

# 3. BIOSINTESIS DE NUCLEOTIDOS PURICOS

---

# **ESQUEMA. Biosíntesis de nucleótidos púricos**

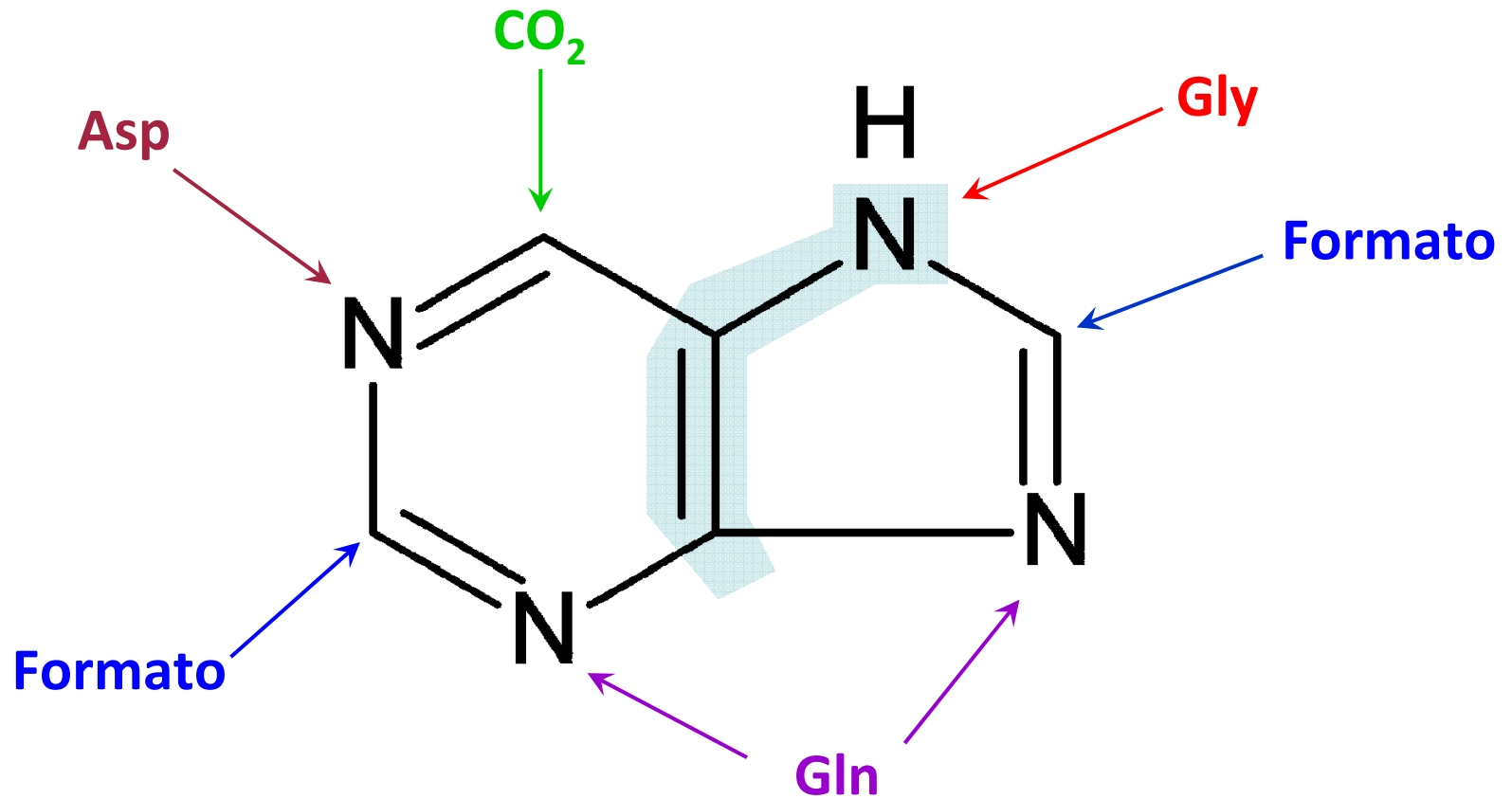
---

- 1. Vía *de novo* de la biosíntesis de nucleótidos púricos**
  - Precusores
  - Características de la vía
  - Reacciones de la vía hasta la síntesis del IMP
  - Balance  $\epsilon$
  - Síntesis de ATP y GTP
  - Síntesis de nucleótidos trifosfato
  - Síntesis de purinas vs. pirimidinas
  - Agentes bloqueantes de la vía *de novo*
  
- 2. Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos**
  - Regulación de la vía *de novo* de biosíntesis de nucleótidos púricos
  - Regulación coordinada de las síntesis de purinas y pirimidinas
  
- 3. Vía de recaptación de nucleótidos púricos**
  
- 4. Catabolismo de los nucleótidos púricos**
  
- 5. Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos**
  - Síndrome de Lesch-Nyhan: deficiencia en HGPRT
  - Hiperuricemias y gota

# SINTESIS DE NOVO DE NUCLEOTIDOS PURICOS

---

## PRECURSORES



Estudios con marcaje radiactivo

## Características de la vía

---

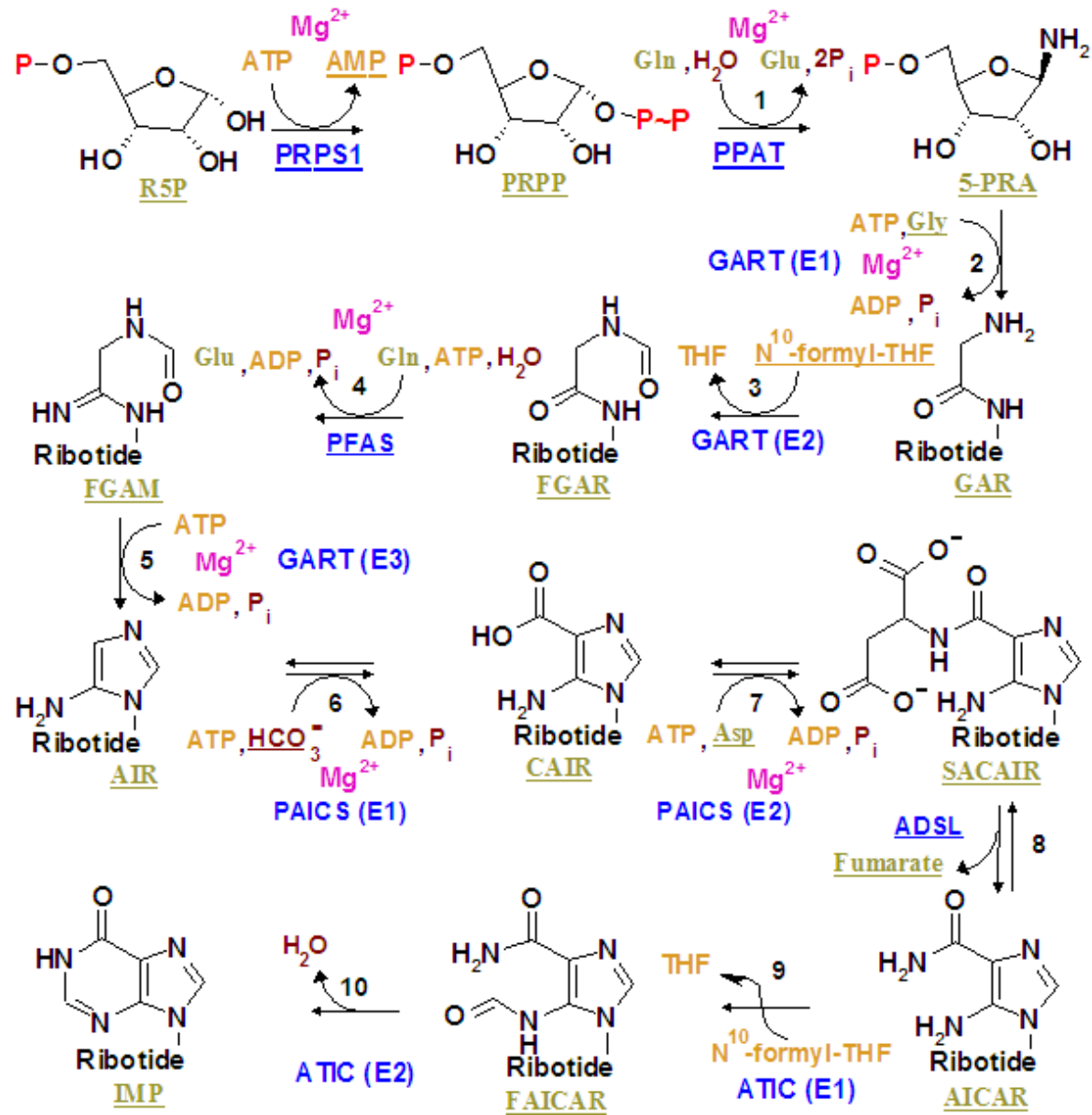
- 2 procesos: Síntesis del IMP – 11 pasos  
Síntesis de AMP & GMP
- Los átomos del anillo púrico se incorporan 1 a 1, excepto la Gly
- El anillo púrico se sintetiza unido a la ribosa-5P
- Elevado gasto  $\epsilon$ : 7 ATP / IMP
- Localización: en el hígado

“**Channeling**” en animales en la síntesis del IMP

3 polipéptidos multifuncionales

- Fosforribosil aminoimidazol sintasa: reacciones 3, 4, 6
- Fosforribosil aminoimidazol succinil carboxamida sintasa: reacciones 7 & 8
- IMP sintasa: reacciones 10 & 11

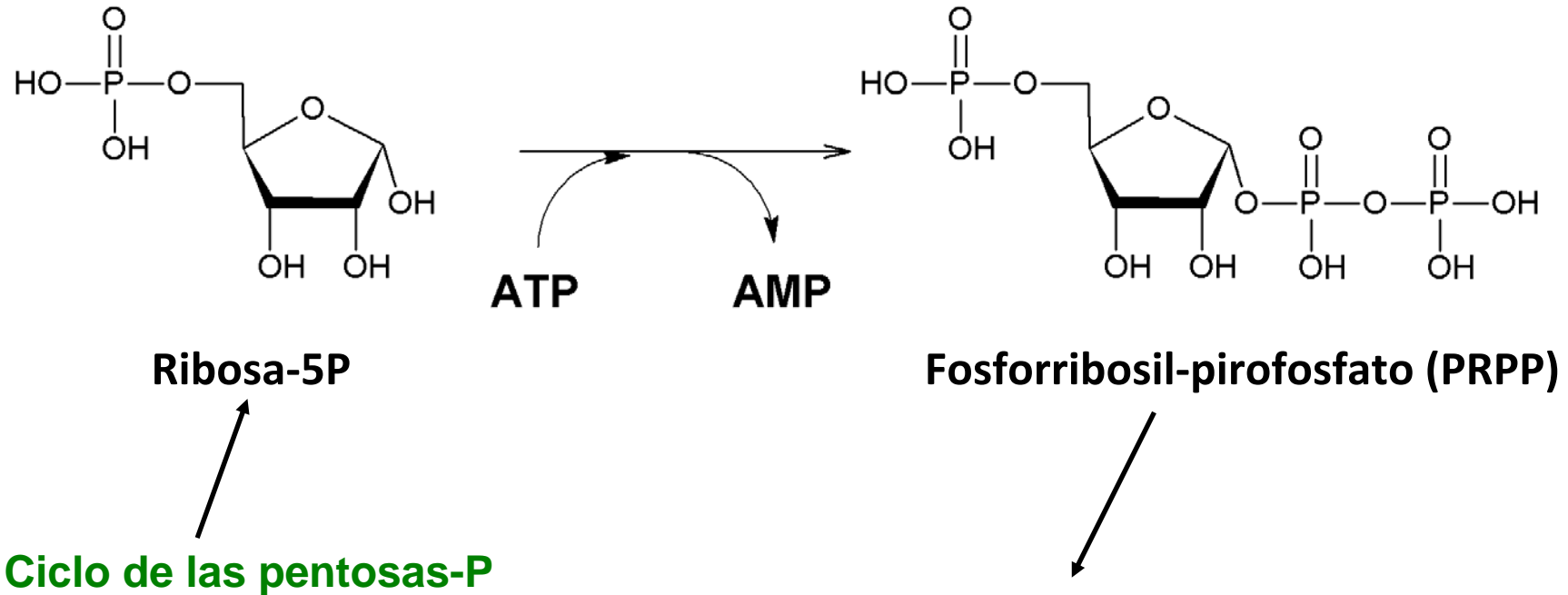
# SINTESIS DEL IMP



Fuente de la imagen

<http://en.wikipedia.org/wiki/Category:Biochemistry>  
Creative Commons Attribution-Share Alike license

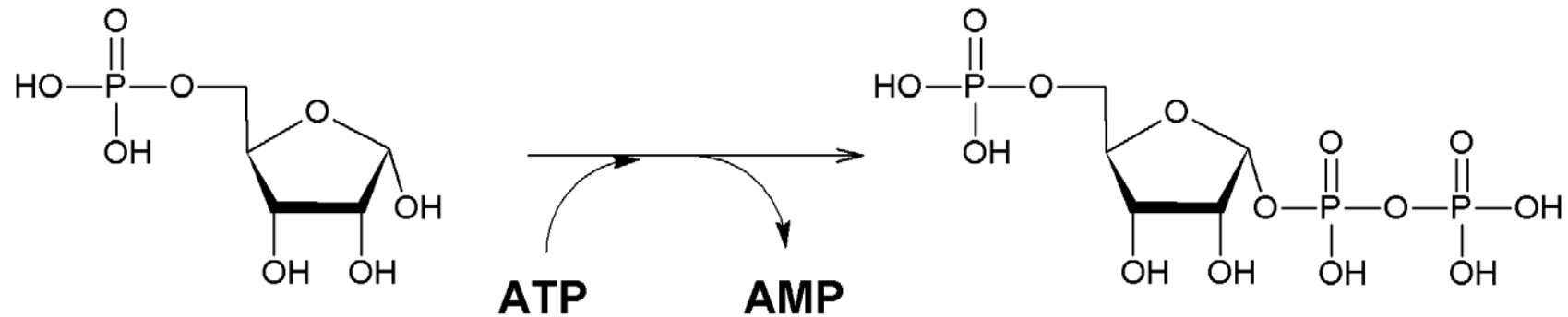
# 1. Síntesis de la PRPP (I)



Enzima: **Ribosa-5P pirofosfokinasa**

## 1. Síntesis de la PRPP (II)

---



**Enzima:** Ribosa-5P pirofosfokinasa

**Mecanismo:** ataque nucleofílico del C<sub>1</sub>-OH de la ribosa al enlace fosfato-β del ATP y transferencia del grupo pirofosfato

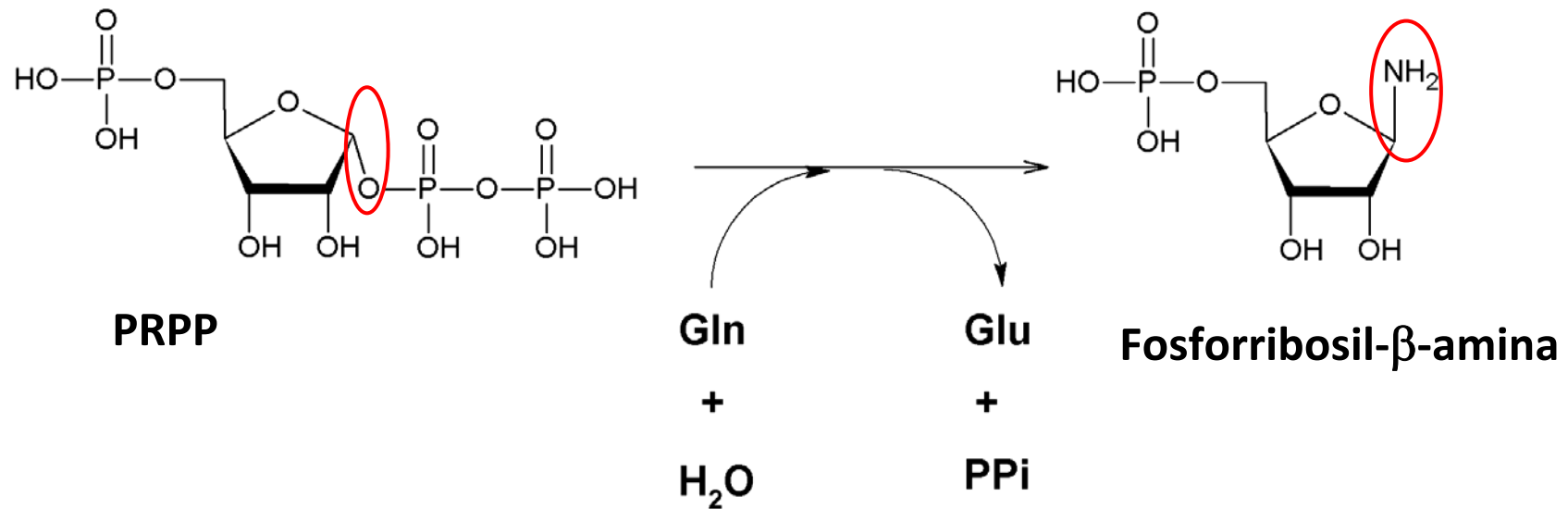
Formación de un enlace en configuración α entre el fosfato y el C<sub>1</sub> de la ribosa

**PRPP:** reactivo limitante en la síntesis de nucleótidos púricos

**Regulación:** + P<sub>P</sub>i, 2,3BPG  
- ADP & GDP

## 2. Adquisición del N<sub>9</sub> de la Gln (I)

---



Enzima: **Amido-fosforribosil-transferasa**

(**PPi** → **2Pi** Enzima: **pirofosfohidrolasa**)



## 2. Adquisición del N<sub>9</sub> de la Gln (II)

---



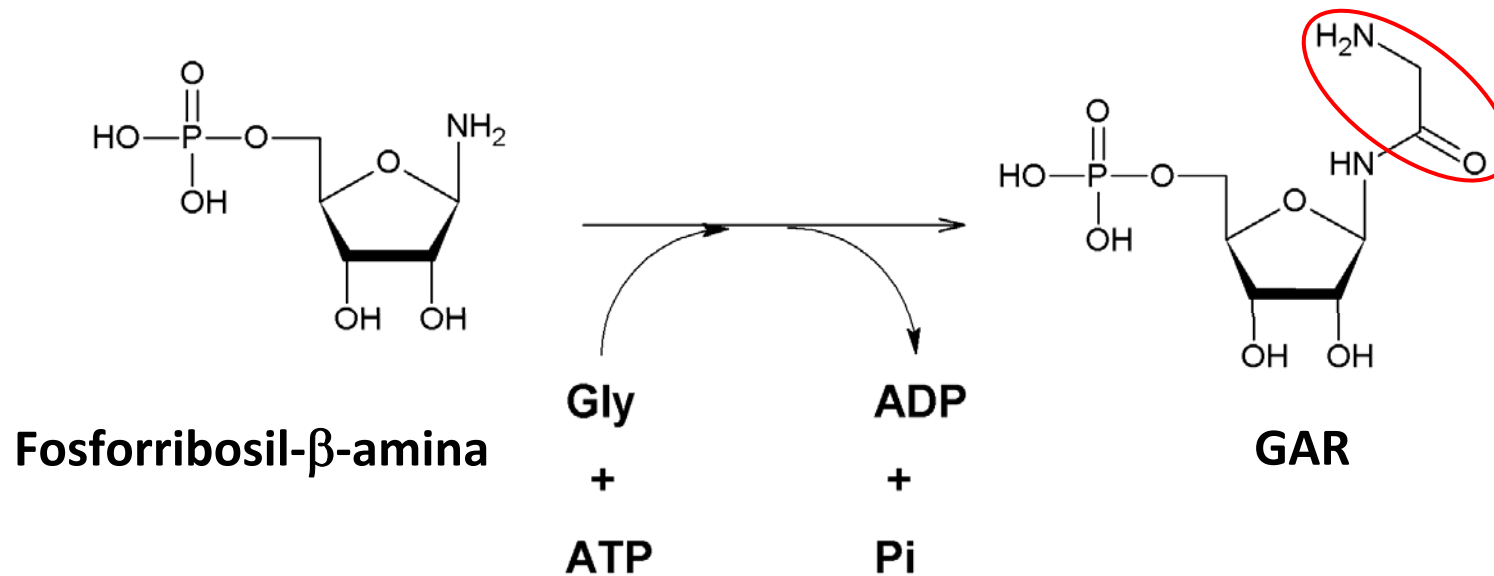
Enzima: **Amido-fosforribosil-transferasa**

(PPi → 2Pi Enzima: **pirofosfohidrolasa**)

- Primera reacción específica de la vía
- Punto clave en la regulación
- Inversión de la configuración  $\alpha \rightarrow \beta$
- Inhibición por **retroalimentación negativa**

### 3. Adquisición de los átomos C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> & N<sub>7</sub> de la Gly

---



Enzima: **GAR Sintetasa**

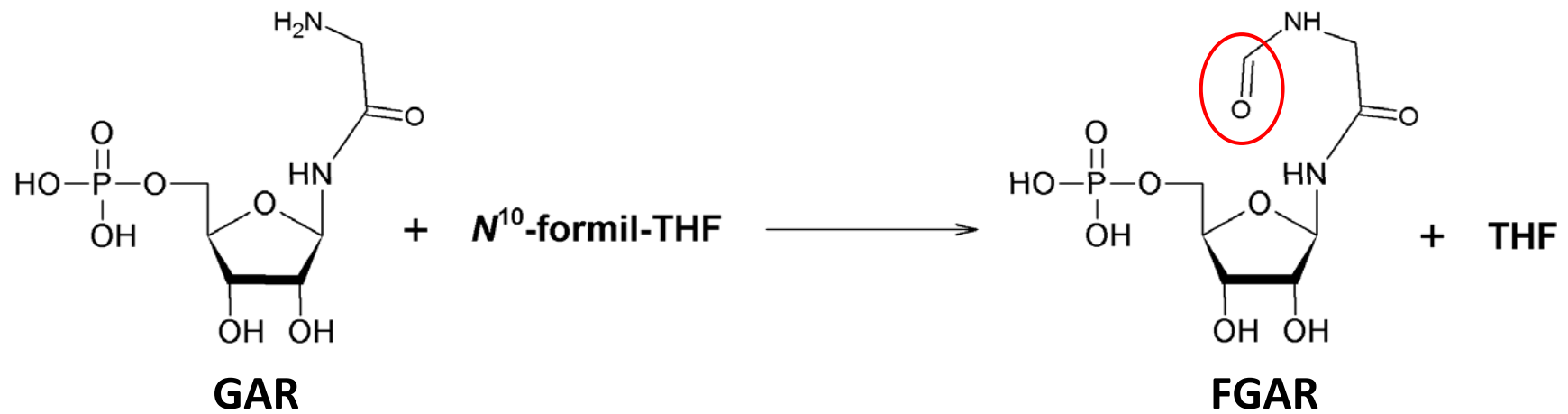
**GAR: Glicinamida ribótido**

- Formación de un enlace amida con el grupo –COOH de la Gly
- Formación de un intermediario activado (acil-P)



## 4. Adquisición del C<sub>8</sub> (I)

---



Enzima: **GAR Transformilasa**

**FGAR: Formilglicinamida ribótido**

## 4. Adquisición del C<sub>8</sub> (II)

---



Enzima: **GAR Transformilasa**

- C cedido por el N<sup>10</sup>-formil-THF procede de Ser / Gly
- Grupo formilo clave en la condensación del ciclo

### Mecanismo

Ataque nucleofílico del grupo –NH<sub>2</sub> del GAR al grupo formilo del N<sup>10</sup>-formil-THF



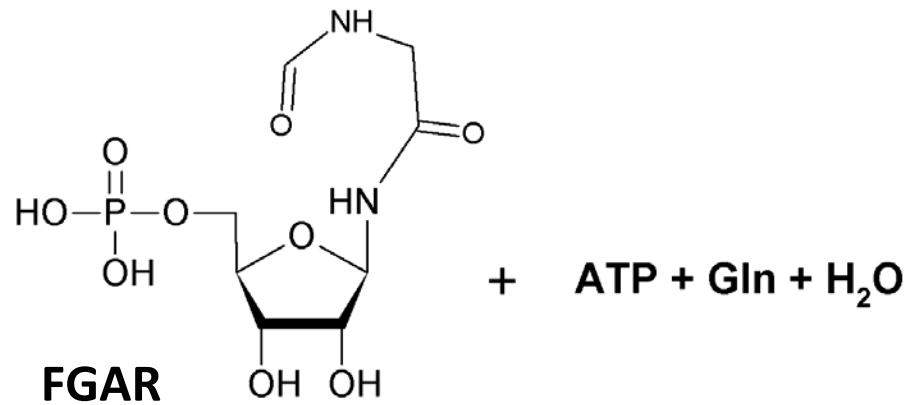
Formación de un intermediario tetraédrico



Transferencia del grupo formilo

## 5. Adquisición del N<sub>3</sub> (I)

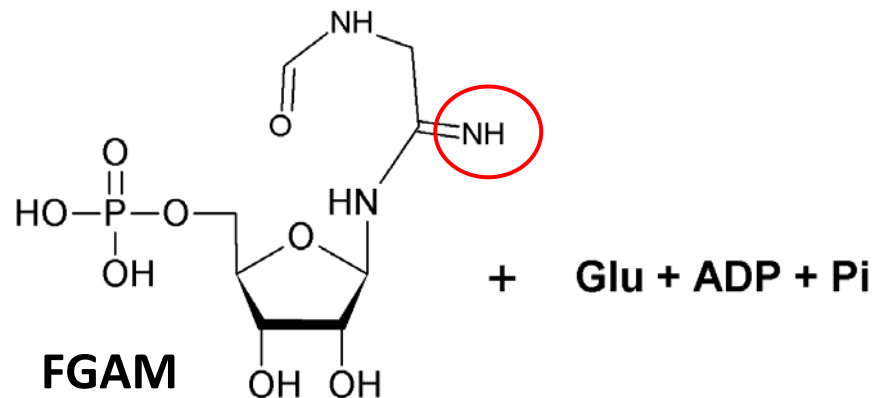
---



Enzima: **FGAM Sintetasa**

**FGAM**

**Formilglicinamida ribótido**



## 5. Adquisición del N<sub>3</sub> (II)

---

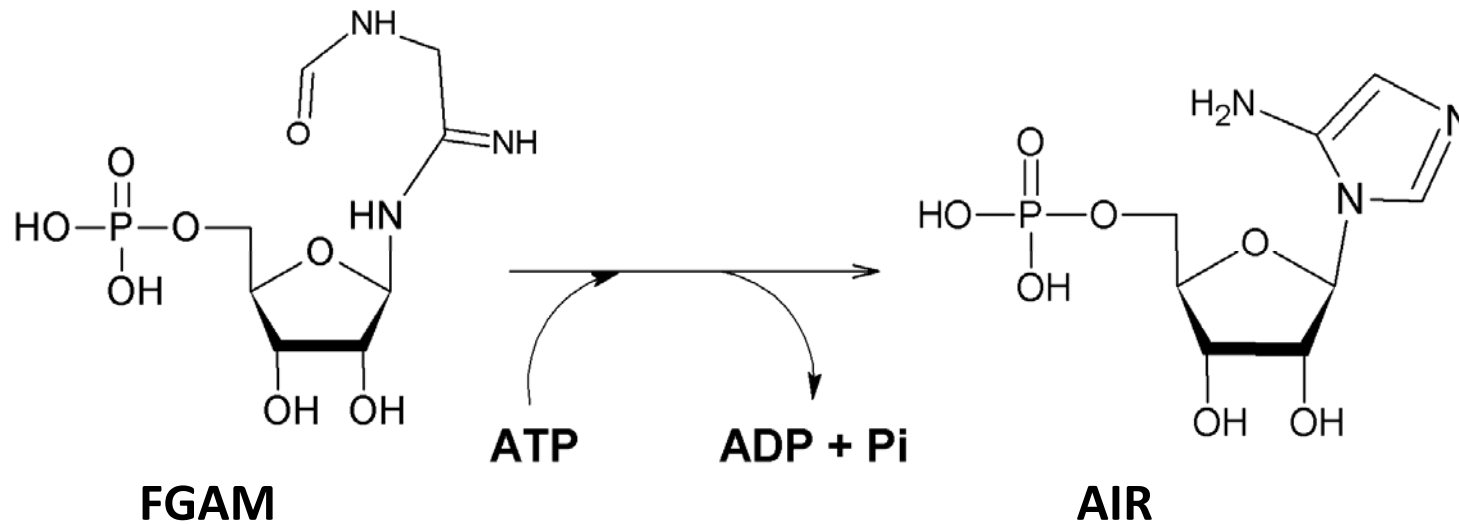


### Mecanismo de acción de la FGAM sintetasa

1. C=O de FGAR (forma isoamida) + ATP → intermediario P-éster  
Gln (C amidado) + -SH de la enzima → formación de un tioéster
2. Hidrólisis del tioéster: Glu + NH<sub>3</sub>
3. NH<sub>3</sub> + P-éster → formación de un aducto tetraédrico
4. Desfosforilación y formación del enlace imino

## 6. Cierre del anillo imidazol

---



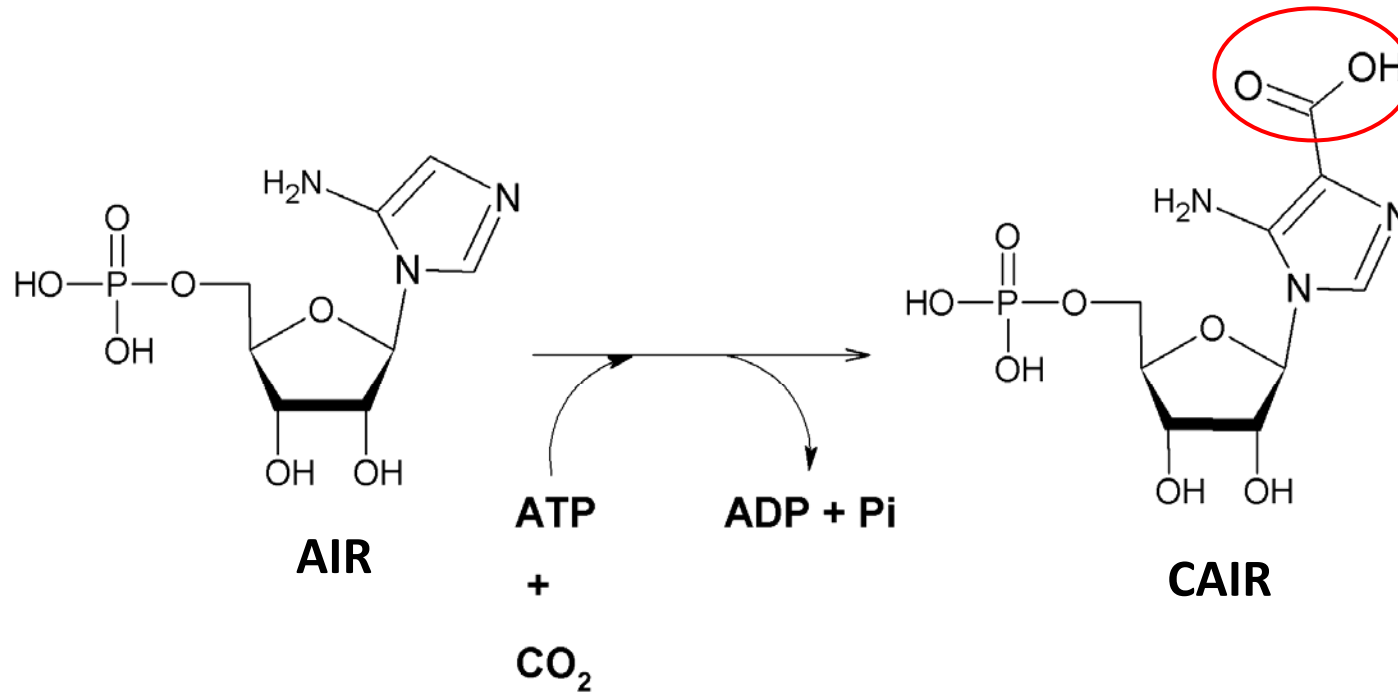
Enzima: **AIR Sintetasa**

**AIR: 5-aminoimidazol ribótido**

- Condensación intramolecular
- Tautomerización imino # enamino → propiedades aromáticas

## 7. Adquisición del C<sub>6</sub> (I)

---



Enzima: **AIR Carboxilasa**

**CAIR: Carboxiaminoimidazol ribotido**



## 7. Adquisición del C<sub>6</sub> (II)

---

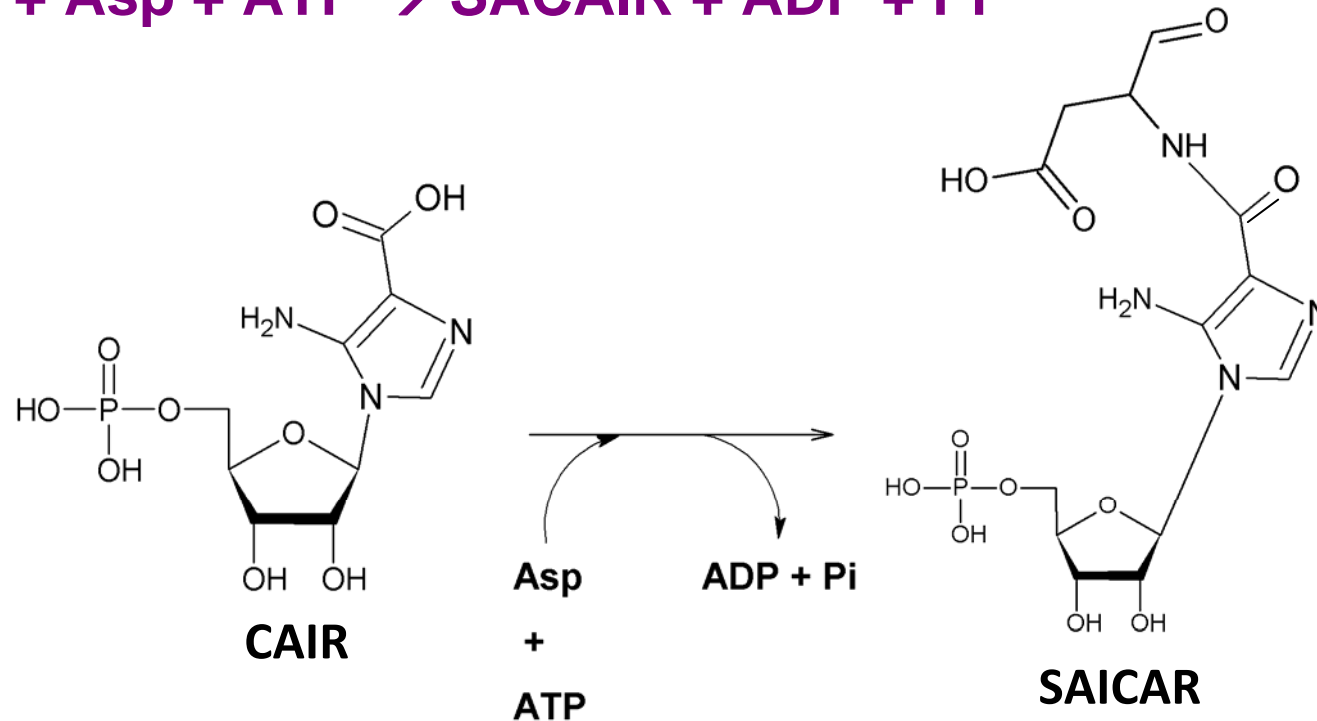


Enzima: **AIR Carboxilasa**

- Carboxilación directa con aporte de  $\epsilon$
- Ausencia de biotina
- AIR carboxilasa de *E. coli*: heterodímero PurE & PurK  
(sinergia catalítica)

## 8. Adquisición del N<sub>1</sub>

---



Enzima: **SACAIR Sintetasa**

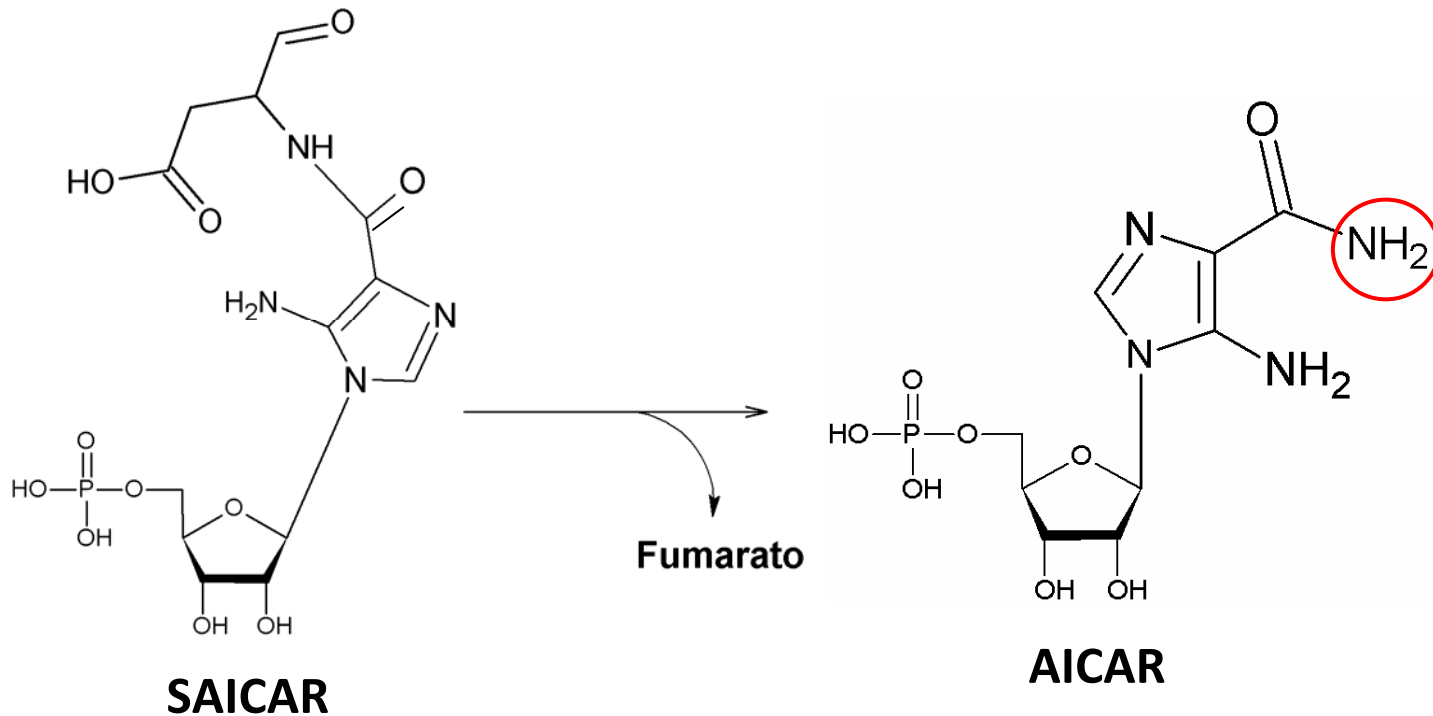
**SACAIR: 5-aminoimidazol-4-N-succinil carboxamida ribótido**

- Condensación y formación de un enlace amida
- Reacción parecida a la reacción 3 (GAR sintetasa)

## 9. Eliminación del fumarato (I)

---

**SACAIR → AICAR + fumarato**



Enzima: **Adenilsuccinato liasa**

**AICAR: 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribótido**

## 9. Eliminación del fumarato (II)

---

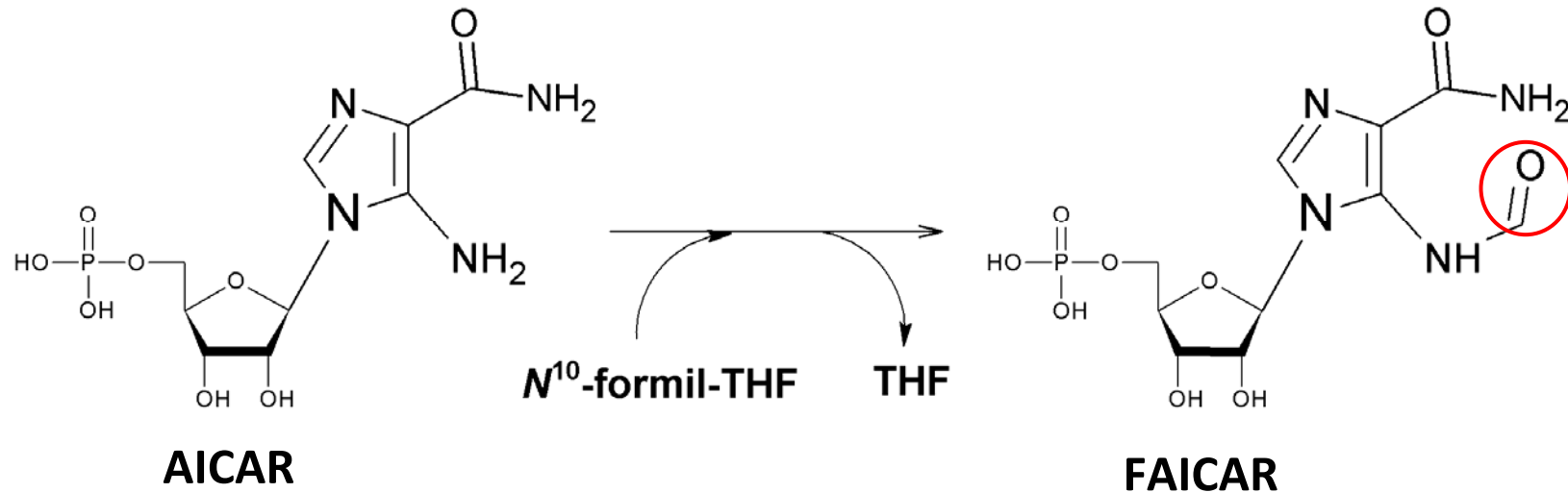
**SACAIR → AICAR + fumarato**

**Enzima: Adenilsuccinato liasa**

- Transformación de un grupo carboxilo en un grupo amida
- Reacción anaplerótica del ciclo de Krebs  
Gran importancia en el metabolismo muscular
- Reacciones 8 + 9 análogas a la amidación de la citrulina para formar Arg  
(en el ciclo de la urea)

## 10. Adquisición del C<sub>2</sub>

---



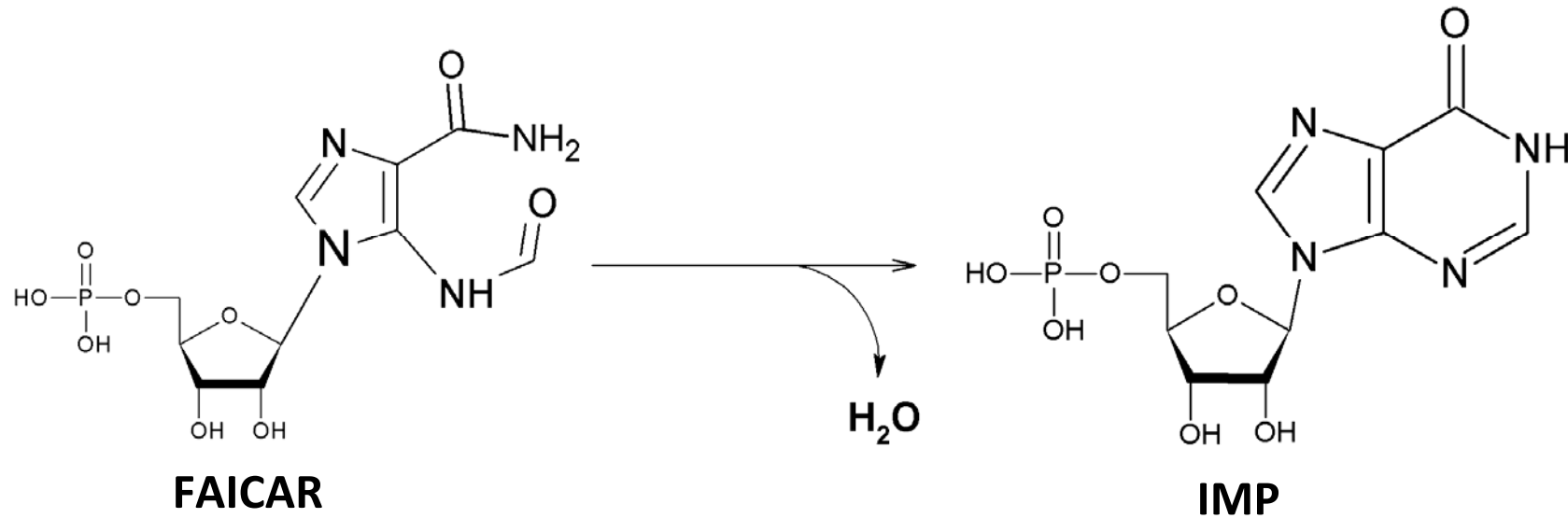
Enzima: **AICAR Transformilasa**

**FAICAR: 5-formaminoimidazol-4-carboxamida ribotido**

- Similar a la reacción 4
- Grupo formilo clave para la condensación del ciclo

## 11. Cierre del anillo y formación del IMP (I)

---



Enzima: **IMP Ciclohidrolasa**

**IMP: Inosina monofosfato**

Base púrica del IMP: **hipoxantina**

## 11. Cierre del anillo y formación del IMP (II)

---



**Enzima: IMP Ciclohidrolasa**

- Condensación intramolecular en ausencia de hidrólisis de ATP
- El IMP no se acumula en la célula, sino que se transforma rápidamente en AMP & GMP

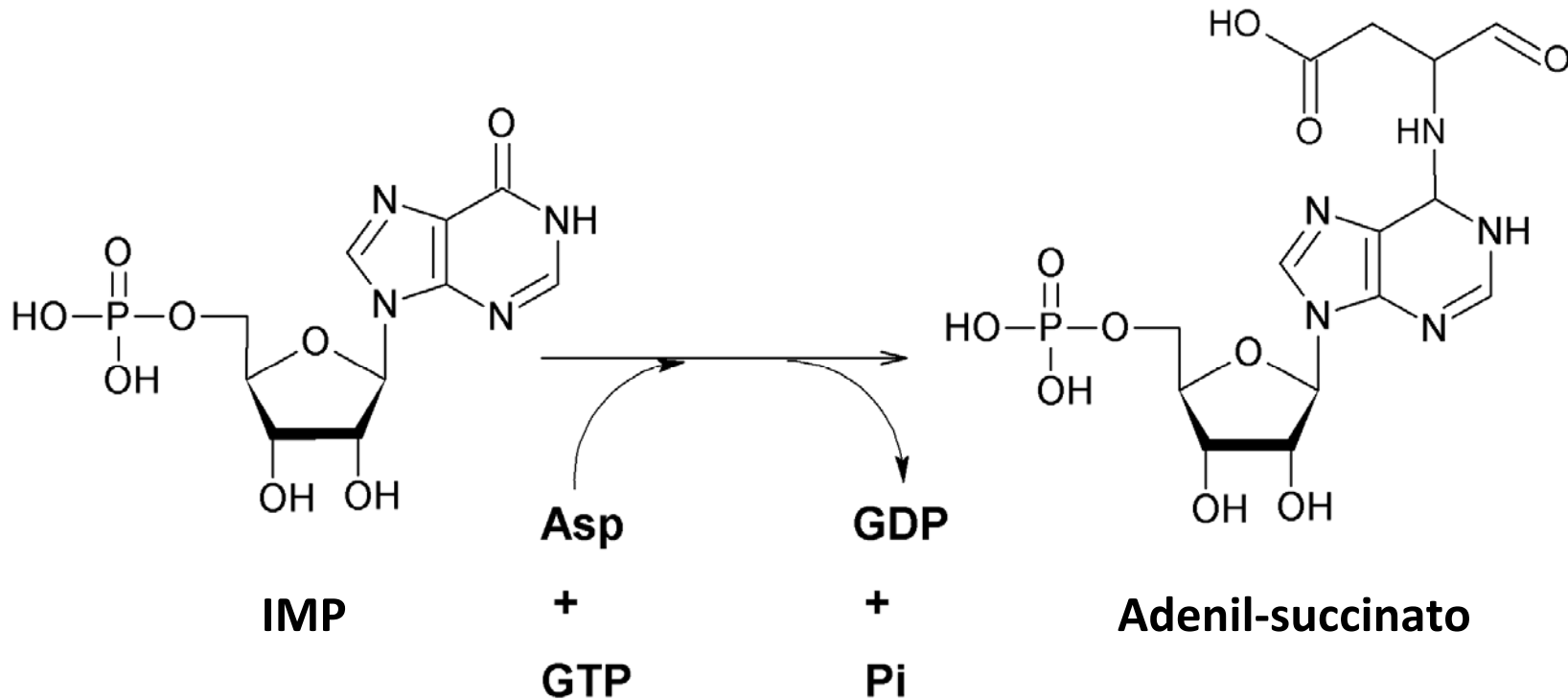
**Balance  $\epsilon$  de la síntesis de IMP**

- 2 ATP en el paso 1: síntesis de PRPP
- 1 ATP en el paso 3: GAR sintetasa
- 1 ATP en el paso 5: FGAM sintetasa
- 1 ATP en el paso 6: AIR sintetasa
- 1 ATP en el paso 7: AIR carboxilasa
- 1 ATP en el paso 8: SACAIR sintetasa

**Balance total: 7 ATP**

## SINTESIS DE AMP (I)

---



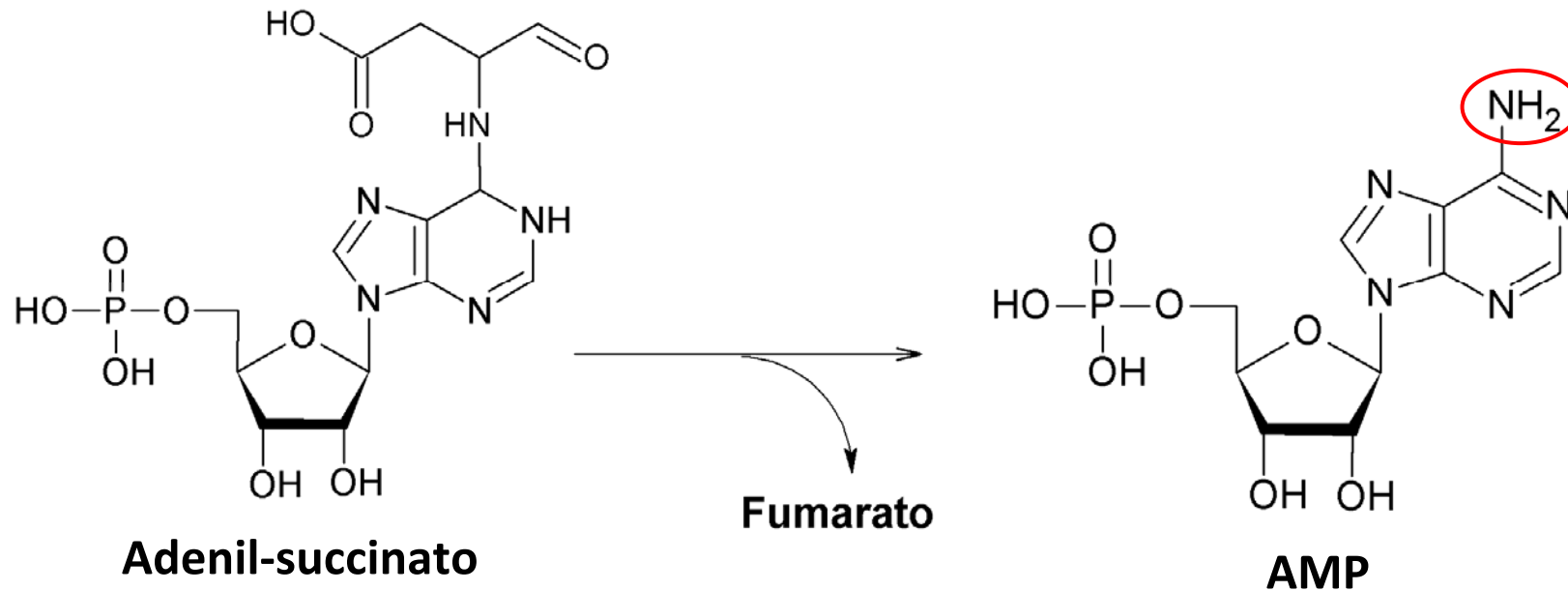
Enzima: **Adenil-succinato sintetasa**



## Síntesis de AMP (II)

---

### Adenilsuccinato → fumarato + AMP



Enzima: **Adenilsuccinato liasa**

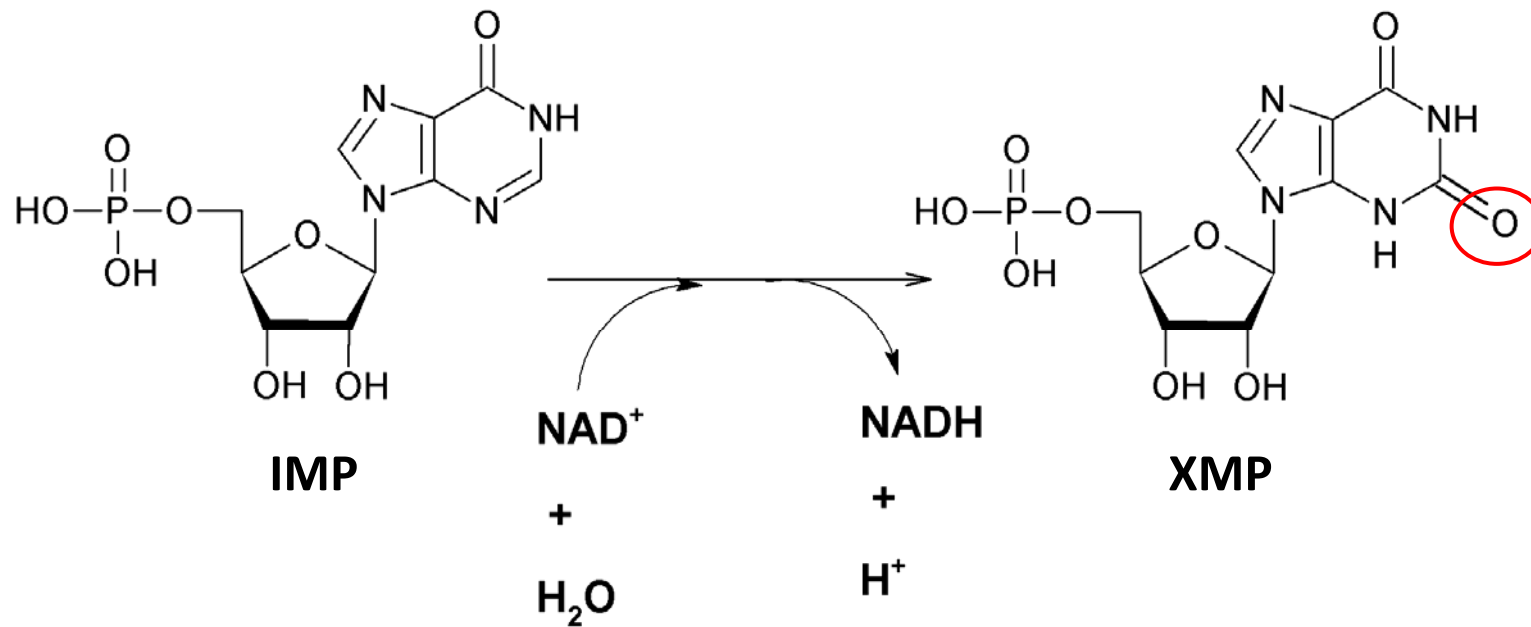
Reacción global: sustitución del grupo ceto en C<sub>6</sub> por un grupo amino

Es la misma enzima que la que cataliza la reacción 9 de la síntesis del IMP

Balance ε: **+ 1 ATP**

## SINTESIS DE GMP (I)

---



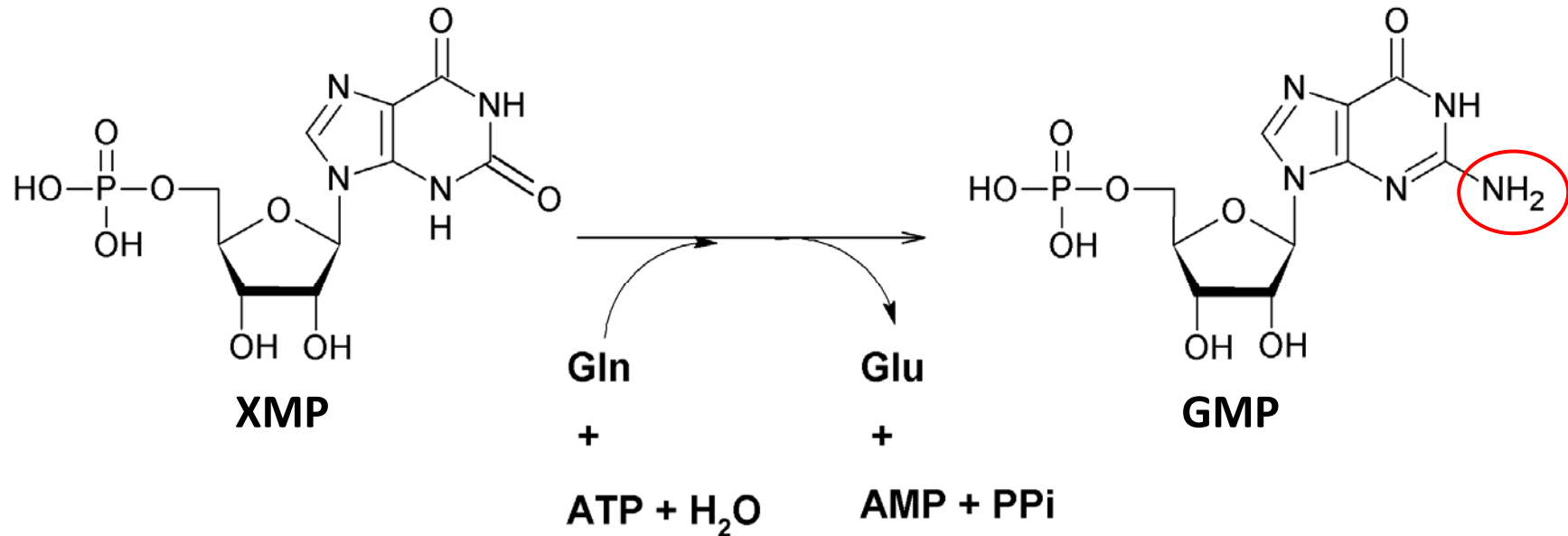
Enzima: **IMP DH**

Flavoenzima

**XMP: Xantosina monofosfato**

## Síntesis de GMP (II)

---



Enzima: **GMP sintetasa** (PPi → 2Pi)

Reacción global: introducción de un grupo amino en C<sub>2</sub>

Balance ε: **+ 2 ATP**

# SINTESIS DE NUCLEOTIDOS DI- & TRIFOSFATO

---

## Nucleósido monofosfato kinasas



No distinguen NMPs de dNMPs

Alta especificidad de base nitrogenada

## Nucleósido difosfato kinasas



Baja especificidad de base nitrogenada

Reacciones cercanas al equilibrio

## Mecanismo catalítico de “ping-pong”

1. NTP fosforila un residuo de His de la enzima
2. La enzima transfiere el grupo fosforilo al otro NDP  $\rightarrow$  NTP

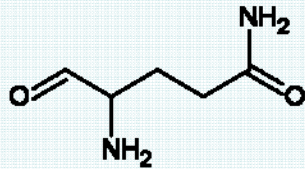
**Importancia Biomedica:** Activación de nucleósidos antivirales como la AZT

## SINTESIS DE PURINAS vs. PIRIMIDINAS

---

<b>Purinas</b>	<b>Pirimidinas</b>
- Adición de los átomos 1 a 1 (excepto la Gly)	- Síntesis a partir de 2 precursores metabólicos
- Adición de los átomos sobre la ribosa-5P	- Síntesis del anillo pirimidínico y posterior unión a la ribosa-5P
- Obtención de IMP	- Obtención de UMP & CMP
- Balance $\epsilon$ : 7 ATP (hasta IMP) + 1-2 ATP (ATP/GTP)	- Balance $\epsilon$ : 4 ATP (hasta UMP) + 1 ATP (síntesis de CTP)
- Regulación por ATP & GTP (productos finales)	- Regulación por UTP (producto final)

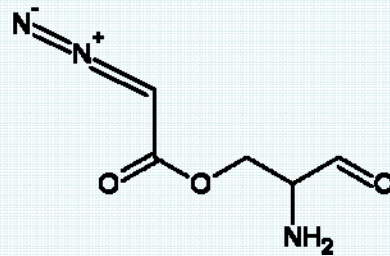
## AGENTES BLOQUEANTES DE LA VIA *DE NOVO* (I)



**Gln**

### **Análogos de la Gln**

Impiden la donación de grupos de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

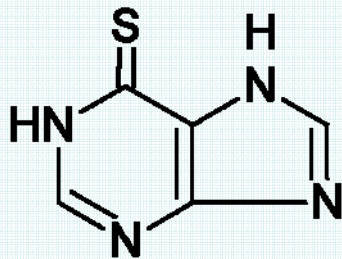


**Azaserina**

### **Acido micofenólico**

Inhibe la IMP DH

Inhibe la proliferación de linfocitos



### **6-mercaptopurina**

Competición con el IMP en la síntesis del AMP

Droga inmunosupresora

Tratamiento de leucemias

## Agentes bloqueantes de la vía *de novo* (II)

---

### Sulfonamidas

Análogos del ácido p-aminobenzoico (PABA)

Inhibidores competitivos de la síntesis del ácido fólico en bacterias

Inhibición de la dihidropteroato sintetasa → no se genera THF

→ Inhibición de la síntesis de timina y de purinas

→ **Inhibición del crecimiento bacteriano** (bacteriostático)

**Animales:** las sulfonamidas no tienen efecto

**Causa:** los animales no pueden sintetizar el ácido fólico, sino que han de ingerirlo con la dieta

***Nota: Importancia del ácido fólico como suplemento alimentario durante el primer trimestre del embarazo***

## Agentes bloqueantes de la vía *de novo* (III)

---

### Resistencia a las sulfamidas

Mutaciones que producen alteraciones en el centro activo → menor afinidad

Aumento de la producción de PABA → neutraliza la competición

Plásmido que codifica para una dihidropteroato sintetasa alterada con menor afinidad por las sulfamidas que por PABA (1/1000 afinidad)

### Trimetoprima

Antibiótico bacteriostático que inhibe la dihidrofolato reductasa

Acción sinérgica junto con las sulfamidas

**La combinación de sulfamidas y trimetoprima es un potente bactericida**



# REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PÚRICOS (I)

---

## Importancia

### 1. Regulación coordinada de la biosíntesis de los nucleótidos púricos

→ Obtención de cantidades equimolares de nucleótidos de adenina & guanina

### 2. Regulación de los niveles $\varepsilon$ intracelulares (niveles de ATP & GTP)

Importancia: los niveles  $\varepsilon$  intracelulares regulan muchos procesos metabólicos

## 2 procesos implicados en la regulación

### 1. Inhibición competitiva por producto final

Importancia: evitar la acumulación de exceso de producto

### 2. Cross-estimulación de la síntesis de ATP & GTP

Importancia: obtención de cantidades equimolares de ambos nucleótidos

## Punto clave

### Regulación recíproca de sustratos

El GTP está implicado en la síntesis de ATP y viceversa

# Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos (II)

---

## Puntos de regulación en la *via de novo*

### Síntesis de IMP

Ribosa-P pirofosfokinasa (R1): - **ADP** & **GDP** (*negative feedback*)  
+ **PPi** & **2,3BPG**

Amidofosforribosil-transferasa (R2): - **ATP, ADP & AMP** (sitio 1) } **sinergia**  
- **GTP, GDP & GMP** (sitio 2) } **neg. feedback**  
+ **PRPP** (feedforward activation)

**Síntesis IMP → AMP** - **AMP** (inhibición competitiva por producto final)  
(adenilsuccinato sintetasa) + **GTP** (síntesis coordinada de ATP & GTP)

**Síntesis IMP → GMP** - **GMP** (inhibición competitiva por producto final)  
(IMP DH) + **ATP** (síntesis coordinada de ATP & GTP)

PurK: represor de purinas en bacterias

## Regulación coordinada de purinas y pirimidinas (I)

---

**PRPP:** Activa la biosíntesis de IMP (amidofosforribosil-transferasa)

Orotato fosforribosil transferasa depende de la disponibilidad de PRPP

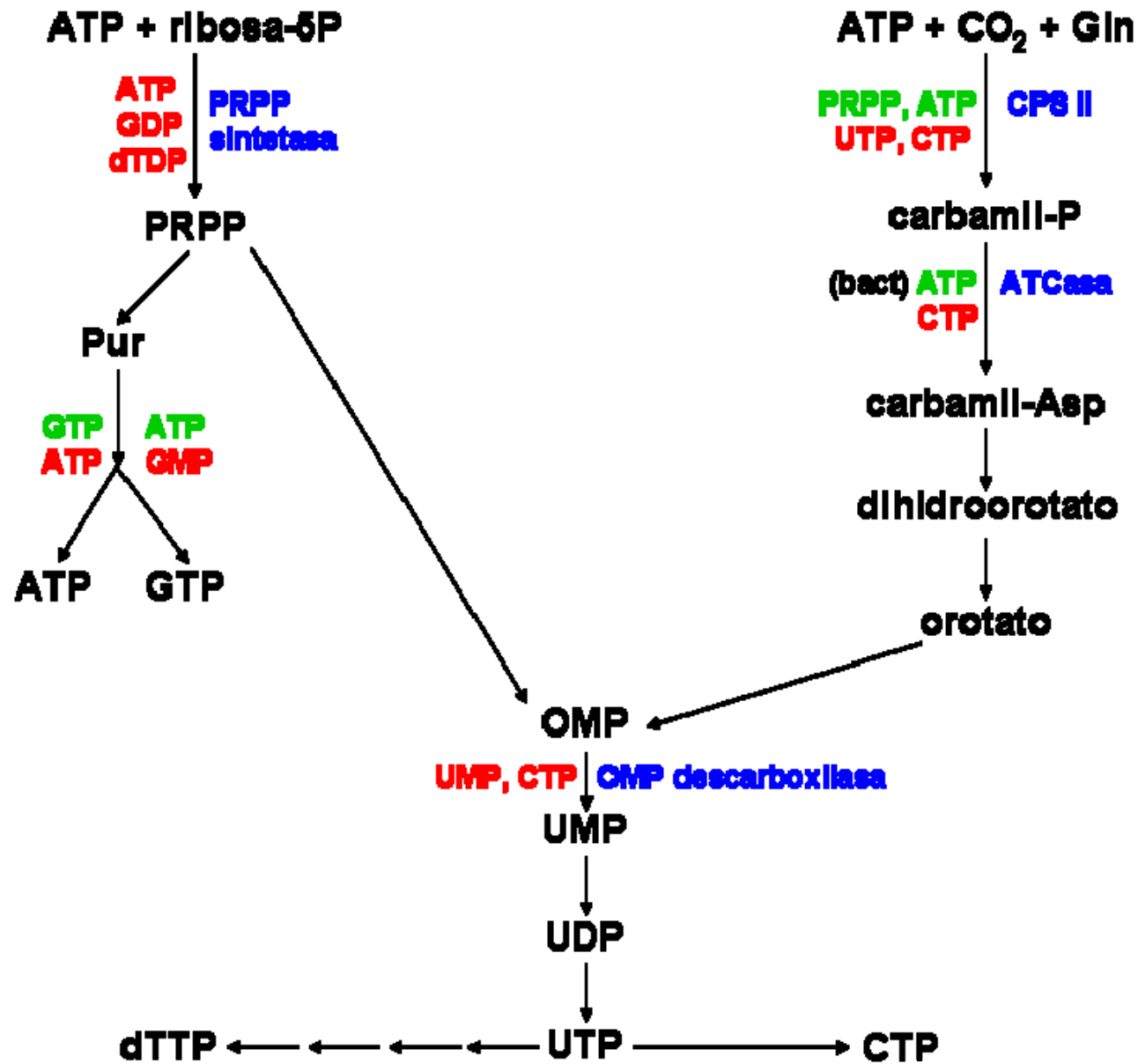
**ATP:** estimula la síntesis de **pirimidinas:** ATCasa (bacterias)  
carbamil-P sintetasa II (animales)

inhibe la síntesis de **PRPP**

inhibe la síntesis de **IMP**

<b>Efactor</b>	<b>Acción / Vía</b>
<b>PRPP</b>	<b>Pur / Pir</b>
<b>ATP</b>	<b>Pir / GTP</b> <b>Pur / ATP / PRPP</b>
<b>GTP</b>	<b>ATP</b> <b>Pur / GTP / PRPP</b>
<b>CTP</b>	<b>Pir</b>
<b>UTP</b>	<b>Pir</b>
<b>dTDP</b>	<b>PRPP</b>

## Regulación coordinada de purinas y pirimidinas (II)



# VÍA DE RECAPTACIÓN DE NUCLEÓTIDOS PÚRICOS (I)

---

## “*Salvage pathway*”

En animales: Necesidad de la recaptación de bases púricas

- A partir de la degradación de DNA & RNA se obtienen bases púricas
- La vía *de novo* de biosíntesis de purinas es  $\varepsilon$  muy cara
- La vía *de novo* no puede satisfacer las necesidades totales de purinas en determinados tejidos (especialmente en el tejido nervioso)
- El 90% de las bases púricas libres son recuperadas y recicladas

**PRPP:** metabolito común a las vías de síntesis *de novo* y de recaptación

## Vía de recaptación de nucleótidos púricos (II)

---

Enzima: APRT - Adenina fosforribosil-transferasa



Enzima: HGPRT – Hipoxantina - Guanina fosforribosil transferasa



Posteriormente:  $\text{PPi} \rightarrow 2\text{Pi}$  Enzima: Pirofosforilasa

Fosforilaciones sucesivas hasta obtener los NDPs & NTPS



**Balance ε: 2 ATP**

# CATABOLISMO DE NUCLEOTIDOS PÚRICOS (I)

---

En animales, las bases púricas son degradadas hasta el ácido úrico

**Enzima: 5'-nucleotidasa** (hidrólisis)



**Enzima: PNP – Purina nucleósido fosforilasa**



**Isomerización de la ribosa: ribosa-1P  $\leftrightarrow$  ribosa-5P**

**Enzima: AMP desaminasa**



**Enzima: Adenosina desaminasa (ADA)**



**Enzima: Guanina desaminasa**



## Catabolismo de nucleótidos púricos (II)

---

### Enzima: Purina Nucleósido fosforilasa (PNP)

Inosina → Hipoxantina (Hipoxantina = 6-oxopurina)

Xantosina → Xantina (Xantina = 2,6-dioxopurina)

Guanosina → Guanina

### Enzima: Xantina oxidasa

Hipoxantina + O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O → Xantina + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

La hipoxantina puede ser recaptada

### Enzima: Guanina desaminasa

Guanina + H<sub>2</sub>O → Xantina + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

### Enzima: Xantina oxidasa

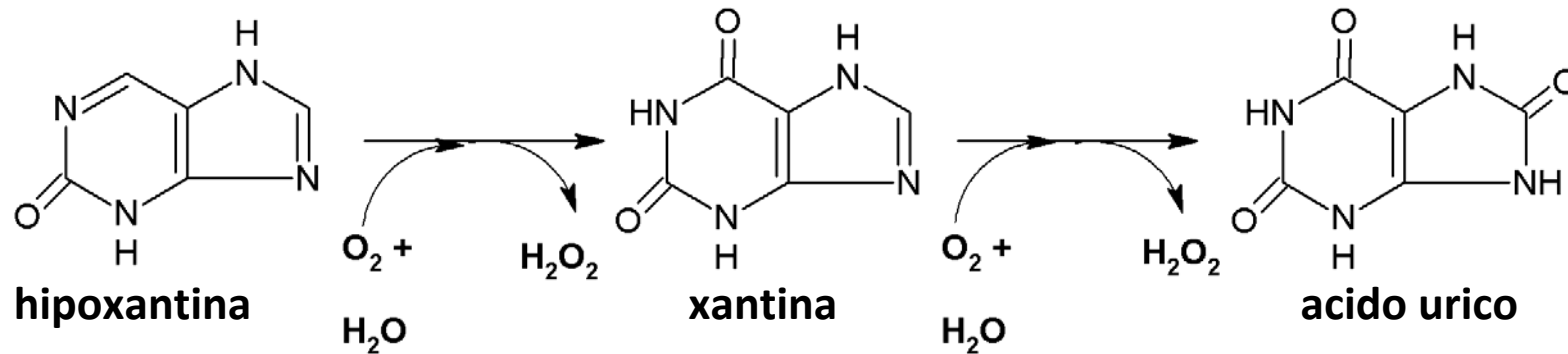
Xantina + O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O → ácido úrico + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Enzima: catalasa: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → H<sub>2</sub>O + ½ O<sub>2</sub>

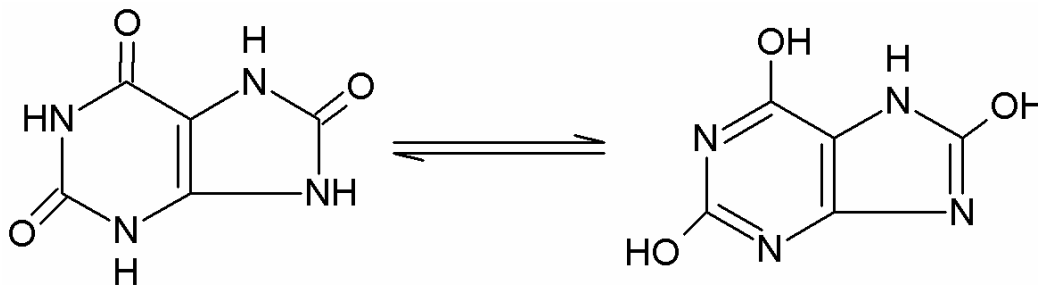


# Catabolismo de nucleótidos púricos (III)

## Reacciones catalizadas por la xantina oxidasa



## Tautomería ceto-enólica (lactama-lactima) del ácido úrico

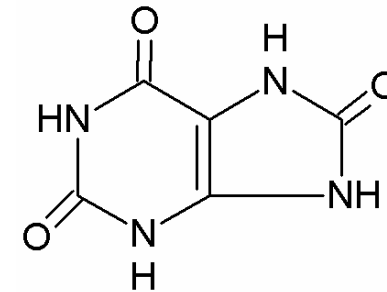


El ácido úrico es un ácido débil

# Catabolismo de nucleotidos puricos (IV)

---

## Importancia fisiológica del urato



1. Es un potente **antioxidante**, ya que elimina ROS (Reactive Oxygen Species: radicales hidroxilo, aniones superóxido, oxígeno atómico etc.)

En humanos, la concentración de urato en sangre está próxima a su límite de solubilidad (7 mg/dL a 37 C de urato monosódico)

2. El ácido úrico **no necesita agua** en su excreción, mientras que el  $\text{NH}_4^+$  sí

→ Mantenimiento de los niveles de agua en especies terrestres

## Importancia evolutiva

*¿La evolución ha favorecido la acumulación de un metabolito hasta el límite de su solubilidad porque desempeña otra importante función fisiológica?*

# ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE PURINAS EN HUMANOS (I)

---

No en genes de la vía *de novo* → letales durante el desarrollo

## Síndrome de Lesch-Nyhan: Deficiencia en HGPRT

- Enfermedad congénita ligada al sexo (cromosoma X). Carácter recesivo
  - Manifestaciones
    - hiperuricemias y gota
    - desórdenes neurológicos: espasticidad, retardo mental y comportamiento agresivo y destructivo (automutilaciones en labios y dedos)
  - La muerte suele estar causada por fallo renal (por depósitos de urato monosódico)
  - Fue la primera enfermedad psiquiátrica asociada al defecto en una sola enzima
- La aparición de alteraciones neurológicas indica que la vía de recaptación de purinas es clave en el tejido nervioso

## Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos (II)

---

### Causa bioquímica del Síndrome de Lesch-Nyhan

#### Ausencia de actividad HGPRT

→ Bloqueo de la vía de recaptación de purinas

### Consecuencias

Acumulación de PRPP

→ Estimulación de la biosíntesis *de novo* de nucleótidos  
(x200 biosíntesis de purinas)

Aumento de la degradación de purinas → ↑ ácido úrico → hiperuricemia y gota

Depósitos de urato

## Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos (III)

---

### Hiperuricemia

Aumento de los niveles de ácido úrico en sangre y otros fluidos

### Gota

Enfermedad causada por la hiperuricemia

### Cursa con

- inflamación de las articulaciones y dolor articular muy intenso, generalmente en el dedo pulgar del pie, y en hombres
- depósito de cristales de urato (monosódico) en las articulaciones
- depósito de cristales en el riñón y uréteres → daño renal y obstrucción del tracto urinario

## Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos (IV)

---

### Causas de la gota

#### Fallos en la excreción de ácido úrico

#### Superproducción de urato

- Deficiencia en HGPRT
- PRPP sintetasa hiperactiva: se salta la retroinhibición alostérica
- Glucogenosis de von Gierke: la Glc se desvía hacia la ruta de las pentosas-P → ↑ síntesis de PRPP
- Fármacos que pueden producir hiperuricemia  
niacina, diuréticos, aspirina, ciclosporina, drogas citotóxicas

# Tratamiento de la gota (I)

---

## Tratamiento no farmacológico de la gota

- Pérdida de peso
- Evitar comidas ricas en purinas: carne roja y casquería, mariscos, arenques, anchoas ...
- Evitar el alcohol
- No utilizar fármacos hiperuricémicos (aspirina)

## Tratamiento farmacológico de la gota (I)

### Colchicina

Disminución de la movilidad de leucocitos, de la fagocitosis y la lactiacidosis

## Tratamiento farmacológico de la gota (III)

**Agentes uricosúricos** → probenecid: inhibe la reabsorción tubular de urato

## Tratamiento de la gota (II)

---

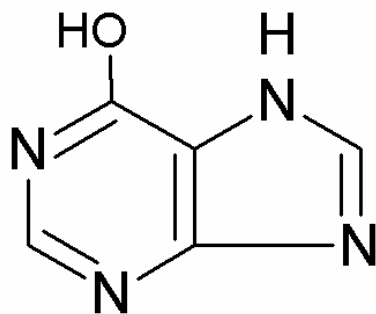
### Tratamiento farmacológico de la gota (III)

#### Alopurinol

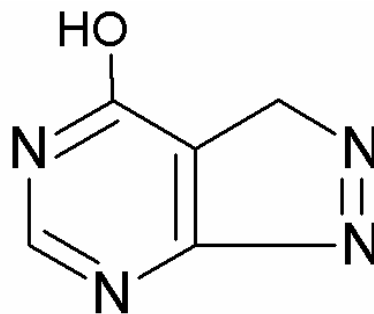
Análogo de la hipoxantina

#### Mecanismo

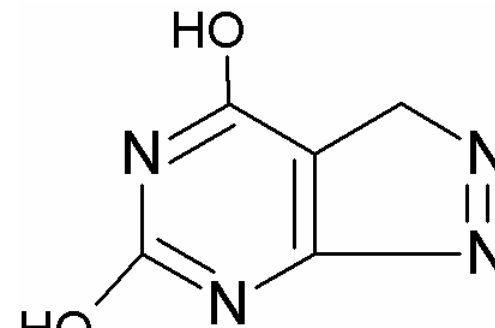
1. El alopurinol se comporta primero como sustrato de la xantina oxidasa  
alopurinol → aloxantina
2. La aloxantina permanece fuertemente unida al centro activo  
→ **INHIBIDOR SUICIDA**



hipoxantina



alopurinol



aloxantina



## Tratamiento de la gota (III)

---

### Consecuencias

- **↓ producción de ácido úrico y ↑ niveles de hipoxantina y xantina**

La hipoxantina y la xantina son más solubles en agua, por lo que se eliminan mejor por vía renal

- **El alopurinol secuestra PRPP**

↓ estimulación de la biosíntesis de purinas

↓ cantidad de sustrato (PRPP) disponible para la amido-fosforribosil-transferasa

→ **Disminución de la producción de ácido úrico**

## Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos (IV)

---

### Deficiencia en AMP desaminasa

No tiene lugar la reacción: **Adenosina + H<sub>2</sub>O → Inosina + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**

### Importancia

En la conversión de IMP → AMP, se produce fumarato

En el músculo, no se expresan otras enzimas de las reacciones anapleróticas del ciclo de Krebs (el fumarato es un intermediario del ciclo de Krebs)

La deficiencia genética en AMP desaminasa produce **fatiga muscular** y calambres tras realizar ejercicio físico

## Alteraciones del metabolismo de purinas en humanos (IV)

---

### Síndrome de inmunodeficiencia causado por deficiencia en PNP

Muerte selectiva de linfocitos T

#### Causa

El tejido linfoide presenta una elevada actividad del metabolismo de los nucleótidos (alta tasa proliferativa)

La ausencia de alguna de las enzimas implicadas en estas rutas provoca una manifestación muy clara en el tejido linfoide

#### Idea para el tratamiento

La ausencia de respuesta de linfocitos T podría aprovecharse como tratamiento para enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, psoriasis), algún tipo de diabetes, así como para frenar el crecimiento de linfomas de células T

**Estructura de rayos X de la PNP → diseño de inhibidores específicos**