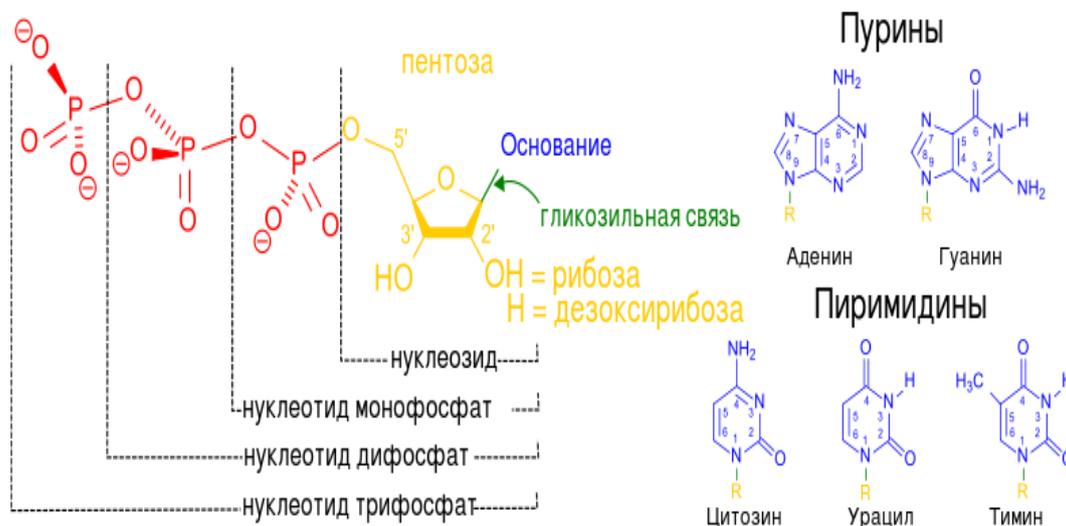


Тема: ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ: ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА – ПОДАГРА.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Нуклеопротеиды — сложные белки, простетическая группа которых представлена нуклеиновыми кислотами (ДНК, РНК). Последние — высокомолекулярные биополимеры, построенные из мононуклеотидов, соединенных между собой 3'-5'- фосфоэфирными связями. Мономеры построены по схеме:

СТРОЕНИЕ НУКЛЕОТИДА



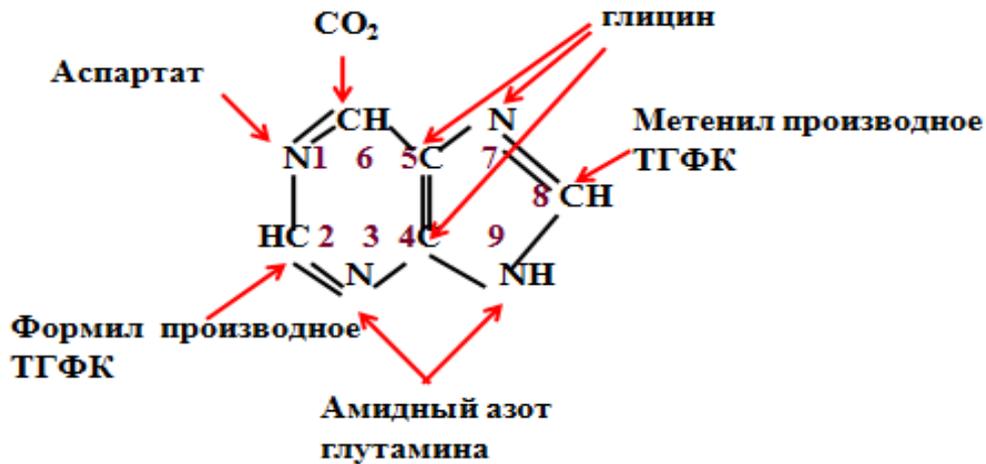
Азотистые основания могут быть производными пурина (аденин, гуанин), пиримидина (урацил, тимин, цитозин). Соответственно мономеров, которые используются в биосинтезе РНК, ДНК пять: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ, УМФ.

Мононуклеотиды ДНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ.

Мононуклеотиды РНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ.

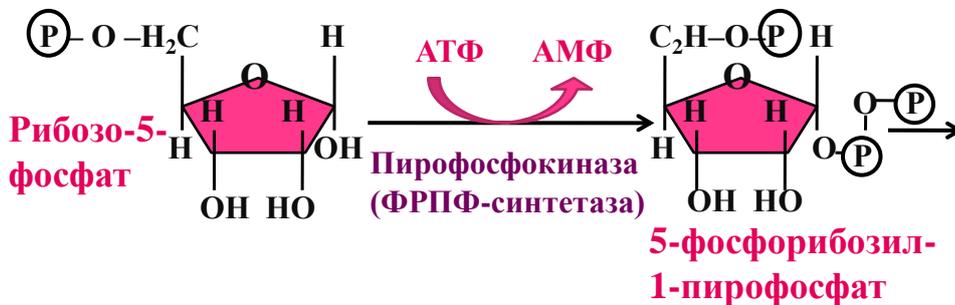
Активно синтез пуриновых нуклеотидов осуществляется в печени. Она снабжает пуринами некоторые ткани, где их синтез идет медленно, а в некоторых тканях вовсе не идет.

**ПРИ СИНТЕЗЕ ПУРИНОВОГО КОЛЬЦА
ИСПОЛЗУЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ:**



Основной путь синтеза **пуриновых нуклеотидов** начинается с синтеза 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который подвергается амидированию с образованием 5-фосфорибозил-1-аминина.

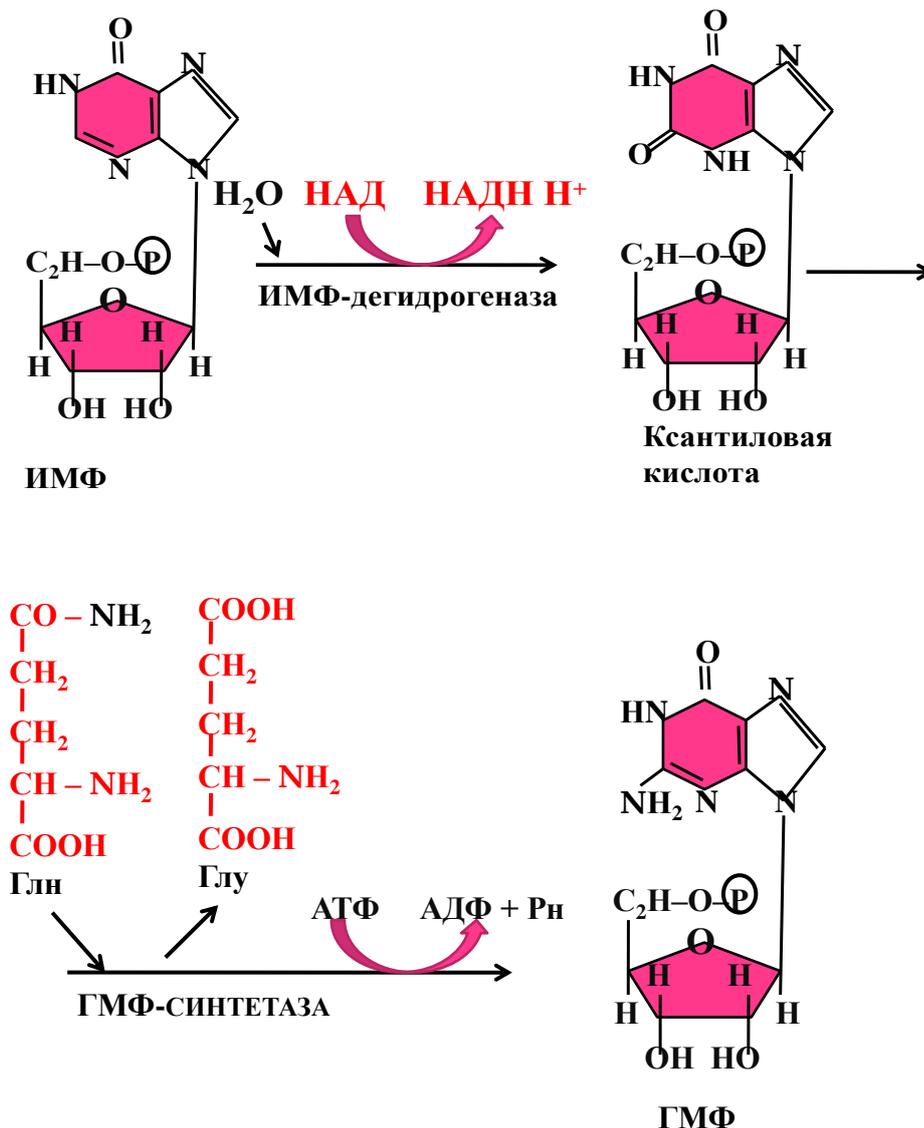
Синтез пуриновых нуклеотидов



Катализируется эта реакция ферментом ФРПФамидо-трансферазой.

Формирование структуры пуринового нуклеотида происходит на фосфорибозилфосфоамине. В процессе синтеза образуется первый нуклеотид 5-ИМФ, который через ряд последовательных реакций превращается в 3-АМФ и 5-ГМФ.

Синтез гуанозинмонофосфата



Пуриновые нуклеотиды могут синтезироваться «запасными путями». В первом варианте в синтез вовлекаются азотистые основания и нуклеозиды, а также азотистые основания, образующиеся в процессе катаболизма нуклеиновых кислот. Катализируют эти реакции ферменты:

- 1) Аденинфосфорибозилтрансфераза, отвечающая за образование АМФ.

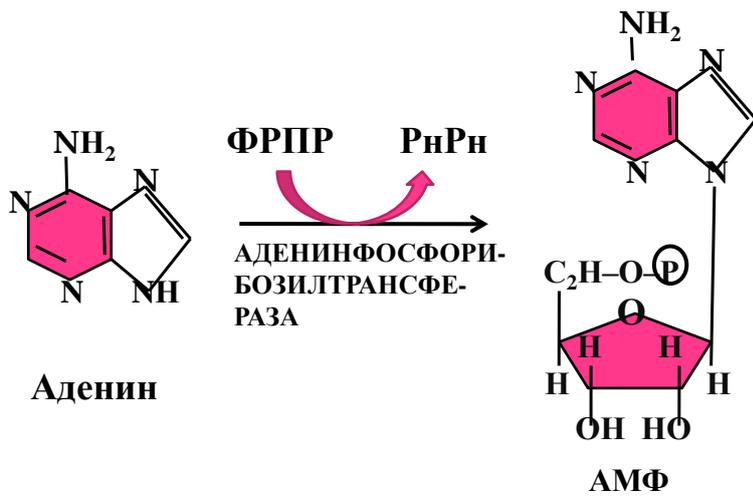
$$\text{Аденин} + \text{ФРПФ} \rightarrow \text{АМФ} + \text{P} + \text{P}$$
- 2) Гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза, которая использует в качестве субстрата гипоксантин и гуанин

$$\text{гуанин} + \text{ФРПФ} \rightarrow \text{ГМФ} \quad \text{гипоксантин} + \text{ФРПФ} \rightarrow \text{ИМФ}.$$

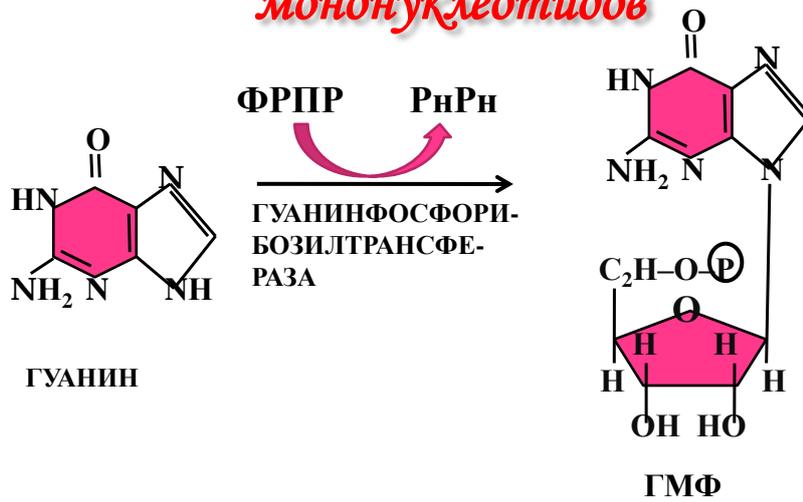
Этот путь синтеза нуклеотидов снижает выход конечного продукта катаболизма пуринов — мочевой кислоты, накопление которой опасно для жизни.

Второй «запасной путь» синтеза нуклеотидов включает процесс фосфорилирования нуклеозидов с помощью АТФ. Так аденозин аденозинкиназой превращается в АМФ. Процессы синтеза нуклеотидов пуринового ряда регулируются собственно продуктами синтеза (АМФ, ГМФ, ИМФ) по механизму отрицательной обратной связи.

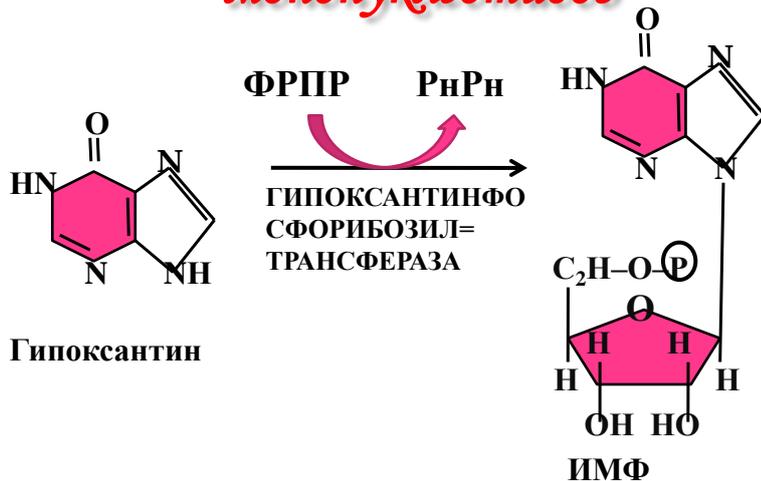
Запасные пути синтеза пуриновых моноклеотидов



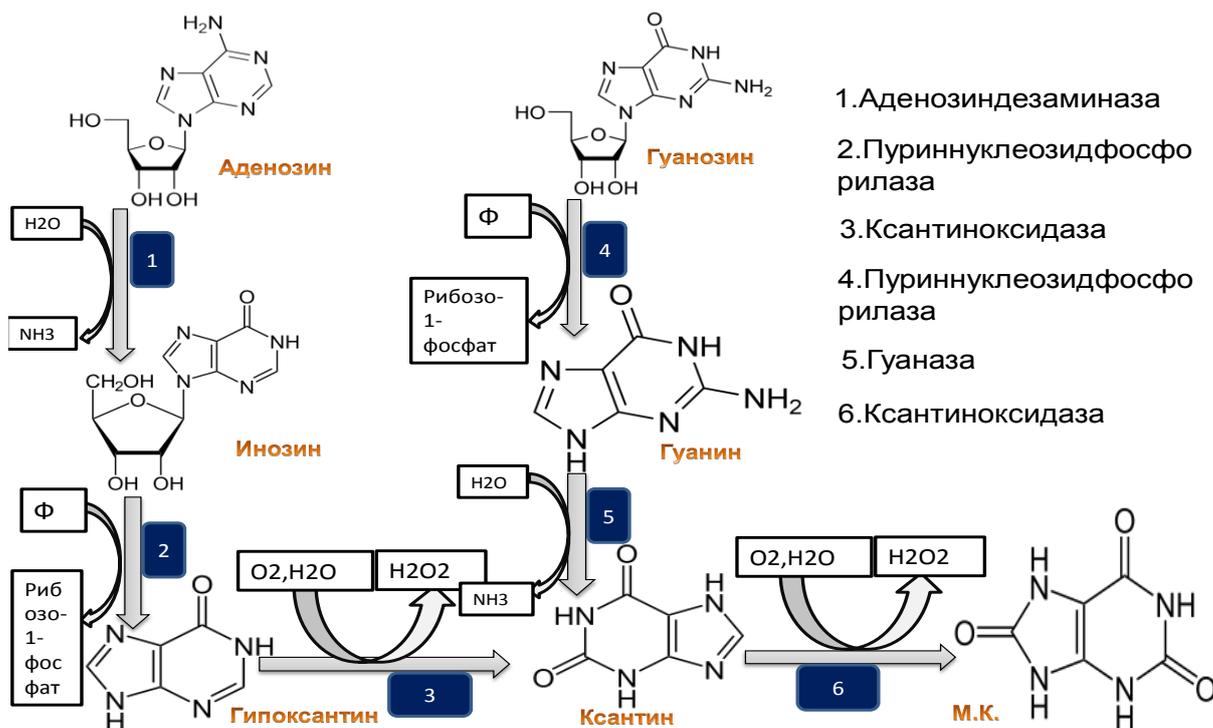
Запасные пути синтеза пуриновых моноклеотидов



Запасные пути синтеза пуриновых мононуклеотидов



Катаболическим процессам подвергаются пуриновые нуклеотиды экзогенного (пищевого) и эндогенного происхождения. Пищевые нуклеотиды подвергаются ферментативному гидролизу в ЖКТ, в основном в тонком кишечнике. Осуществляют этот процесс специфические нуклеазы (РНК-азы, ДНК-азы), нуклеотидазы и нуклеозидазы кишечного сока. Образовавшиеся мононуклеотиды превращаются путем дефосфорилирования специфическими фосфатазами в нуклеозиды. Нуклеозиды, свободные азотистые основания, пентозы, фосфаты усваиваются. На клеточном уровне последние могут включаться в синтез поли-олигонуклеотидов, либо подвергаются дальнейшему разрушению. В условиях клетки аналогично разрушаются и эндогенные полинуклеотиды. Однако, образовавшиеся мононуклеотиды подвергаются более



основательному разрушению и конечным продуктом является мочевая кислота.

Мочевая кислота поступает в кровь, затем выводится с мочой. В норме содержание мочевой кислоты не превышает 0,15-0,47 ммоль/л, а в суточной моче 400-600 мг. Мочевая кислота слабая органическая кислота, плохо растворяется в воде. Повышение ее

концентрации 0,47-1,1 ммоль/л (гиперурикемия) способствует кристаллизации уратов в мягких тканях и связках, где замедлен кровоток. Развивается воспалительный процесс, что ограничивает движения в суставах, особенно мелких. Эта патология называется **подагрой**.

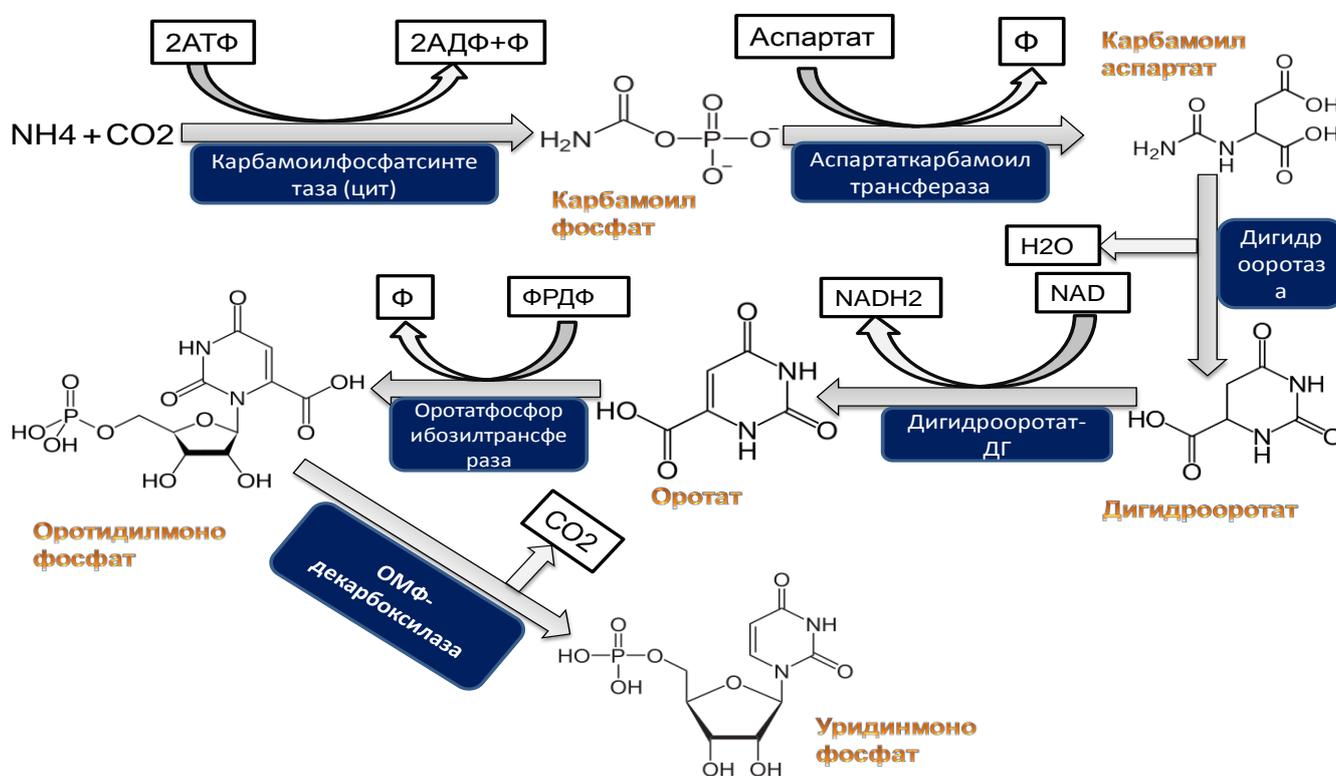
Урикемия возможна:

- 1) при повышении активности ксантиноксидазы;
- 2) несостоятельности процессов реутилизации, связанной с малой активностью соответствующих трансфераз или отсутствием их синтеза. Несостоятельность ферментов «запасных путей» синтеза пуриновых нуклеотидов приводит к наследственной патологии: синдрому Леша-Нихана, при котором отмечается резкое снижение активности или даже полное отсутствие гипоксантин-гуанин-фосфорилпиридофосфаттрансферазы. При этом уратов синтезируется в 3-6 раз больше, что приводит к активному образованию камней в паренхиматозных органах, умственной отсталости, агрессивному поведению и нанесению себе увечий. Такие дети нежизнеспособны. Основным препаратом, который используется при гиперурикемии — аллопуринол, который по структуре аналогичен пурину. Аллопуринол — конкурентный ингибитор ксантиноксидазы, поэтому катаболизм пуриновых нуклеотидов завершается гипоксантином, растворимость которого выше.

Синтез пиримидиновых оснований идет в основном *de novo*, и локализуется в цитоплазме. Осуществляется при участии трех ферментов, два из которых полифункциональны. Первый поли-функциональный фермент состоит из трех доменов, обладающих ферментативной активностью и обеспечивают ход первых трех реакций: образование активной формы NH_3 , перенос этой активной формы на аспартат, и, наконец, отщепление молекулы воды, что ведет к образованию пиримидинового кольца. Образуемый дигидрооротат окисляется в оротовую кислоту.

Третий фермент также полифункциональный, осуществляет перенос ФРПФ на оротовую кислоту, образуя нуклеотид с его дальнейшим аминированием УМФ превращается в ЦТФ с участием фермента ЦТФ-синтаза, используя амидную группу *глн* и энергию АТФ.

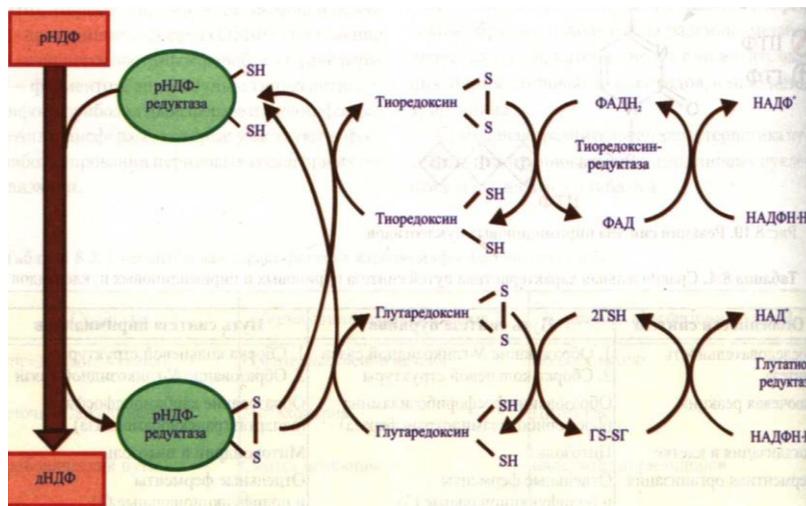
СИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВОГО КОЛЬЦА



Очень важен синтез ТМФ, поскольку он является мономером ДНК. Синтез ТМФ начинается с восстановления рибонуклеотида (УМФ) в дезоксирибонуклеотид. Процесс восстановления рибозы в d-рибозу требует восстановительных потенциалов. Непол-

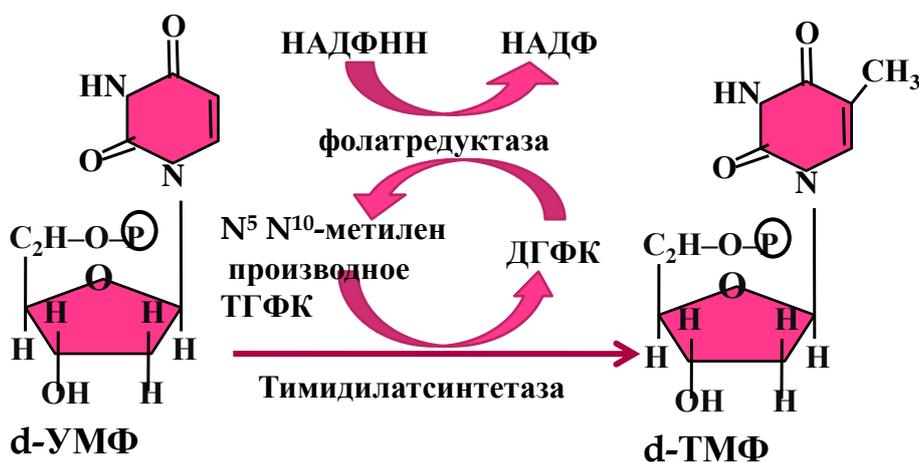
средственным источником последних является восстановленный белок-тиоредоксин, содержащий в своей структуре 2 свободные SH-группы. Этот белок окисляется в S-S форму. Для восстановления этого белка есть ФАД-зависимый фермент тиоредоксинредуктаза, требующая наличия восстановленного НАДФН. Схема представлена:

Синтез d-НДФ



Далее для синтеза ТМФ необходимо иметь метилированное производное урацила — тимин. В клетке имеется особый фермент тимидилатсинтетаза, катализирует метилирование не свободного урацила, а 5-УМФ. Донором метильной группы в этой реакции является метилпроизводное ДГФК. Схема:

Синтез d-ТМФ

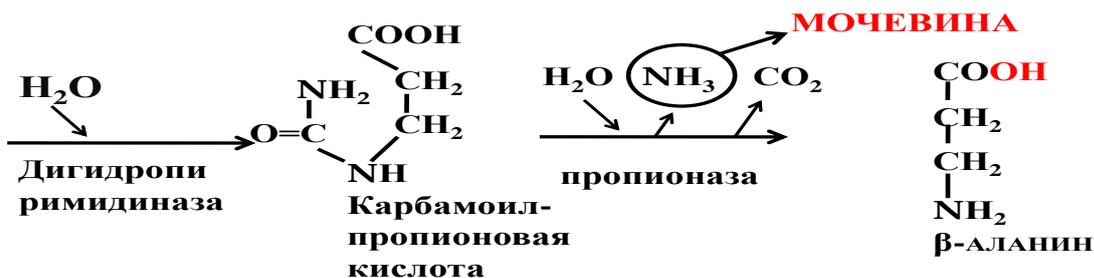
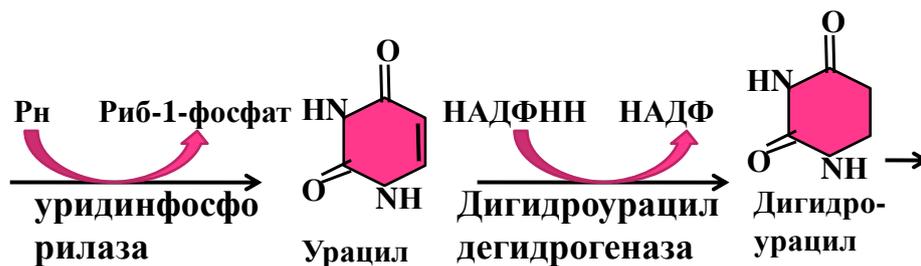
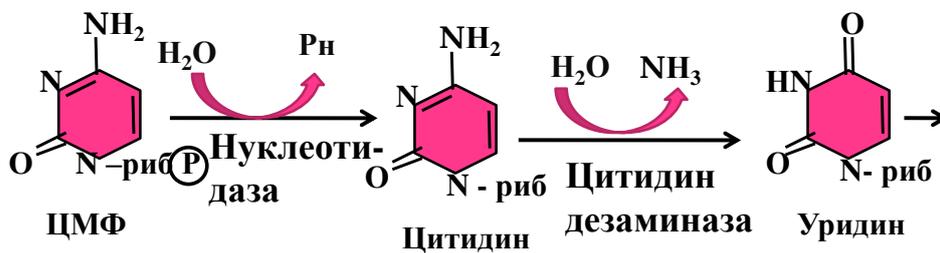


Пиримидиновые азотистые основания могут превращаться в нуклеотиды «запасными путями». Ферменты, участвующие в этом процессе: пиримидинфосфорилтрансфераза и уридин-цитозинкиназа.

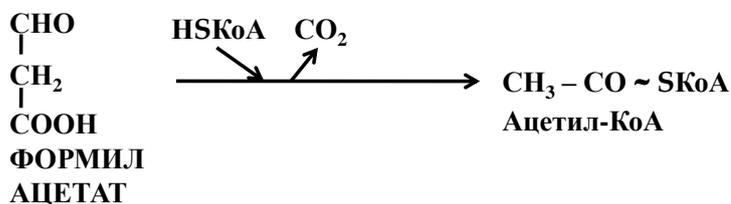
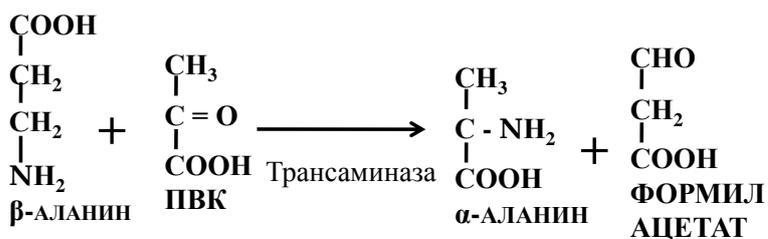
Процессы синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируются через изменение активности аллостерических ферментов: карбамоилфосфатсинтетаза II, аспараттранскарабоамилаза. Первый ингибируется ЦТФ, активируется ФРПФ, второй ингибируется ЦТФ, но активируется АТФ.

Ферментные системы организма способны разрушать пиримидиновые нуклеотиды до простых соединений: мочевины, углекислый газ, β -аланин или, β -аминоизобутират.

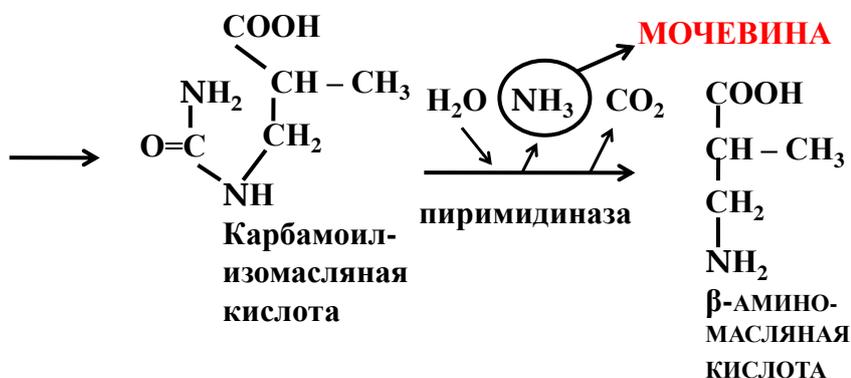
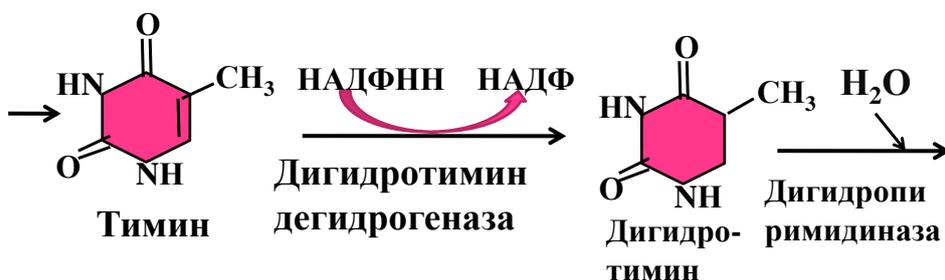
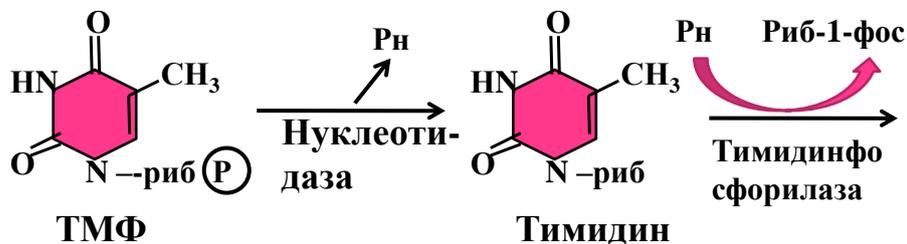
Распад пиримидиновых мононуклеотидов



Трансаминирование β -аланина



При разрушении ТМФ конечные продукты представлены мочевиной, CO_2 , β -аминоизобутиратом. β -аланин может превращаться в α -аланин в реакции трансаминирования с ПВК. α -аланин включается в синтез белка. Кроме того, может включаться в состав мышечных пептидов карнозина и ансерина. Бактериальные клетки используют β -аланин на синтез пантотеновой кислоты, входящей в состав КоА. β -аминоизобутират превращается в метилмалонил КоА, а затем в сукцинил КоА и сгорает в ЦТК.



II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Структурную организацию нуклеотидов.
2. Мономеры, используемые на синтез ДНК, РНК.
3. Основной синтез моонуклеотидов (АМФ, ГМФ).
4. «Запасные пути» синтеза нуклеотидов. Ферменты этих процессов.
5. Ферментативный гидролиз экзогенных нуклеотидов в ЖКТ, конечные продукты, их судьба.
6. Катаболизм нуклеотидов на уровне клетки.
7. Конечный продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.
8. Роль процессов «реутилизации» пуриновых нуклеотидов в сохранении малых концентраций мочевой кислоты.
9. Патобиохимические основы развития подагры и синдрома Леша-Нихана.
10. Основные принципы лечения подагры.
11. Синтез УМФ.
12. Особенности синтеза ТМФ.
13. Роль ТГФК в синтезе ТМФ.
14. «Запасные пути» синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
15. Распад пиримидиновых нуклеотидов.
16. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеотидов, их судьба.

Студент должен уметь:

1. Написать структуры моонуклеотидов (АМФ, ГМФ, УМФ, ЦМФ, ТМФ).
2. Отобразить фрагмент первичной структуры РНК, связи, стабилизирующие первичную структуру полинуклеотида.
3. Написать пуриновое ядро, указать соединения, образующие это ядро.
4. Объяснить начало синтеза пуринового моонуклеотида, особенности этого процесса.
5. «Запасные пути» синтеза пуриновых нуклеотидов, ферменты.
6. Назвать ферменты, расщепляющие пищевые полинуклеотиды в ЖКТ.
7. Указать конечные продукты гидролиза и их судьбу.
8. Написать катаболизм моонуклеотида в условиях клетки.
9. Назвать конечные продукты тканевого катаболизма АМФ.
10. Обнаружить в исследуемой моче мочевую кислоту, используя качественные методы на мочевую кислоту.
11. Объяснить значение количественного определения мочевой кислоты.
12. Написать синтез УМФ, ферменты, локализация процесса.
13. Объяснить особенности синтеза ТМФ. Роль ТГФК в синтезе ТМФ.
14. Написать распад УМФ и ТМФ.
15. Отобразить конечные продукты катаболизма нуклеотидов пиримидинового ряда и их судьбу.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Гидролитическое расщепление нуклеопротеидов в ЖКТ, ферменты этого процесса.
2. Синтез и распад пуриновых нуклеотидов на тканевом уровне.
3. Синтез и распад пиримидиновых нуклеотидов в тканях. Роль оротовой кислоты в этом процессе.
4. Конечные продукты метаболизма нуклеотидов, их судьба.
5. Молекулярная патология (подагра, синдром Леша-Нихана, оротатацидурия).

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Обнаружение мочевой кислоты в моче.
2. Мурексидная реакция.

Наглядные пособия:

Таблицы

V. Наименование лабораторной работы

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1 Обнаружение мочевой кислоты в моче

Принцип метода: мочевая кислота образует с катионами серебра труднорастворимую соль (мочекислое серебро).

Методика выполнения: В две пробирки вносят: в первую — 5 капель мочи, во вторую — 5 капель раствора мочекислового натрия. В каждую пробирку добавляют по 2 капли раствора аммиака и азотнокислового серебра. В пробирках возникают аморфные осадки мочекислового серебра.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

Мурексидная реакция

Принцип метода: кристаллы мочевой кислоты превращаются при обработке их азотной кислотой и аммиаком в мурексид — соединение, окрашенное в пурпурный цвет.

Методика выполнения: На предметное стекло помещают шпателем несколько кристаллов мочевой кислоты и на них помещают небольшую каплю азотистой кислоты. Осторожно нагревают стекло над пламенем спиртовки. Азотная кислота испаряется и остаётся коричнево-красный осадок. Добавляют к осадку по каплям водный раствор аммиака до появления пурпурного, окрашивания.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Азотистые основания пуринового и пиримидинового ряда, входящие в структуру мононуклеотидов.
2. Структурная организация ДНК.
3. Структурная организация РНК.
4. Гидролитическое расщепление пищевых нуклеотидов, ферменты.
5. Конечные продукты гидролиза, их судьба.
6. Распад АМФ в клетке, ферменты, локализация процесса.
7. Конечный продукт тканевого распада пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.
8. Причины гиперурикемии и соответственно развитие подагры и синдрома Леша — Нихана.
9. Написать основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов.
10. «Запасные пути синтеза» пуриновых нуклеотидов.
11. Регуляция процессов синтеза и катаболизма пуриновых нуклеотидов.
12. Написать синтез УМФ, ферменты, локализация процесса.
13. Синтез ТМФ, особенности синтеза, роль ТГФК.
14. Регуляция ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
15. Что такое оротацидурия?
16. Написать пути катаболизма пиримидиновых нуклеотидов.

17. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеопротеидов, их судьба.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Назовите основные соединения, включающиеся в процесс синтеза пуриновых оснований.
2. Напишите синтез ТМФ. Какова роль витамина В12 и ТГФК в этом процессе?
3. Назовите конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
4. Методы определения мочевой кислоты в моче. Содержание мочевой кислоты в моче в норме.
5. Назовите причины развития подагры, синдрома Леша- Нихана.

VIII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2010
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медия»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медия», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия