

METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS

I. Reseña:

Los ribonucleósidos y los desoxirribonucleósidos fosfato (nucleótidos) son esenciales para todas las células.

Sin ellas, ninguno DNA, ni el RNA pueden ser producidos, y por tanto las proteínas no pueden ser sintetizadas o las células proliferadas. Los nucleótidos también sirven como transportadores de actividad intermediaria en la síntesis de algunos carbohidratos, lípidos y proteínas y son componentes estructurales de un número de coenzimas esenciales como la coenzima A, FAD, NAD⁺ y NADP⁺. En adición, los nucleótidos juegan un rol importante como moneda energética en la célula.

Finalmente, los nucleótidos son importantes compuestos regulatorios para muchas de las rutas del metabolismo intermediario, inhibiendo o activando enzimas claves. Las bases de purina y pirimidina que se encuentran en nucleótidos pueden ser sintetizadas de novo o pueden ser obtenidos a través de rutas de salvamento que permiten el reuso de las bases preformadas resultado de un ciclo celular normal o por la dieta.

II. Estructura de los nucleótidos

Los nucleótidos están compuestos de una base nitrogenada, un monosacárido pentosa, y una, dos o tres grupos fosfato. Las bases que contienen nitrógeno pertenecen a dos familias de compuestos: las purinas y las pirimidinas.

• *Estructuras de purina y pirimidina:*

Ambos DNA y RNA contienen la misma base de purina: adenina (A) y guanina (G). Ambos DNA y RNA contienen la citosina pirimidina (C), pero ellas difieren en su segunda base pirimidina: el DNA contiene timina (T) mientras que el RNA contiene uracilo (U); T y U difieren solo por grupo metilo presente en T pero ausente en U (Nota: inusualmente bases son encontradas ocasionalmente en especies de DNA y RNA, por ejemplo, en algunos DNA virales y RNA de transferencia. Las modificaciones de las bases incluyen por ejemplo la metilación, hidroximetilación, glicosilación, acetilación o alteración de los átomos en el anillo de pirimidina. La presencia de una base inusual en una secuencia nucleotídica puede ayudar a su reconocimiento por enzimas específicas o protegerla de iniciar una degradación por nucleasas.

• *Nucleósidos*

La adición de un azúcar pentosa a una base produce un nucleósido. Los ribonucleósidos de A, G, C, T y U son llamados adenosina, guanosina, histidina, timidina y uridina respectivamente. Si el azúcar es una ribosa un ribonucleósido es producido, si el azúcar es 2-desoxirribosa, un deoxyribonucleósido es producido.

Los átomos de carbono y nitrógeno en los anillos de la base y el azúcar son numerados por separado. Note que los átomos en los anillos de las bases son enumeradas de 1 a 6 en pirimidinas, y de 1 a 9 en purinas, de donde los carbonos en la pentosa son enumerados 1' a 5'. Además, cuando tú te refieres al carbono 5' de un nucleósido (o nucleótido), tú estás especificando un átomo de carbono en la pentosa en vez que un átomo en la base.

• *Nucleótidos.*

Los nucleótidos son mono, di ó tri ésteres fosfato de nucleósidos. El grupo fosfato es atrapado por una unión

éster a el 5'-OH de la pentosa. Tal compuesto es llamado un nucleósido 5'fosfato o un 5'nucleótido. El tipo de pentosa es denotado por el prefijo en los nombres 5'desoxirribonucleótido. Si un grupo fosfato es unido al carbono 5' de la pentosa, la estructura es un nucleósido monofosfato (NMP) como el AMP o CMP. Si un segundo o tercer fosfato es adicionado al nucleósido, un nucleósido difosfato (por ejemplo, ADP) o el trifosfato (por ejemplo, ATP) es obtenido. (Nota: Los grupos fosfato son los responsables de las cargas negativas asociadas con nucleótidos y ácidos nucleicos.)

III Síntesis de Nucleótidos de Purina por la ruta de NOVO.

Los átomos del anillo de purina son contribuidos por un número de compuestos, incluyendo aminoácidos (ác. aspártico, glicina, y glutamina), CO₂ y derivados de tetrahidrofolato. El anillo de purina es construido por unas series de reacciones que adicionan los carbonos y los nitrógenos donados a una ribosa 5-fosfato preformada.

• Síntesis de 5-fosforribosil-1-pirofosfato:

La ribosa fosfato pirofosfocinasa (PRPP sintetasa) es activada por Pi e inhibida por un nucleósido de purina di y trifosfato. (Nota: La mitad del azúcar de PRPP es ribosa. En la síntesis de nucleótidos, los ribonucleótidos son producidos primero, y pueden subsecuentemente ser reducidos a desoxirribonucleótidos. El PRPP también participa en la síntesis de pirimidinas y en el salvamento de las reacciones de bases de purinas y pirimidinas.)

• Síntesis de 5'-fosforribosilamina:

El grupo amida de la glutamina reemplaza al grupo pirofosfato unido al carbono 1 del PRPP. La enzima glutamina: fosforribosil pirofosfato amidotransferasa es inhibida por la purina 5' nucleótido AMP, GMP y IMP, los productos finales de ésta ruta. Este es el paso obligado en la biosíntesis de nucleósidos de purina. La velocidad de la reacción es también controlada por la concentración intracelular de los sustratos de glutamina y por el PRPP. Nota: La concentración intracelular de PRPP es normalmente 10⁻⁵ a 10⁻⁶ mol / L, de este modo la Km de la amidotransferasa es 3 x 10⁻⁴ mol / L por tanto, por esta causa la concentración de sustrato esta muy por debajo de la Km, cualquier pequeño cambio en las concentraciones de PRPP es proporcional al cambio de la velocidad de la reacción.

• Síntesis de inosina monofosfato, el padre del nucleótido de purina:

Los próximos nueve pasos en la biosíntesis de los nucleótidos de purina llevan a la síntesis de IMP. Ésta ruta requiere de 4 moléculas de ATP como fuente de energía.

• Inhibidores de síntesis de purinas:

Algunos inhibidores de la síntesis de purina son específicos para la inhibición del crecimiento de la rápida división de microorganismos (por ejemplo, las sulfonamidas). Los análogos estructurales del ácido fólico (por ejemplo, el metotrexato) son usados farmacológicamente para el control del desarrollo del cáncer, interfiriendo con la síntesis de nucleótidos, y por tanto de DNA y RNA. (Nota: Los inhibidores específicos de la síntesis de purinas son extremadamente tóxicos a tejidos humanos, especialmente las células tumorales, estructuras desarrollando estructuras tales como en un feto o células tipo que normalmente se replican rápidamente incluyendo las de la médula ósea, piel, tracto gastrointestinal, o los folículos

del cabello. Debido a que los inhibidores son usados para alentar el crecimiento de las células cancerosas también afectan las replications de las células normales, pueden causar anemia, piel escamosa o costrosa, perturbación de la ruta GI y calvicie.

- **Conversión de IMP a AMP y GMP:**

La conversión de IMP a otros AMP ó GMP utiliza dos pasos de energía requeridos en la ruta. Note que la síntesis de AMP requiere GTP como recurso de energía, por tanto la síntesis de GMP requiere ATP. También, la primera reacción en cada ruta es inhibida por el producto final de la ruta. Esto provee un mecanismo divertido de IMP a la síntesis de especies de purina presentes en menores cantidades. (Nota: Si ambos AMP y GMP están presentes en cantidades adecuadas, la ruta de novo de síntesis de purina es cambiada en el paso de amidotransferasa.

- **Conversión de nucleósidos monofosfatos a nucleósidos difosfato y trifosfato:**

Los nucleósido difosfato (NDP) son sintetizados del correspondiente nucleósido monofosfato (NMP) por la base específica nucleósido cinasa monofosfato. (Nota: Estas cinasas no distinguen entre ribosa o desoxirribosa en el sustrato). ATP es eneralmente la fuente del fosfato transferido debido a que este está presente en altas concentraciones mayores que los otros nucleósidos trifosfato.

Por ejemplo, adenilato cinasa:



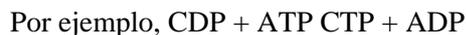
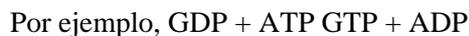
Por ejemplo, guanilato cinasa:



Adenilato cinasa es particularmente activa en el hígado y en el músculo, donde el ciclo de utilización de energía de ATP es alta. Su función es mantener un equilibrio de cantidades de AMP, ADP y ATP:



Los nucleósidos difosfato y trifosfato son interconvertidos por nucleósido difosfato cinasa, una enzima que, a diferencia de las monofosfato cinasas, tiene una amplia especificidad:



Vía de Salvamento para purinas

Las purinas son resultado de un ciclo celular normal de ácidos nucléicos o son obtenidas a través de la dieta y no degradadas, pueden ser reconvertidas a nucleósidos trifosfatos y ser usadas por el cuerpo humano. Esto es lo referente a la vía de salvamento de las purinas. Dos enzimas son incluidas en ésta vía: la adeninafosforibosil transferasa (APRT) y la hipoxantina–guanina fosforibosil transferasa (HGPRT). Ambas enzimas utilizan PRPP como la fuente de un grupo de ribosa 5 fosfato.

La liberación del pirofosfato hace esta reacción irreversible. Una deficiencia de HGPRT causa el síndrome de Lesch Nyhan.

Degradación de los nucleótidos de Purina

Los nucleótidos de purina son secuencialmente degradados por la eliminación o alteración de posiciones del nucleótido. El producto final del catabolismo de purina en humanos es el ácido úrico. Los mamíferos y otros primates oxidan ácido úrico más remoto a alantoides, quiénes, en algunos animales mamíferos, puede ser

degradado posteriormente a urea o aún a amoníaco.

- Formación de ácido úrico

Una suma de pasos en la producción de ácido úrico y enfermedades genéticas asociadas a la deficiencia de enzimas específicas degradativas.

- Un grupo amino es transferido de AMP para producir IMP, una forma de adenosina que produce inosina. (hipoxantina-ribosa).
- IMP y GMP son convertidos en las formas de nucleósidos inosina y guanosina por la acción de 5'nucleotidasa.
- La nucleósido fosforilasa de purina convierte inosina y guanosina en sus respectivas bases púricas, hipoxantina y guanina.
- La guanina es desaminada a la forma xantina.
- La hipoxantina es oxidada por la xantina oxidasa a xantina, quien es posteriormente oxidada por la xantina oxidasa hasta ácido úrico, el producto final de la degradación de purina humana. El ácido úrico es excretado en la orina.

Degradación de los ácidos nucleicos en el intestino delgado

Las ribonucleasas y las desoxiribonucleasas, son secretadas en el jugo pancreático, hidrólisis de RNA y DNA primariamente a oligonucleótidos. Los oligonucleótidos son posteriormente hidrolizados por las fosfodiesterasas pancreáticas, produciendo una mezcla de 3' y 5' mononucleótidos. Una familia de nucleotidasas elimina los grupos fosfato hidrolíticamente, liberando nucleósidos que pueden ser absorbidos por las células de la mucosa intestinal o pueden ser posteriormente degradadas a bases libres antes de ser tomadas. Nota: Las purinas y las pirimidinas de la dieta no son utilizadas como grandes extensiones para la síntesis de los tejidos de los ácidos nucleicos. Las purinas son generalmente convertidas a ácido úrico por las células de la mucosa intestinal y son excretadas a la orina. El restante de purinas de la dieta son metabolizadas por la flora intestinal.

Síntesis de Pirimidinas

De diferente forma la síntesis del anillo de purina donde el anillo es construido de una ribosa 5 fosfato preformada, el anillo de pirimidina es sintetizado antes de ser unido a la ribosa 5 fosfato, quien es donado por la PRPP. Las fuentes de átomos de carbono o nitrógeno son la glutamina, el CO₂, el ácido aspártico.

Síntesis de carbamoil fosfato

El paso obligado de esta vía en las células de mamíferos es la síntesis de carbamoil fosfato de la glutamina y CO₂, catalizada por la carbamoil fosfato sintetasa II. De diferente manera las enzimas carboxilasas, CPSII no requieren de biotina como la coenzima. CPSII es inhibida por la UTP y es activada por la ATP y PRPP. Nota la carbamoil fosfato es también un precursor de urea. Sin embargo, en la vía de síntesis de pirimidina, la carbamoil fosfato es hecha en el citosol, por cuanto en el ciclo de la urea, la carbamoil fosfato es sintetizada en la mitocondria por el amoníaco como la fuente de nitrógeno, donde la CPSII utiliza el grupo -amida de la glutamina. Además la glutamina es requerida para ambas síntesis de purina y pirimidina.

Síntesis de ácido Orótico.

El segundo paso en la síntesis de pirimidinas es la formación de carbamoilaspartato, catalizada por la aspartato transcarbamoilasa. El anillo de pirimidina es luego cerrado hidrolíticamente por la dihidroorotasa. La resultante dihidroorotato es oxidada para producir ácido orótico. Nota: Las primeras tres enzimas en esta vía (CPSII, aspartato transcarbamoilasa, y dihidroorotasa) son todas dominadas por la misma cadena

polipeptídica. Este es otro ejemplo de un polipéptido multifuncional o multicatalítico que facilita el orden de síntesis de un importante compuesto.

Formación del nucleótido de pirimidina

El anillo completo de pirimidina es convertido a el nucleótido orotidina 5' monofosfato (OMP) en la segunda etapa de la síntesis de pirimidina. El PRPP es otra vez el donador del 5 fosfato. La enzima orotato fosforibosil transferasa produce el nucleótido (OMP) con la liberación del pirofosfato, haciendo una reacción biológicamente irreversible. Nota: ambas síntesis de purinas y pirimidinas además requieren glutamina y PRPP como precursores esenciales. El OMP, el padre del mononucleótido de pirimidina, es convertido a uridina monofosfato (UMP) por el orotidilato descarboxilasa, quien remueve el grupo ácido carboxi. El orotato fosforibosiltransferasa y la orotidilato descarboxilasa son también dominio de una cadena polipeptídica simple. El ácido orótico resulta de una deficiencia de esta enzima bifuncional resultando un ácido orótico en la orina.

Síntesis de uridina trifosfato y histidina trifosfato

La histidina trifosfato (CTP) es producido por la aminación de UTP por la CTP sintasa. Nota: el nitrógeno es provisto por glutamina— otro ejemplo de una reacción en la biosíntesis de nucleótidos donde este aminoácido es requerido.

Degradación de los nucleótidos de Pirimidina

De otra manera los anillos de purina, quienes no son adheridas a las células humanas, el anillo de pirimidina puede ser abierto y degradado a una estructura altamente soluble, como la –alanina y la – aminoisobutirato, que pueden servir como precursores de acetil CoA y succinil CoA respectivamente. Alternativamente, las pirimidinas pueden ser salvadas y convertidas en nucleótidos por la enzima pirimidina fosforibosiltransferasa en reacciones de salvamento de purinas, utilizando PRPP como la fuente de ribosa–P.

Conversión de los ribonucleótidos a desoxiribonucleótidos

Los nucleótidos sintetizados pueden ser usados como bloques constructores en la síntesis de RNA o como transportadores de nucleótidos de otros compuestos como los azúcares. Los nucleótidos que requieren de DNA para la síntesis son 2'desoxiribonucleótidos, quienes son producidos por ribonucleósidos difosfato.

- Ribonucleótido reductasa.

Los ribonucleótidos reductasa (ribonucleósido difosfato reductasa) es una enzima multisubunitaria (dos subunidades idénticas B1 y dos subunidades idénticas B2) que es específica para la reducción de los nucleósidos difosfato (ADP, GDP, CDP y UDP) a su formas desoxi (dADP, dGDP, dCDP y dUDP) . El donador inmediato de los átomos de hidrógeno necesitada para la reducción de el grupo 2'hidroxi son dos grupos sulfidrilos en la propia enzima, quien, durante la reacción, forma un puente disulfuro.

- Regeneración de la enzima reducida.

De manera que para la ribonucleótido reductasa continua produciendo desoxiribonucleótidos, el puente disulfuro creado durante la producción del 2'–desoxi carbono puede ser reducido. La fuente de equivalentes reductores es un péptido de coenzima de ribonucleótido reductasa, tioredoxina, quien contiene dos residuos de cisteína separados por dos aminoácidos en la cadena peptídica. Los dos grupos sulfidrilos de tioredoxina donan sus átomos de hidrógeno a la ribonucleótido reductasa en el proceso formando una unión disulfuro.

- Regeneración de la tioredoxina reducida.

La tioredoxina puede ser convertida de regreso en una forma reducida con el objetivo de continuar el desempeño de su función.

- Regulación de la síntesis de desoxiribonucleótidos.

La ribonucleótido reductasa es la responsable para el mantenimiento de un equilibrado balance de suplemento de los desoxiribonucleótidos requeridos para la síntesis de DNA. Para ejecutar esto, la regulación de la enzima es un complejo. Además en el sitio activo , hay dos sitios en la enzima envueltos en su actividad regulatoria.

- Sitio activo. La unión de dATP a un sitio alostérico (conocido como sitio activo) en la enzima inhibe la actividad catalítica total de la enzima, y además previene la reducción de cualquiera de los cuatro nucleósidos difosfato. Esto explica la toxicidad de los niveles incrementados de dATP vistos en condiciones como la deficiencia de la adenosina desaminasa.
- Sitio específico del sustrato. La unión del nucleósido trifosfato a un sitio adicional alostérico (conocido como el sitio específico del sustrato) en la enzima regula la especificidad del sustrato causando un incremento en la conversión de diferentes especies de ribonucleótidos a desoxiribonucleótidos como son requeridos para la síntesis de ADN.

Síntesis de Timidina Monofosfato de dUMP

EL dUMP es convertido a dTMP por la timidilato sintetasa , quien utiliza N⁵N¹⁰metilén tetrahidrofolato como la fuente del grupo metilo. Esta es una reacción inusual en que el tetrahidrofolato (THF) contribuye no solo a una unidad de carbón pero también a dos átomos de hidrógeno del anillo de pterina, resultando en la oxidación del THF a dihidrofolato DHF. Los inhibidores de la timidilato sintetasa incluyen los análogos de la timina como la 5-fluorouracil, que se utiliza como un exitoso agente antitumoral. Además, la DHF puede ser reducida en la presencia de fármacos como la metotrexano. Por una disminución del suplemento de THF, estos análogos del folato no solo inhiben la síntesis de purinas , pero previenen la metilación de dUMP a dTMP. Ellos también disminuyen la concentración celular de este componente esencial del DNA. La síntesis de DNA es además inhibida y el crecimiento celular disminuida. Por su disponibilidad de los precursores de nucleótidos, éstos fármacos son utilizados para disminuir la velocidad de crecimiento de las células cancerosas.