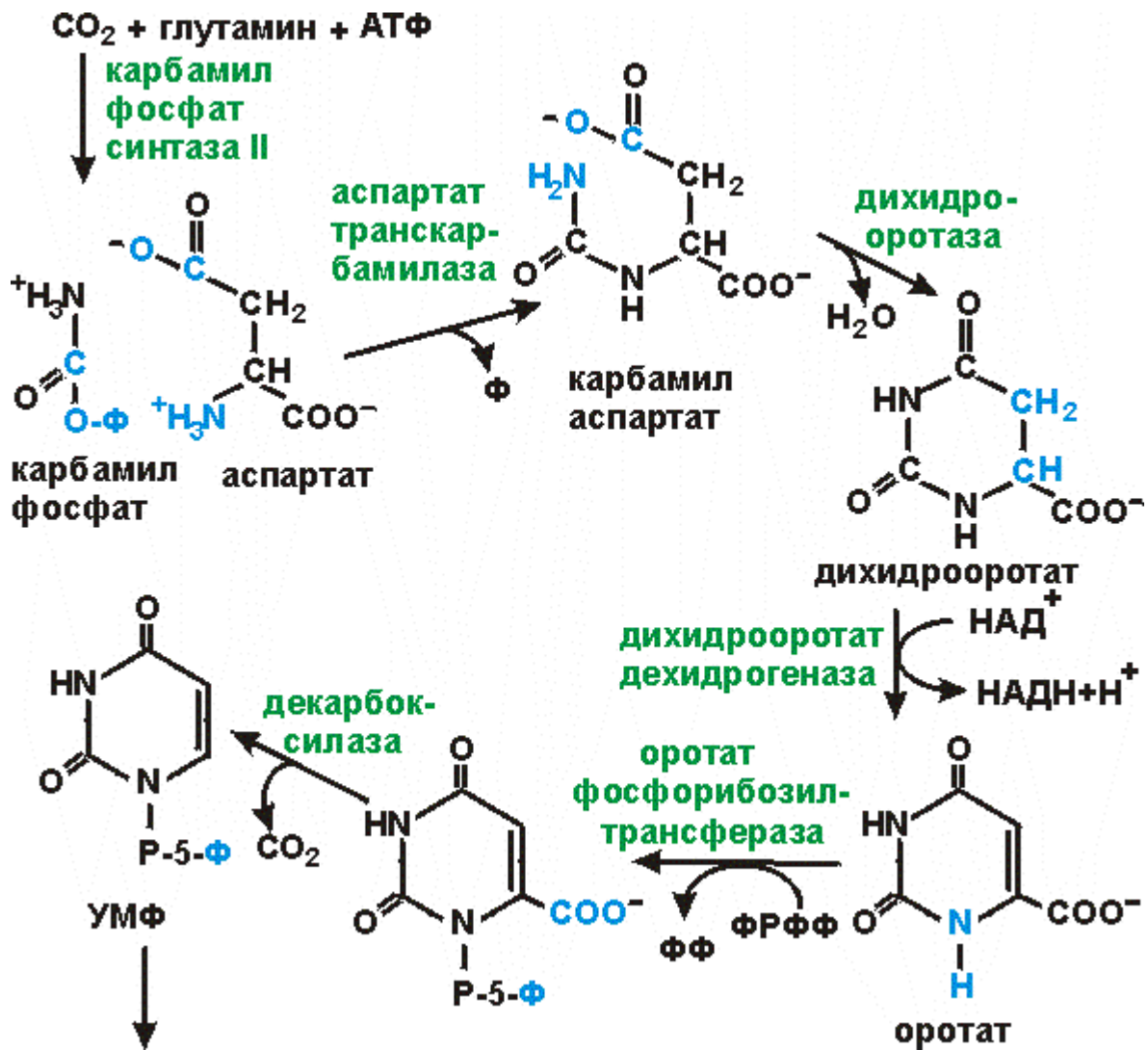
От β -аминоизобутират може да се получи метилмалонил-КоА, който се превръща в сукцинил-КоА. Последният може да се използва за енергия в цитратния цикъл. Така, макар и в ограничен мащаб, пиримидиновите бази допринасят за енергийното осигуряване на клетките.

Докато крайният продукт на пуриновите нуклеотиди (пикочна киселина) е с изключително ниска разтворимост, то крайните продукти от разграждане на пиримидиновите бази са лесно разтворими във вода. Затова свръхпродукцията на пиримидиновите разградни продукти не е свързана със значими клинични аномалии.

9.3.2. Синтеза на пиримидинови нуклеотиди

Синтезата на пиримидиновите нуклеотиди се състои от шест реакции (фиг. 9-8). За разлика от синтезата на пуриновите нуклеотиди, където пуриновият пръстен се изгражда върху рибозофосфатен остатък, при пиримидиновите първо се получава пиримидиновият пръстен и след това към него се присъединява рибозофосфатният остатък.

Първата реакция е синтеза на карбамилфосфат от HCO_3^- и amidния азот на глутамин. Реакцията изисква 2 молекули АТФ. Едната доставя фосфатната група, а другата осигурява енергетично процеса. Катализира се от карбамилфосфат синтетаза II. Този ензим е локализиран в цитозола и се различава от карбамилфосфат синтетаза I, която в митохондриите синтезира карбамилфосфат за уреинния цикъл, но ползва като азотен източник амоняк, а не глутамин.



Фиг. 9-8. Синтеза на УМФ.

Втората реакция е синтеза на карбамил аспартат. Кондензацията на карбамилфосфат с аспартат, при отделяне на фосфат, се катализира от аспартат транскарбамилаза.

Третата реакция е затваряне на пиримидиновия пръстен чрез вътрешномолекулярна кондензация. Под действие на дихидрооротаза се получава дихидрооротат.

Четвъртата реакция е необратимо окисление на дихидрооротат до оротат под действие на дихидрооротатдехидрогеназа, която единствено от шестте ензими в тази синтеза, е митохондрийна. Съдържа ФМН и Fe. Останалите са цитозолни ензими.

Петата реакция е присъединяване на рибозофосфатния остатък. Под действие на оротат фосфорибозил трансфераза оротат взаимодейства с ФРФФ. Получава се оротидин-5'-монофосфат. Този ензим може да присъединява рибозофосфатен остатък и върху урацил и цитозин.

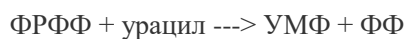
Шестата реакция е образуване на УМФ чрез декарбоксилиране на оротидин монофосфат под действие на оротидин монофосфат декарбоксилаза.

В бактерии шестте ензими са отделни несвързани белтъци. В животни поради сливане на гени първите три ензимни активности са в една полипептидна верига. Реакции 5 и 6 в

животни също са в обща полипептидна верига. Както при пируват дехидрогеназния комплекс, синтазата на мастни киселини, и при синтезата на пурины, така и тук обединяването на ензимни активности в обща полипептидна верига има следните предимства:

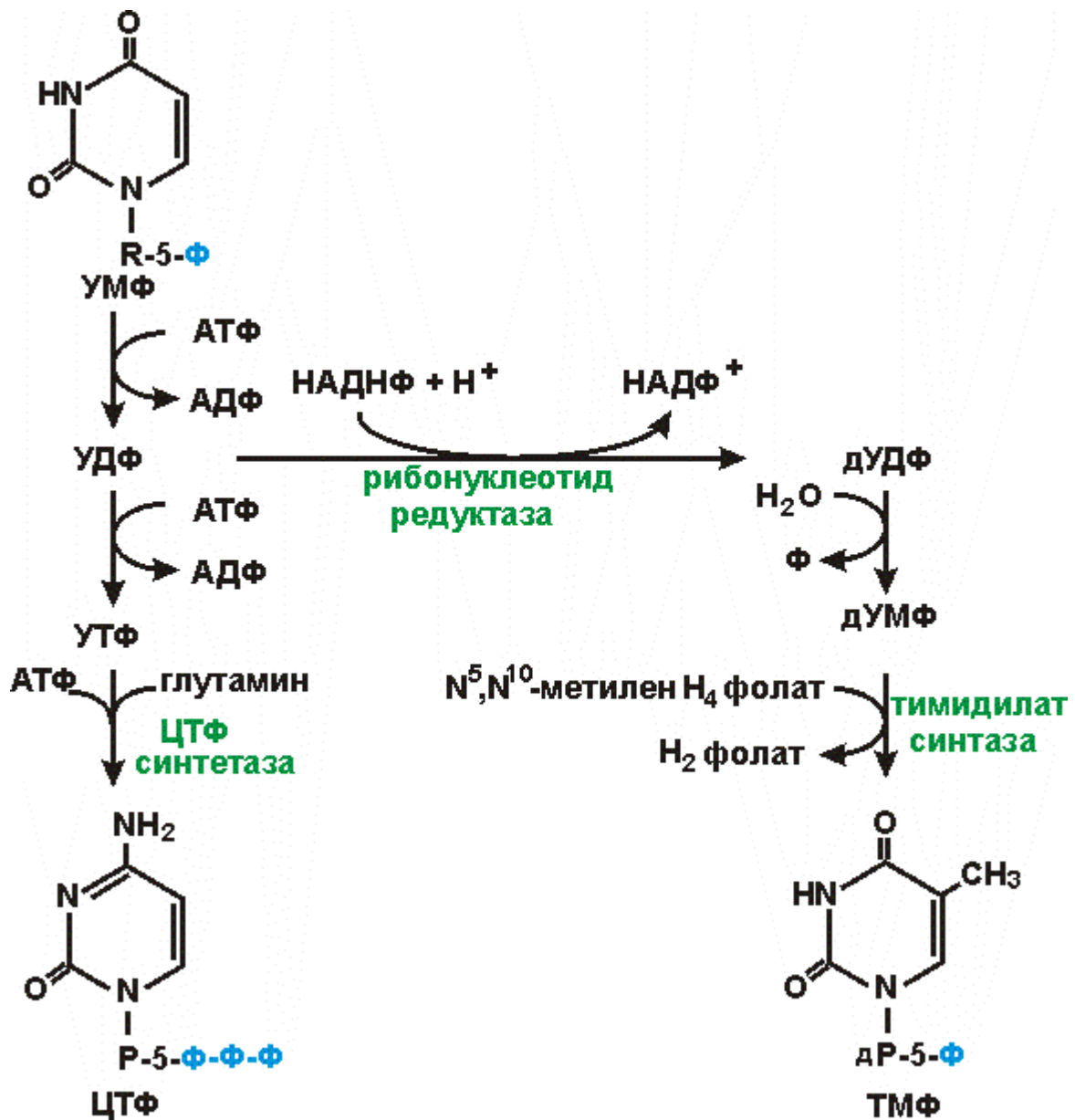
- 1) увеличаване на общата скорост на синтезата;
- 2) предпазване на междинните метаболити от разграждане от други вътреклетъчни ензими.

При пиримидиновите нуклеотиди, както и при пуриновите нуклеотиди, е възможен синтезен път от готови бази: напр.:



На фиг. 9-9 е показана синтезата на ЦТФ и ТМФ от УМФ.

Синтезата на УТФ от УМФ става при двукратно фосфорилиране под последователното действие на нуклеозид монофосфат киназа и нуклеозид дифосфат киназа, действащи съвместно с АТФ като донатор на енергия. ЦТФ се образува чрез аминиране на УТФ от ЦТФ синтаза. В животни аминокислотата се доставя от глутамин, а в бактерии - директно от амоняк.

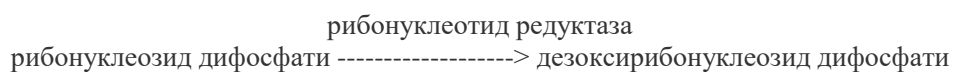


Фиг. 9-9. Синтеза на ЦТФ и ТМФ от УМФ.

УДФ се превръща в дУДФ под действие на рибонуклеотид редуктаза (виж т. 9.3.3). Полученият дУДФ се дефосфорилира до дУМФ. Последният се метилира до дТМФ под действие на тимидилат синтаза. Кофакторът на тимидилат синтазата N⁵,N¹⁰-метилентетраhydrofolat отдава метиловата група и се превръща в дихидроfolat (H₂-folat).

9.3.3. Синтеза на дезоксирибонуклеотиди

Необходимите за синтеза на ДНК дезоксирибонуклеотиди се синтезират от рибонуклеотид редуктаза, която превръща рибонуклеозид дифосфати в дезоксирибонуклеозид дифосфати като заменя 2'-ОН група с Н атом :



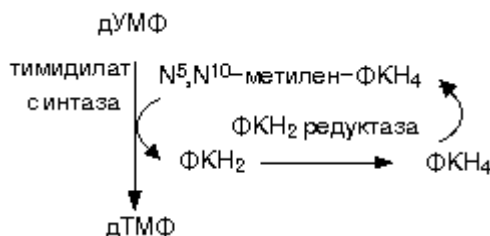
Т.е. редукцията на рибоза до дезоксирибоза става не на ниво свободни захари, а на ниво нуклеозид дифосфати. В еукариоти ензимът е тетрамер от две α и две β -субединици ($\alpha_2\beta_2$). Всяка α -субединица съдържа пет каталитично важни цистеинови остатъци и два различни алостерични центрове, които контролират ензимната активност и субстратната специфичност. Всяка β -субединица съдържа бинуклеарен Fe(III) комплекс, който генерира свободен фенокси радикал при Тир122. Двата активни центрове на ензима са на границата между α - и β - субединиците.

Редукцията на рибоза до дезоксирибоза се съпровожда с окисление на SH-групи в нискомолекулярния белтък тиоредоксин. За затваряне на каталитичния цикъл и редукция на тези SH-групи е необходим НАДФН като кофактор на ензима тиоредоксин редуктаза. Открит е и друг подобен на тиоредоксина белтък - глутаредоксин. За възстановяване на неговите SH-групи е необходима глутатион редуктаза, действаща съвместно с глутатион.

9.3.4. Тимидилат синтаза

Тимидилат синтазата метилира дУМФ до дТМФ (фиг. 9-11). Като кофактор участва N^5,N^{10} -метилен-тетрахидрофолат. Неговата метиленова група се редуцира до метилова група, за сметка на окисление на кофактора до дихидрофолат. За възстановяване на N^5,N^{10} -метилен-тетрахидрофолат са нужни две допълнителни реакции:

- 1) В първата редукцията на дихидрофолат до тетраhydroфолат се катализира от дихидрофолат редуктаза, действаща съвместно с НАДФН.
- 2) Във втората реакция серин хидроксиметил трансферазата прехвърля хидроксиметилната група към тетраhydroфолат, при което се получава N^5,N^{10} -метилен-тетрахидрофолат.



Фиг. 9-11. Метилиране на дУМФ до дТМФ под действие на тимидилат синтаза. Ензимът действа с кофактора N^5,N^{10} -метилен-тетрахидрофолат, който доставяйки метилова група се окислява до дихидрофолат.

9.3.5. Регулация на биосинтезата на пиримидинови нуклеотиди

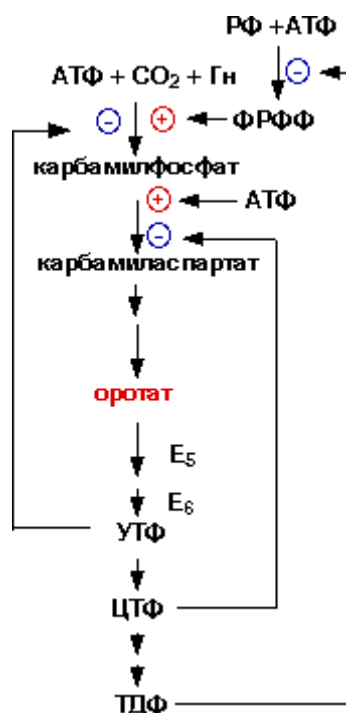
Крайните продукти УТФ, ЦТФ и ТТФ действат като алостерични инхибитори на собствената си синтеза, като проявяват известни различия (фиг. 9-12).

Карбамил фосфат синтаза II, катализираща първата реакция, се инхибира от УТФ, но се активира от ФРФФ.

Втората реакция, катализирана от аспартат транскарбамилазата, се инхибира алостерично от ЦТФ и се активира от АТФ.

ТДФ действа в по-ранен етап като инхибира получаването на ФРФФ и така сменя активирания ефект на ФРФФ върху карбамилфосфат синтаза II.

Освен това първите три ензима и последните два в тази синтеза се регулират на генно ниво чрез координирана репресия и дерепресия.



Фиг. 9-12. Регулация на синтеза на пиримидиновите нуклеотиди.

9.4. Взаимовръзки и взаимоповлияване между биосинтезните пътища

Общи метаболити за синтеза на пуринови и пиримидинови нуклеотиди са глутамин, аспарат, CO_2 , различни производни на тетраhydrofolat и ФРФФ.

ФРФФ е особено важен възлов общ метаболит. Той участва както в синтезите *de novo*, така и в синтезите от готови бази при пуриновите и пиримидиновите нуклеотиди. ФРФФ участва и в синтеза на никотинамидните редокс-системи. Освен като субстрат, той е алостеричен активатор на главните регулаторни ензими в синтеза на пуринови и пиримидинови нуклеотиди, а именно фосфорибозил amidотрансферазата и карбамилфосфат синтетаза II.

ФРФФ се получава от рибозо-1-фосфат, който може да се получи в пентозо-фосфатния път или при фосфолиза на нуклеотиди.

Взаимовръзката между пътищата за синтеза на пуринови нуклеотиди *de novo* и от готови бази е била открита при наблюдения върху пациенти с подагра и синдром на Lesch-Nihan. Причината за подагра в някои пациенти е намалената активност на ензима гуанозил/хипоксантин фосфорибозил трансфераза. При тази генетично обусловена ензимна недостатъчност не се използва ФРФФ (фиг. 9-13). Той се натрупва и стимулира пътя *de novo*. Синтезират се повече пурины и от тях повече пикочна киселина. При пълна липса на същия ензим се развива синдром на Lesch-Nihan с всички признаци на подагра, но и психични отклонения - умствена изостаналост, агресивност по отношение на околните и стремеж да увреждат дори собствените крайници. Проявата на такива тежки отклонения при увреждане на пътя от готови бази показва, че той не е с второстепенно значение, както бе считан първоначално.



Фиг. 9-13. ФРФФ - общ метаболит в пътя *de novo* и в пътя от готови бази за синтеза на пуринови нуклеотиди. При ензимен блок в пътя от готови бази ФРФФ не се използва, натрупва се и усилва пътя *de novo*. Получават се повече пуринови нуклеотиди и от тях - повече пикочна киселина при разграждането им.

9.5 Приложение на познанията върху обмяна на нуклеотиди в медицината

9.5.1. Хиперурекемии

Хиперурикемия означава наднормено съдържание на пикочна киселина (uric acid) в кръвта. Пикочната киселина и нейните соли имат много по-ниска разтворимост в сравнение с нейните предшественици пуринови бази, хипоксантин и ксантин (табл. 9-1).

Табл. 9-1. Разтворимост на пикочна киселина и нейни предшественици.

Разтворимост на пикочна киселина и предшественици	Съединение	Разтворимост (mmol / L)
	Аденин	6.6
	Ксантин	3.3
	Хипоксантин	5.1
	Пикочна киселина в кисела урина	0.026
	Натриев урат в плазма	0.45

Подагратата е изключително болезнено състояние, свързано с кристализация на пикочна киселина или нейни соли като тофи под кожата, в ставите или в бъбречните тубули.

Подагра възниква или поради увеличена продукция на пикочна киселина, или поради намалена бъбречна екскреция на пикочна киселина. Среща се сред 0.3% от населението (сравнително висока честота). При подагра винаги има хиперурикемия, но само в 20% от индивидите с хиперурикемия се развива подагра. Концентрацията на урат в серума е по-висока при мъжете от тази при жени (до менопаузата).

Първичната подагра е генетично обусловена и съставлява около 70-80% от случаите. Има няколко различни ензимни дефекти, засегнати в

4.2.10.1. Промени в K_m и V_{max} за ензима ФРФФ синтетаза при случаи на подагра,

4.3.8.1. Дефект в алостеричното повлияване на ФРФФ амидотрансфераза от крайните продукти причинява подагра

4.4.6. Генетично обусловени ензимопатии - случаи 5 и 6, а също и в

т. 9.4. Взаимовръзки и взаимоповлияване между биосинтезните пътища

Вторичната подагра е резултат от различни други заболявания като левкемии, хемолитични анемии и др. Вторична подагра се получава и при усилено разграждане на нуклеинови киселини при смърт на клетки след третиране с антимаболити или лъчева терапия.

Не всички механизми на възникване на подагра са изяснени (**идиопатична подагра**). Каквато и да е биохимичната причина за подагра, алопуринол ефективно инхибира образуването на пикочна киселина.

Разгледан е и синдромът на Lesch-Nihan - виж **т. 4.4.6. Генетично обусловени ензимопатии** - случай 7, а също и

т. 9.4. Взаимовръзки и взаимоповлияване между биосинтезните пътища

9.5.2. Оротатурии

Увеличението на междинния метаболит от синтеза на пиримидинови нуклеотиди оротат в кръвта се означава като оротатемия, а в урината - оротатурия.

В. т. 4.3.8.2. **Лечение на оротатурии с алостерични инхибитори** вече е разгледан механизмът на възникване на оротатурия и възможността за успешно повлияване чрез алостерично инхибиране с крайните продукти на биосинтезната верига, а именно пиримидинови бази, нуклеозиди или нуклеотиди.

9.5.3. Действие на антимаболитите 6-меркаптопурин и 5-флуорурацил

6-Меркаптопурин (6-МП) е полезен антитуморен агент при хора. В туморните клетки той взаимодейства с ФРФФ и под действие на гуанин/хипоксантин фосфорибозил трансфераза се превръща в 6-меркаптопурин рибонуклеотид, който се натрупва в клетките и е отрицателен ефектор на ФРФФ амидотрансферазата, главния регулаторен ензим на "de novo" синтеза на пурины. 6-МП освен това инхибира превръщането на ИМФ в ГМФ и АМФ. Тъй като 6-МР е субстрат за ксантин оксидазата, която го окислява до 6-тиопикочна киселина, използва се алопуринол, за да забави разграждането на 6-МП и да усиле антитуморните свойства на 6-МП.

5-флуорурацил сам по себе си не е активен агент. Но той се превръща от клетъчните

ензими до активните метаболити 5-флуоруридин-5'-трифосфат (F-УТФ) и 5-флуоро-2'-деоксиуридин-5'-монофосфат (F-дУМФ). F-УТФ се включва в РНК и инхибира зрението на 45S прекурсорна

pРНК в 28S и 18S pРНК. Освен това променя сплайсинга на пре-иРНК в иРНК.

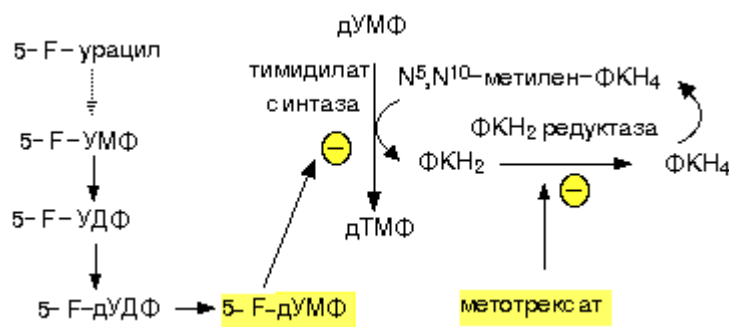
F-дУМФ е

мошен и специфичен инхибитор на тимидилат синтазата, тъй като в присъствие на тетраhydrofolat се с

вързва необратимо към тимидилат синтазата. Това води до образуване на ТМФ и т.н.

смърт на клетката от

липса на тимин.



Фиг. 9-14. Инхибиране на тимидилат синтазата с 5-F-дУМФ (аналог на субстрата дУМФ) или метотрексат (аналог на кофактора N⁵,N¹⁰-метилтен-тетраhydrofolat).

9.6. Насоки за самостоятелна работа

9.6.1. Изберете [главната страница на "Интерактивни тестове"](#). От нея изберете реалния тест: "Обмяна на нуклеотиди" в желан от Вас режим.

9.6.2. Симулация на клиничен случай

Изберете [Симулации на клинични случаи](#). От там изберете реалния случай Емил.