**ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ**

Нуклеотидами называются соединения, состоящие из азотистого основания, углевода-пентозы и фосфорной кислоты. Примером может служить уридиловая кислота:

В типичном нуклеотиде связь между атомом "N" цикла и первым атомом углерода пентоза - b-N-гликозидная, а связь между остатков фосфорной кислоты и пятым атомом углерода пентозы - сложноэфирная.

 1. Классификация нуклеотидов

 Нуклеотиды могут быть разделены на классы по нескольким признакам:

а. По характеру входящего в них азотистого основания нуклеотиды могут быть пуринового, пиримидинового, изоаллоксазинового и т.д. рядов.

б. По характеру углевода-пентозы они могут быть рибонуклеотидами ( содержат рибозу ) или же дезоксирибонуклеотидами ( содержат дезоксирибозу ). В некоторых синтетических нуклеотидах или нуклеозидах встречается также арабиноза, например, в арабинозилцитозине, используемом в качестве противоопухолевого или противовирусного препарата.

в. По частоте встречаемости в составе нуклеиновых кислот нуклеотиды делятся на главные и минорные. К минорным нуклеотидам относятся те нуклеотиды, количество которых в составе ДНК не превышает 2-3 процентов от их общего числа; на долю минорных нуклеотидов в РНК может приходится до 15-17% от их общего количества. Минорные нуклеотиды образуются в клетках в результате химической модификации главных нуклеотидов ; они отличаются от главных нуклеотидов

- или особенностями структуры азотистых оснований ( метилированные, гидроксиметилированные, ацетилированные и т.д. производные );

- или особенностями структуры углеводного компонента ( как правило, это метилированные производные пентоз );

- или аномальной структурой связи между азотистым основанием и пентозой ( так в псевдоуридиловой кислоты присутствует связь, которую можно назвать как b-С5-гликозидную связь). К настоящему времени идентифицировано до пяти десятков различных минорных нуклеотидов.

2.Биологическая роль нуклеотидов

 Нуклеотиды выполняют в клетках несколько функций:

во-первых, рибонуклеотиды пуринового или пиримидинового рядов (АМФ, ГМФ,УМФ и ЦМФ и их минорные производные) также как и их дезоксибонуклеотидные аналоги ( дАМФ, дГМФ, дТМФ и дЦМФ и их минорные производные ) выполняют структурную функцию, являясь мономерными единицами нуклеиновых кислот;

во-вторых, дифосфатные производные мононуклеотидов участвуют во многих метаболических процессах в клетке в качестве активаторов переносчиков различных группировок ( Примерами могут служить УДФ-глюкоза, ГДФ-манноза, ЦДФ-холин и др.);

в тертьих, АТФ и ГТФ выступают в клетке как акумуляторы и переносчики энергии, высвобождающейся при биологическом окислении:

в четвертых, НАД+ , НАДФ+ , ФАД, ФМН являются переносчиками восстановительных эквивалентов в клетках ( промежуточными переносчиками протонов и электронов );

в пятых, мононуклеотиды выступают в клетках в качестве биорегуляторов. Достаточно вспомнить роль АТФ как аллостерического ингибитора ключевых ферментов ряда метаболических путей ( фосфофруктокиназы гликолитического метаболона или цитрансинтазы цикла Кребса):

в шестых, такие соединения как цАМФ или цГМФ выполняют роль мессенджеров или вторых вестников в реализации клеткой внеклеточного регуляторного сигнала ( при действии глюкагона на гепатоциты в ускорении мобилизации гликогена играет существенную роль повышение концентрации цАМФ в этих клетках).

3.Усвоение экзогенных нуклеиновых кислот и нуклеотидов

 Человек практически не нуждается во внешних источниках нуклеотидов, полностью покрывая свои потребности в этих соединениях за счет эндогенного синтеза при условии, что в клетках имеется необходимое количество исходных соединений для синтеза. Естественно, что проблемы с синтезом таких нуклеотидов как НАД+ или ФАД могут возникнуть при недостаточности в организме витаминов В5 или В2. В дальнейшем мы остановимся лишь на обмене пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

Нуклеиновые кислоты поступают с пищей в виде нуклеопротеидов, расщепление белковой части которых начинается уже в желудке и завершается в тонком кишечнике. Высвобождающиеся нуклеиновые кислоты расщепляются в тонком кишечнике до мононуклеотидов под действием рибонуклеаз и дезоксирибонуклеаз панкреатического сока. Кроме того, стенкой кишечника выделяются ферменты полинуклеотидазы и фосфодиэстеразы, которые также участвуют в расщеплении нуклеиновых кислот до мононуклеотидов.

Мононуклеотиды в стенку кишечника не всасываются, а подвергаются дальнейшему расщеплению до нуклеоэидов и далее до свободных азотистых оснований , пентоз и фосфорной кислоты под действием нуклеотидаз и фосфатаз кишечной стенки. В стенку кишечника всасываются нуклеозиды, а также перечисленные продукты полного расщепления нуклеотидов; далее они поступают в кровяное русло.

В организме человека большая часть поступивших в кровь пуринов и пиримидинов не используется, а деградирует до конечных продуктов их обмена и выводится из организма. Таким образом, экзогенные нуклеиновые кислоты практически не выступают в качестве поставщиков непосредственных предшественников нуклеотидов в организме человека.

В просвете кишечника, вероятно, под действием его микрофлоры, часть пуриновых нуклеотидов превращается в гипоксантин, ксантин и мочевую кислоту и в таком виде поступают во внутреннюю среду организма.

 4. Метаболизм нуклеотидов пиримидинового ряда

 Бисинтез нуклеотидов пиримидинового ряда начинается в цитозоле, где при участии цитозольной карбамоилфосфатсинтетазы образуется карбамоилфосфат, причем источником азота для его синтеза является глутамин:

 СО2 + Глн + 2АТФ ---> NH2-CO-O-PO3H2 + 2АДФ + Ф + Глу

Далее карбамоилфосфат взаимодействуя с аспартатом в реакции, катализируемой аспартаттранскарбамоилозай, превращается в карбамоиласпартат, а затем при участии дигигидрооротазы - в дигидрооротовую кислоту:

 Дигидрооротовая кислота при участии митохондриального фермента дигидрооротатдегидрогеназы переходит в оротовую кислоту:

В следующей реакции принимает участие фосфорибозилпирофосфат. Он образуется из рибозо-5-фосфата с участием АТФ в ходе реакции, катализируемой ферментом фосфорибозилпирофосфатсинтетазой:

Реакция синтеза фосфорибозилпирофосфата ( ФРПФ ) не является специфичной для синтеза пиримидиновых нуклеотидов, в ходе этой реакции синтезируется ФРПФ, необходимый для синтеза различных мононуклеотидов.

Оротовая кислота при участии фермента оротат-фосфорибозилтрансферазы переносится на остаток рибозо-5-фосфата с образованием оротидиловой кислоты, которая подвергается декарбоксилированию, в ходе которого образуется первый "настоящий" нуклеотид пиримидинового ряда - уридин-5-монофорная кислота ( уридиловая кислота или УМФ ). Последняя реакция катализируется оротидилатдекарбоксилазой.

 Все остальные нуклеотиды пиримидинового ряда синтезируются из уридиловой кислоты

В ходе синтеза пиримидиновых нуклеотидов используются глутамин, СО2, АТФ, аспартат и ФРПФ. Все эти соединения синтезируются в клетках. Лишь при образовании из дУМФ дезокситимидиловой кислоты используется N5,N10-тетрагидрофолат; это значит, что при недостатке фолиевой кислоты ( В9) в организме будет нарушен синтез дезокситимидиловой кислоты, необходимой для последующего синтеза ДНК в клетках.

При образовании дТМФ из дУМФ происходит превращение ТГФ в дигидрофолат. Обратный переход ДГФ в тетрагидрофолат катализируется ферментом дигидрофолатредуктазой. Лекарственный препарат метотрексат ( аметоптерин ), широко применяемый при противоопухолевой терапии, является мощным ингибитором дигидрофолатредуктазы.

Пиримидиновые нуклеозиды, образующиеся в клетках при деградации соответствующих нуклеотидов, могут с помощью специальных

В то же время образующиеся в ходе внутриклеточного распада свободные азотистые основания пиримидинового ряда повторно не используются и подвергаются расщеплению до конечных продуктов.

Расщепление пиримидиновых нуклеотидов начинается с отщепления рибозофосфатного остатка, а образовавшееся свободное азотистое основание расщепляется без образования специфических конечных продуктов.

 Конечными продуктами распада урацила, являются углекислый газ, вода и b-аланин. При расщеплении тимина в клетках в качестве одного из промежуточных продуктов образуется b-аминоизобутират, который после дезаминирования в конечном итоге преобразуется через пропионат в сукцинил-КоА.

 5.Метаболизм нуклеотидов пуринового ряда

 При синтезе нуклеотидов пуринового ряда, в отличие от синтеза пиримидиновых нуклеотидов, формирование гетероциклического ядра идет непосредственно на рибозо-5-фосфата. Вначале синтезируется ФРПФ, который при взаимодействии с глутамином превращается в 5-фосфорибозиламин: Затем следует большая последовательность реакций, в ходе которых формируется пуриновое ядро. Первым нуклеотидом, образующимся в ходе синтеза является инозиновая кислота ( ИМФ ): В процессе синтеза 1 молекулы инозиновой кислоты клеткой расходуется 6 молекул АТФ.

 Глутамин, аспартат, глицин, углекислый газ образуются в организме, однако в условиях недостатка фолиевой кислоты могут возникнуть проблемы с обеспеченностью синтеза пуриновых нуклеотидов одноуглеродными группировками, переносчиками которых служит в клетках ТГФ.

Из ИМФ синтезируются другие нуклеотиды пуринового ряда. При синтезе АМФ ( см. далее следующую схему ) идет аминирование ИМФ, источником аминогруппы служит аспартат. Реакция идет в два этапа, а затраты энергии покрываются за счет гидролиза ГТФ.

При синтезе гуаниловой кислоты вначале остаток гипоксантина в ИМФ окисляется до ксантина с образованием КМФ,а затем идет аминирование и превращение КМФ в ГМФ. Донором аминогруппы выступает глутамин, энергетика реакции обеспечивается расщеплением АТФ.

Образовавшиеся АМФ и ГМФ в ходе реакций трансфосфорилирования с АТФ преобразуются в АДФ и ГДФ, а затем последние подвергаются фосфорилированию за счет энергии, выделяющейся при биологическом окислении, превращаясь в АТФ и ГТФ.

Описанный синтез пуриновых нуклеотидов с использованием в качестве пластического материала атомных группировок из молекул других соединений получил название синтеза de novo. В клетках млекопитающих работают также механизмы реутилизации образовавшихся в ходе внутриклеточного расщепления пуриновых нуклеотидов азотистых оснований. Этот механизм синтеза пуриновых нуклеотидов получил название "синтез сбережения."

Наиболее важным путем реутилизации является фосфорибозилирование свободных азотистых оснований. Известны два варианта этого процесса:

а. При участии фермента гипоксантин-гуанин - фосфорибозилтрансферазы свободные гипоксантин или гуанин превращаются в ИМФ и ГМФ соотвественно:

 б. При участии фермента аденин-фосфорибозилтрансферазы в аналогичной реакции свободный аденин превращается в АМФ.

Кстати говоря,такого механизма для реутилизации пиримидиновых азотистых оснований не существует. Имеющаяся в клетках оротат-фосфорибозилтрансфераза не может катализировать фосфорибозилирование тимина, цитозина или урацила.

Превращение пуриновых нуклеозидов в нуклеотиды катализирует фермент аденозинкиназа:

Аденозин + АТФ-------> АМФ + АДФ. Этот фермент катализирует также фосфорилирование гуанозина, инозина и их дезоксипроизводных.

Расщепление пуриновых нуклеотидов идет во всех клетках. Конечным продуктом катаболизма образующихся при расщеплении нуклеотидов пуриновых азотистых оснований является мочевая кислота. С наибольшей интенсивностью образование мочевой кислоты идет в печени, тонком кишечнике и почках. Установлено, что до 20% мочевой кислоты у человека может расщепляется до СО2 и NH3 и выделяться через кишечник, причем это расщепление мочевой кислоты не связано с действием кишечной микрофлоры.

 Нуклеотиды в клетках подвергаются дефосфорилирования с образованием аденозина или гуанозина. Аденозин при участии фермента аденозиндезаминазы превращается в инозин и далее путем фосфоролиза в гипоксантин. Гипоксантин при участии ксантиноксидазы вначале окисляется в ксантин, а затем при участии того же фермента ксантин переходит в мочевую кислоту. При расщеплении ГМФ вначале в несколько этапов происходит образование свободного гуанина, который при участии фермента гуаназы переходит непосредственно в ксантин, а затем окисляется в мочевую кислоту.

Образовавшаяся мочевая кислота поступает в кровь и выводится через почки с мочей. Нормальное содержание мочевой кислоты в крови составляет 0,12 - 0,46 мМ/л. Общее количество растворенной мочевой кислоты в жидкой фазе организма ( уратный пул ) составляет для мужчин величину порядка 1,2 г. Ежесуточно с мочой выводится от О,5 до 0,7 г мочевой кислоты.

 6.Синтез дезоксирибонуклеотидов

 Специального пути синтеза дезоксирибонуклеотидов в клетках не существует.Дезоксирибонуклеотиды образуются из рибонуклеотидов путем восстановления последних. Источником восстановительных эквивалентов для образования дезокрибонуклеотидов служит специальный белок тиоредоксин, который может существовать в форме дитиола или же после отдачи атомов водорода в форме дисульфида. Дисульфидная форма тиоредоксина может превращаться в клетке в дитиольную форму; донором восстановительных эквивалентов в последнем случае является НА-ФН+Н

7.Регуляция синтеза нуклеотидов

 Скорость синтеза нуклеотидов должна соответствовать потребностям клетки, в связи с чем она должна эффективным образом регулироваться. В работе механизмом регуляции синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов много общего: решающую роль в регуляции играет ретроингибирование - снижение скорости синтеза нуклеотидов при достижении их достаточной концентрации в клетках за счет аллостерического ингибирования ключевых ферментов соответствующих метаболических путей.

 Основными регуляторными ферментами метаболического пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов являются карбамоилфосфатсинтетаза ( Е1 ) и аспартаттранскарбамоилаза ( Е2 ). Активность первого фермента ( Е1 ) ингибируется по аллостерическому механизму высокими концентрациями УТФ в клетке, а активность второго фермента ( Е2 ) - высокими концентрациями ГТФ. Активность карбамоифосфатсинтетазы, кроме того, активируется высокими концентрациями ФРПФ. С другой стороны, синтез ФРПФ тормозится высокими концентрациями дТДФ за счет аллостерического ингибирования ФРПФ-синтетазы ( Е3).

 Накопление избыточных количеств пуриновых нуклеотидов в клетке также приводит к торможению их синтеза.

Прежде всего следует отметить, что накопление в клетке как адениловых , так и гуаниловых нуклеотидов по аллостерическому механизму тормозит активность ФРПФ-синтетазы ( Е ). Одновременно накопление АМФ и ГМФ также по аллостерическому механизму снижает активность ФРПФ-амидотрансферазы ( Е ), причем ингибирующий эффект высоких концентраций ГМФ более выражен, нежели у АМФ. Торможение пуриновыми нуклеотидами активности ФРПФ-синтетазы имеет для регуляции их синтеза большее значение, чем ингибирование ФРПФ-амидотрансферазы, так как в первом случае выключается и синтез пуриновых нуклеотидов de novo и "синтез сбережения", тогда как во втором случае прекращается лишь синтез de novo.

Далее, избыточные концентрации АМФ ингибируют синтез АМФ из ИМФ, а высокие концентрации ГМФ тормозят образование этого нуклеотида из ИМФ. В обоих случаях работают механизмы аллостерического ингибирования ферментов, участвующих в этих превращениях.

Наконец, синтез АМФ из ИМФ стимулируется ГТФ, поскольку ГТФ является источником энергии для синтеза. В свою очередь, АТФ стимулирует синтез ГМФ из ИМФ по той же самой причиной. Наличие этого регуляторного механизма позволяет сбалансировать объемы синтеза адениловых и гуаниловых нуклеотидов в клетке.

Регуляция синтеза дезоксирибонуклеотидов обеспечивает скоординированный в количественном отношении синтез различных дезоксинуклеотидов, необходимых для последующей сборки дезоксиполинуклеотидных цепей ДНК. Важнейшую роль в этой регуляции играет фермент рибонуклеозиддифосфатредуктаза. Этот фермент имеет два типа аллостерических участков: один из них регулирует общую активность фермента, а другой - субстратную специфичность. Общая каталитическая активность снижается при связывании в первом центре дАТФ, последний служит сигналом об избытке дезоксинуклеотидов в клетке. Связывание различных дНуДФ ил дНуТФ в аллостерических участках второго типа позволяет ферменту более или менее избирательно нарабатывать недостающие в данный момент в клетке те или иные дезоксирибонуклеозиддифосфаты

 8. Нарушения обмена нуклеотидов при патологии

 Пиримидиновые нуклеотиды не имеют специфических конечных продуктов обмена, видимо, поэтому при состояниях, характеризующихся избыточным синтезом пиримидинов, как правило, нет выраженных клинических признаков. При торможении синтеза дезокситимидиловой кислоты, обусловленном недостатком в организме фолиевой кислоты или кобаламина, идет одновременно и нарушение синтеза пуриновых нуклеотидов, что проявляется в виде нарущения синтеза нуклеиновых кислот с развитием той или иной формы анемии.

Наиболее известным вариантом нарушения синтеза пиримидинов является оротатацидурурия - повышенное выделение с мочой продукта неполного синтеза пиримидинов - оротовой кислоты. Оротатацидурия чаще всего является следствием генетически обусловленного нарушения синтеза двух ферментов: оротат-фосфорибозилтрансферазы и оротидилатдекарбоксилазы. Синтезируемая оротовая кислота не используется в клетках и накапливается в органах и тканях, она в повышенных количествах выделяется с мочей. Для детей с этой патологией характерны отставание в развитии, мегалобластическая анемия и "оранжевая кристаллоурия", последняя обусловлена образованием в моче кристаллов оротовой кислоты, имеющих оранжевый цвет. Для лечения таких детей используется уридин, который достаточно хорошо усваиваивается организмом, однако уридин становится еще одним незаменимым компонентом пищи.

Наиболее известным заболеванием, тесно связанным с нарушением обмена пуриновых нуклеотидов, является подагра. У больных с этой патологией наблюдается повышенное содержание мочевой кислоты в крови и тканях, а также избыточное количество уратов в моче. В норме концентрация мочевой кислоты в крови и других биологических жидкостях достаточно близка к насыщающей. Поэтому повышение ее содержания в биологических жидкостях приводит к появлению в них кристаллов мочевой кислоты. Если кристаллы появляются в суставной жидкости, развивается подагрические артриты. Выпадение кристаллов мочевой кислоты непосредственно в ткани вызывает асептическое воспаление с последующим инкапсулированием образовавшихся кристаллов и формированием подагрических узелков. Наиболее тяжелым проявлением этого заболевания является подагрическая нефропатия с нарушением функции почек.

От подагры страдает от 0,3% до 1,7% населения, причем у мужчин подагра встречается в 20 раз чаще, чем у женщин. Развитие заболевания тесно связано с гиперурекемией - повышеннным содержанием мочевой кислоты в крови. В норме содержание мочевой кислоты составляет 3 - 7 мг/дл ( 0,12 - 0,46 мМ/л ). Среди лиц с содержанием мочевой кислоты в пределах 7 - 8 мг/дл 20% больных подагрой; если же содержание мочевой кислоты в крови превышает 9 мг/дл число больных подагрой возрастает до 90 и более процентов.

Причинами подагры в ряде случаев является нарушение функционирования таких ферментов как ФРПФ-синтетаза или гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза. У ряда больных было обнарушено повышение активности фермента ФРПФ-синтетазы или снижение чувствительности фермента к ингибирующему действию пуриновых нуклеотидов. В обоих вариантов объем синтеза пуриновых нуклеотидов возрастает, что приводит к гиперпродукции мочевой кислоты.

При снижении активности гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы в клетках снижается уровень повторного использования образующихся в них гипоксантина и гуанина за счет торможения "синтеза сбережения". Возникает нехватка пуриновых нуклеотидов, которая компенсируется активацией синтеза пуринов de novo, что в конечном итоге ведет к повышенному образованию пуринов в организме и, соответственно, к повышения содержания мочевой кислоты в организме.

При лечении подагры стремятся уменьшить в рационе количество продуктов, содержащих нуклеиновые кислоты или соединения группы пурина. Хороший эффект дает использование лекарственного препарата - аллопуринола. Аллопуринол в клетках под действием фермента ксантиноксидазы окисляется до аллоксантина, а аллоксантин является мощным конкурентным ингибитором ксантиноксидазы. Образование ксантина и мочевой кислоты в клетках резко снижается, а из организма в качестве конечного продукта обмена пуринов начинает выделяться гипоксантин, растворимость которого в биологических жидкостях в несколько раз выше, чем растворимость мочевой кислоты.

При полном отсутствии в клетках гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы развивается болезнь Леш-Нихана, для которой характерны высокий уровень гиперурикемии, камни в мочевыводящих путях, корковый паралич, судороги и крайне агрессивное поведение. в том числе и стремление к членовредительству (Ребенок, например. может обкусать собственные пальцы или губы).

Гиперурикемия может также встречаться при воздействии на человека ионизирующей радиации. В этом случае гиперурикемия является отражением интенсификации распада нуклеиновых кислот в облученных органах и тканях.