

24.03.2021

## Curs XII – Reacții și căi metabolice

Ciclul acizilor tricarboxilici element central al metabolismului celular

# Respirația celulară și ciclul acizilor tricarboxilici

Majoritatea organismelor eucariote și o bună parte din bacteriile ce trăiesc în condiții aerobe își obțin energia prin oxidarea nutrienților preluați din mediul extern la  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$  printr-un proces numit **respirație celulară**. În procesul de respirație celulară, electronii și  $\text{H}^+$  rezultați din oxidarea nutrienților-combustibil sunt ghidați către  $\text{O}_2$  cu formare de  $\text{H}_2\text{O}$ , procesul de ghidare fiind intermediat de o serie de enzime ce transferă  $e^-$  cu formare de ATP.

## Respirația celulară cuprinde 3 etape distincte:

1. Convertirea nutrienților ce vor fi folosiți ca și combustibil în fragmente de câte 2 atomi de C – resturi acetil cuplate cu CoA (**Acetil-CoA**);
2. Resturile acetil sunt oxidate la  $\text{CO}_2$ , electronii rezultați fiind captați de către **NADH și  $\text{FADH}_2$** . Oxidarea resturilor acetil se realizează printr-un ansamblu de reacții ciclice numit **ciclul acizilor tricarboxilici (CAT)** sau **ciclul Krebs**;
3. Coenzimele **NADH și  $\text{FADH}_2$**  sunt oxidate, electronii și  $\text{H}^+$  rezultați fiind transferați către  $\text{O}_2$  cu formare de  $\text{H}_2\text{O}$ . Electronii nu interacționează direct cu  $\text{O}_2$ , ci sunt transferați prin treptat prin intermediul unui ansamblu de proteine numit *lanț transportor de  $e^-$* . Transferul de la un membru al lanțului transportor de  $e^-$  la altul se face prin sinteza unei molecule de ATP.



Hans Krebs, 1900–1981

Unnumbered 16.p615  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

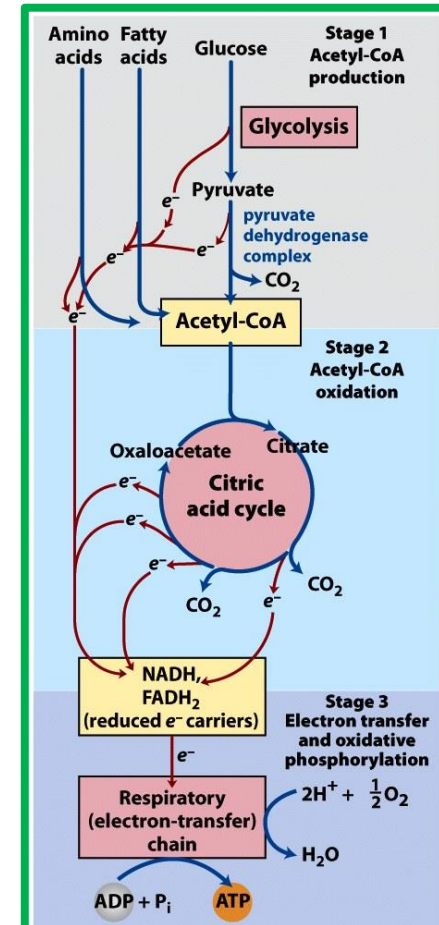


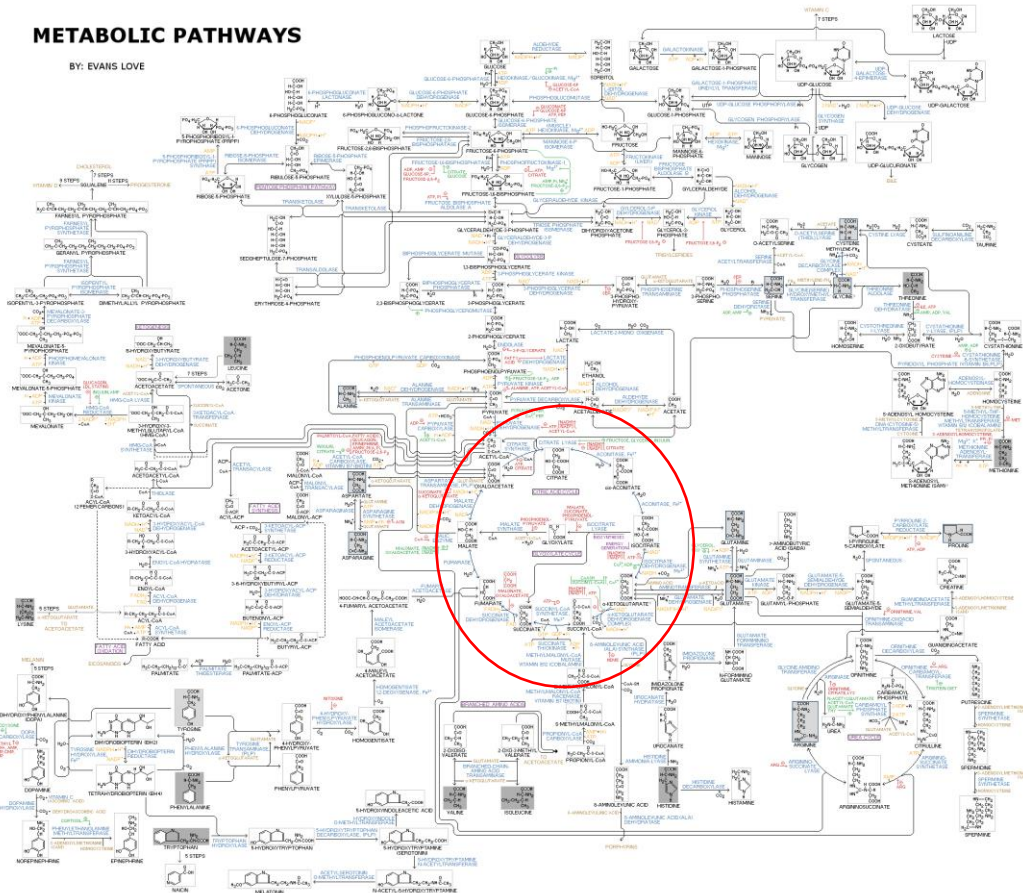
Figure 16-1  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# Importanța ciclului Krebs

Cel mai frecvent, combustibilul utilizat de celule pentru obținerea de energie este glucoza, deși în anumite condiții celulele pot utiliza și alte glucide, majoritatea aminoacizilor precum și acizii grași în același scop. Înainte de a intra în ciclul acizilor tricarboxilici, glucidele și acizii grași suferă un proces de oxidare preliminar în care **sunt transformați în unități acetil cuplate cu CoA**. Aminoacizii pot intra în CAT sub după ce sunt transformați în **acid acetic (acetat)**, **acid malic (malat)** sau **acid succinic (succinat)**.

Suplimentar, principala sursă de **acetil-CoA** ce intră în ATC este **acidul piruvic** - un compus comun pentru majoritatea căilor metabolice importante ce implică atât catabolismul cât și anabolismul tuturor precursorilor: glucide, acizi grași, aminoacizi, baze azotate.

**Prin intermediarii și produșii rezultați în urma parcurgerii reacțiilor ce alcătuiesc ciclul acizilor tricarboxilici, acesta are o amplasare centrală în metabolismul celular. CAT nu este nici unica, nici cea mai importantă cale metabolică, însă amplasarea ei centrală o face cel mai bun subiect de studiu pentru a înțelege principiile de bază din funcționarea unei căi metabolice.**



# Etaple ciclului Krebs

CAT este una dintre puținele căi metabolice ciclice, în sensul că în prima sa etapă Acetil-CoA reacționează cu o moleculă de malat, produsul de reacție parcurgând o suită de reacții ce conduc în final tot la malat. Acetil-CoA se obține prin printr-o reacție de dehidrogenare a piruvatului catalizată de complexul proteic numit **piruvat-dehidrogenaza (PDH)**:

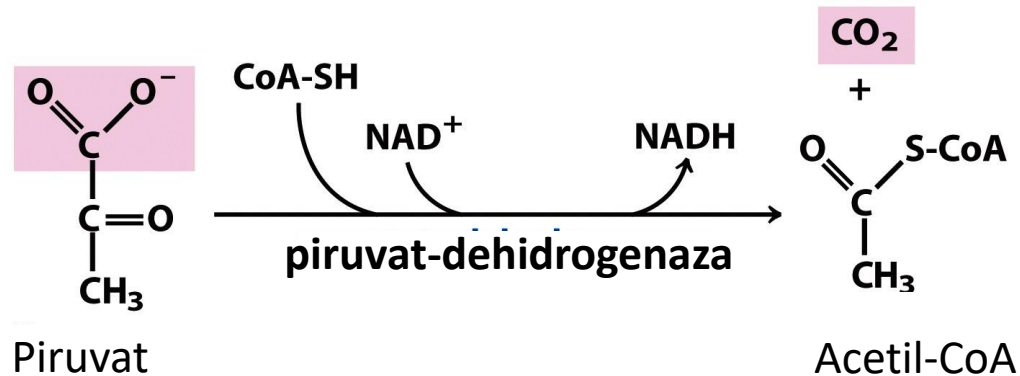


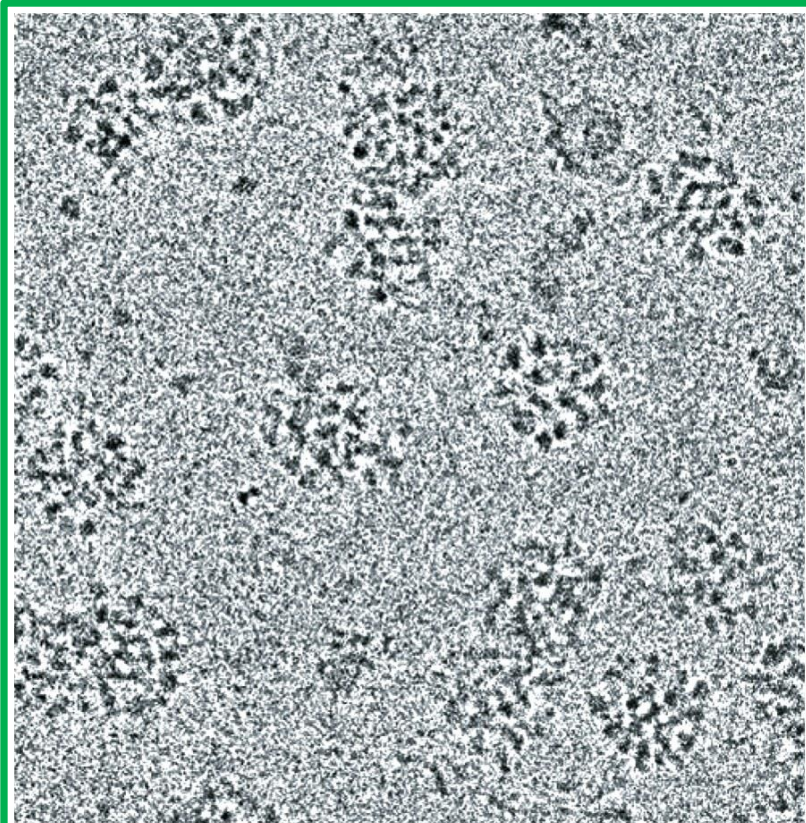
Figure 16-2  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Deși reprezentată ca o singură reacție, transformarea piruvatului în Acetil-CoA se realizează printr-un ansamblu de 5 etape catalizate de 3 enzime diferite:

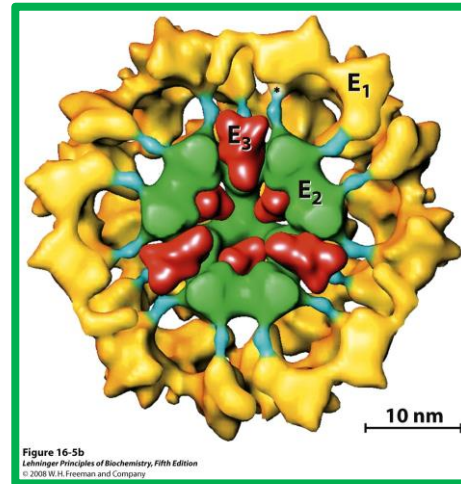
- E1 – piruvat-dehidrogenaza propriu-zisă;
- E2 – dihidrolipoil-transacetilază;
- E3 – dihidrolipoil-dehidrogenază.

Aceste enzime se grupează în numeroase copii, dimensiunea complexului proteic variind funcție de specie. **La oameni, PDH are 50 nm diametru - de 50 ori mai mare decât un ribozom, poate fi vizualizat cu microscopul electronic.**

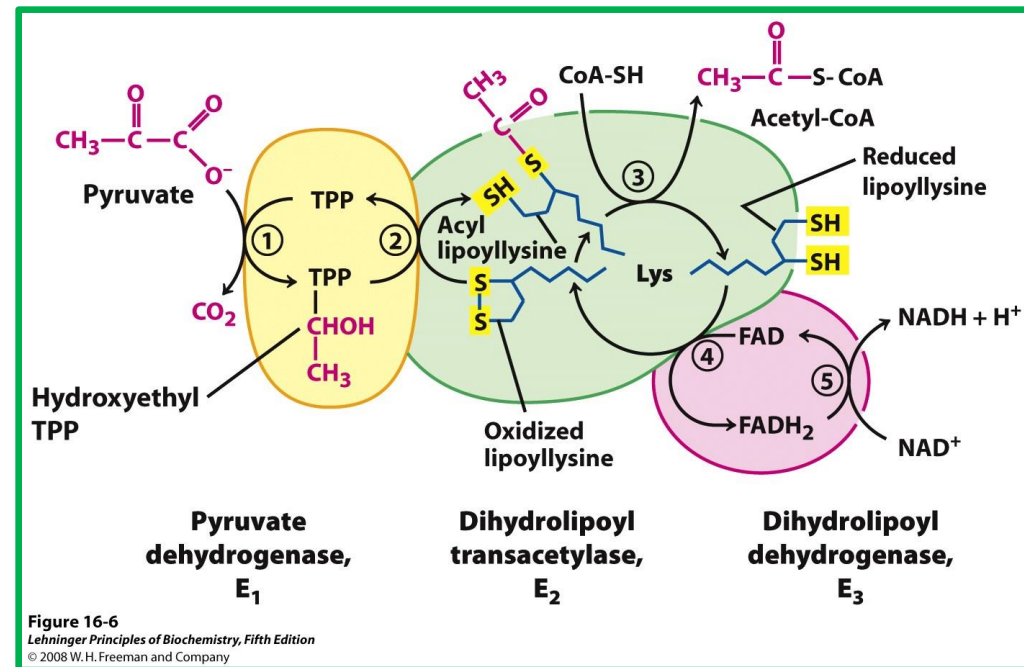
# PDH



**Figure 16-5a**  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
 © 2008 W. H. Freeman and Company



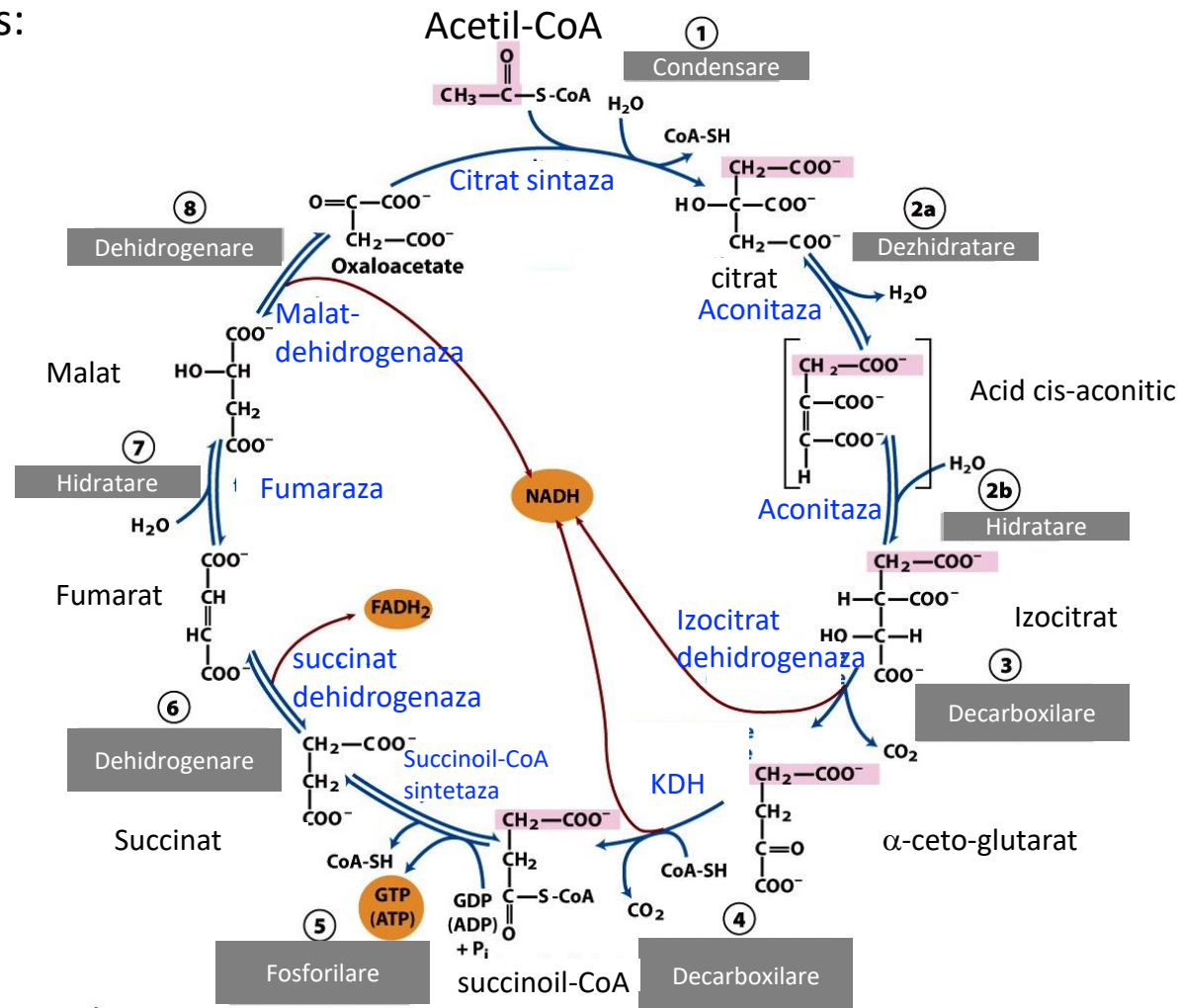
**Figure 16-5b**  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
 © 2008 W. H. Freeman and Company



**Figure 16-6**  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
 © 2008 W. H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

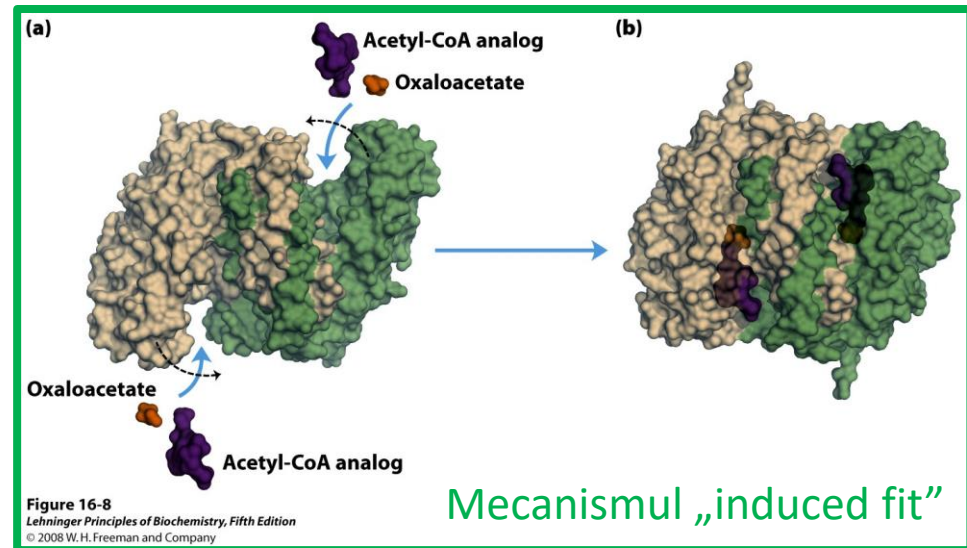
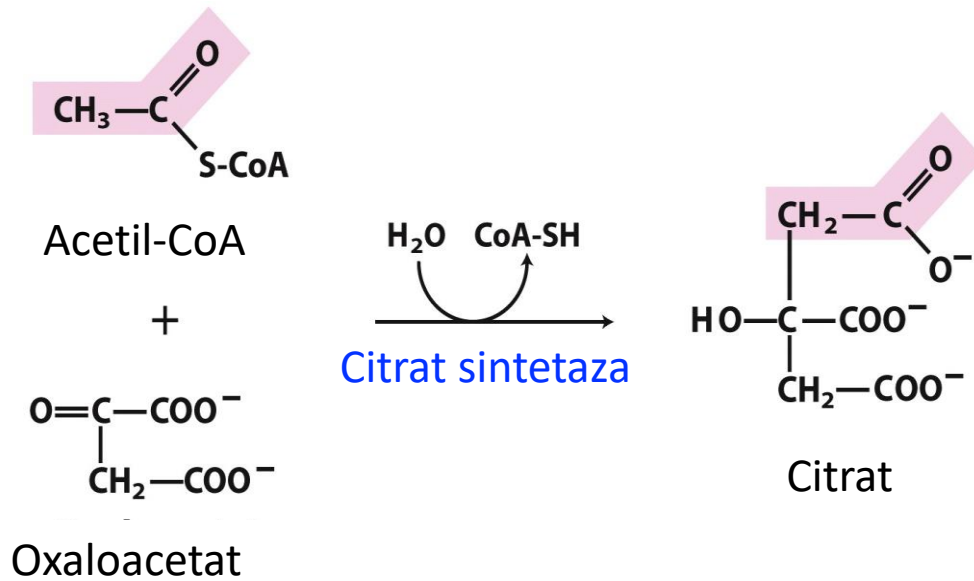
Reacția catalizată de PDH nu este parte integrantă a CAT, ci are doar rolul de a pregăti substratul – acetil-CoA. **Parcursul complet al CAT presupune realizarea a 8 reacții enzimatice distincte, prezentate schematic mai jos:**



**Figure 16-7**  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
 © 2008 W.H. Freeman and Company

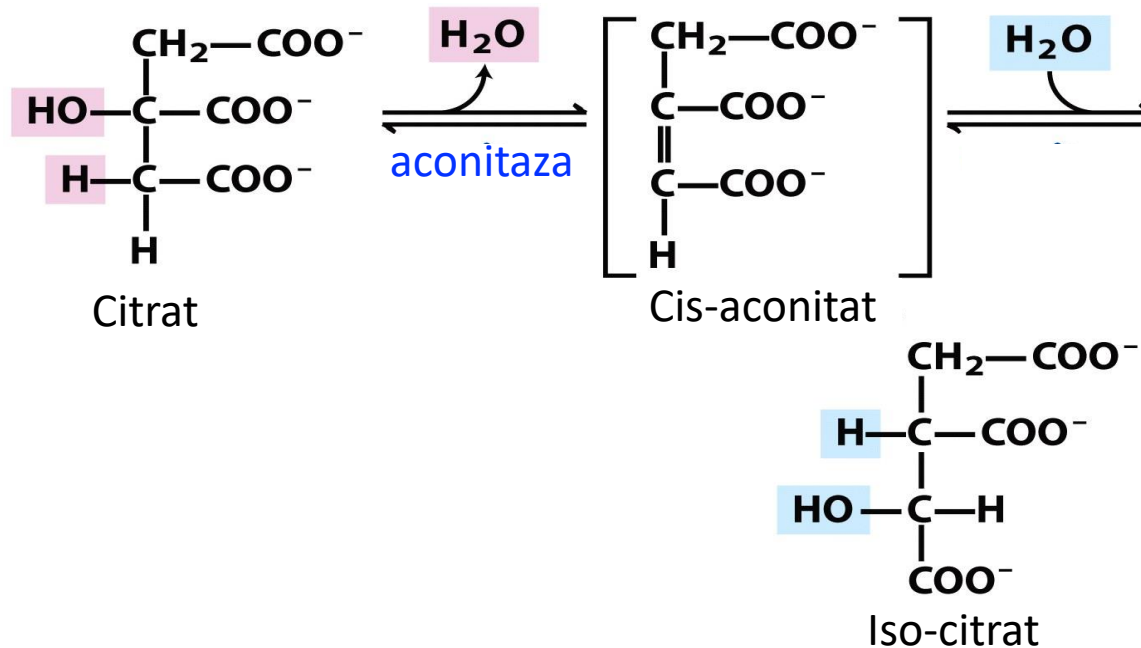
# Etapele ciclului Krebs

**1. Formarea acidului citric (acid tricarboxilic)** – este catalizată de **citrat-sintetaza** – o enzimă dimeră ce realizează o reacție de condensare Claisen între un tio-ester (Acetil-CoA) și o grupare carbonil (din oxaloacetat). Restul de CoA este eliberat și poate fi refolosit.



# Etapele ciclului Krebs

**2. Formarea izocitratului (acid tricarboxilic)** – este catalizată de enzima numită **aconitaza** sau mai corect **aconitat-hidratataza**. Reacția este una de izomerizare și se realizează prin eliminarea unei molecule de  $H_2O$  din acidul citric, acesta se transformând-se în compus instabil – **acidul cis-aconitic**. Prin adăuția spontană a unei alte molecule de  $H_2O$ , acesta din urmă se transformă în izocitrat.



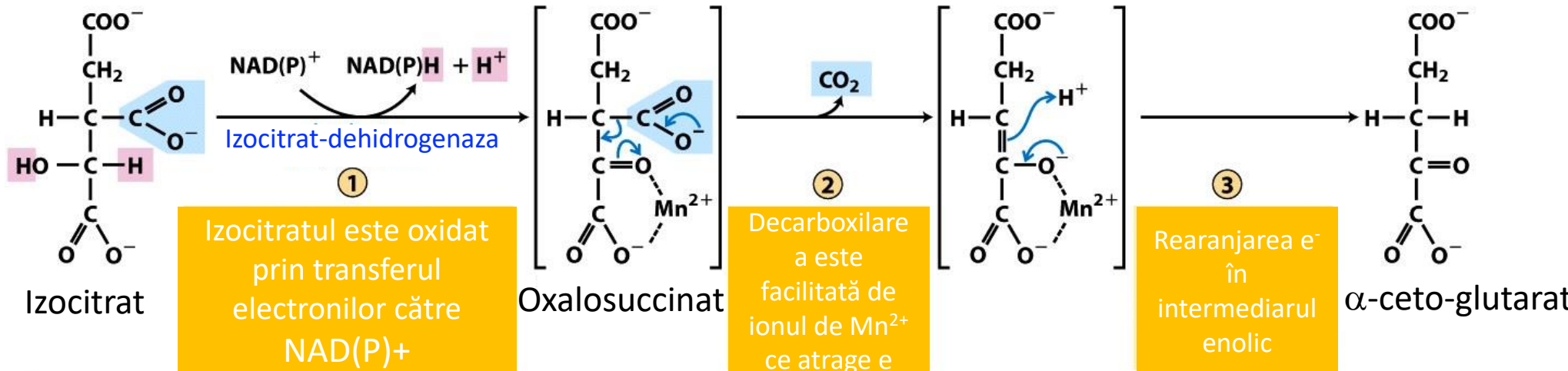
Unnumbered 16 p622b  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company

Aconitaza este o enzima ce conține un cluster de Fe-S. În lipsa fierului, nu își poate îndeplini rolul în CAT și enzima capătă o nouă funcție – reglează procesul de absorbție și transport al fierului. Este unul din exemplele în care o proteină codificată de o genă îndeplinește mai multe funcții = **moonlighting**.



# Etapele ciclului Krebs

**3. Oxidarea izocitratului la  $\alpha$ -ceto-glutarat cu eliberarea primei molecule de  $\text{CO}_2$**  – este catalizată de **izocitrat-dehidrogenaza**, enzimă ce conține în centrul activ un ion de  $\text{Mn}^{2+}$ . Mecanismul catalitic presupune o **reacție de dehidrogenare** cu formarea unui intermediar instabil ce nu părăsește situsul catalitic: **oxalosuccinat**. După dehidrogenare, prezența ionului de  $\text{Mn}^{2+}$  electropozitiv face ca electronii să se redistribuie și are loc **reacția de decarboxilare** - eliminarea unei molecule de  $\text{CO}_2$  cu formarea  $\alpha$ -ceto-glutaratului.



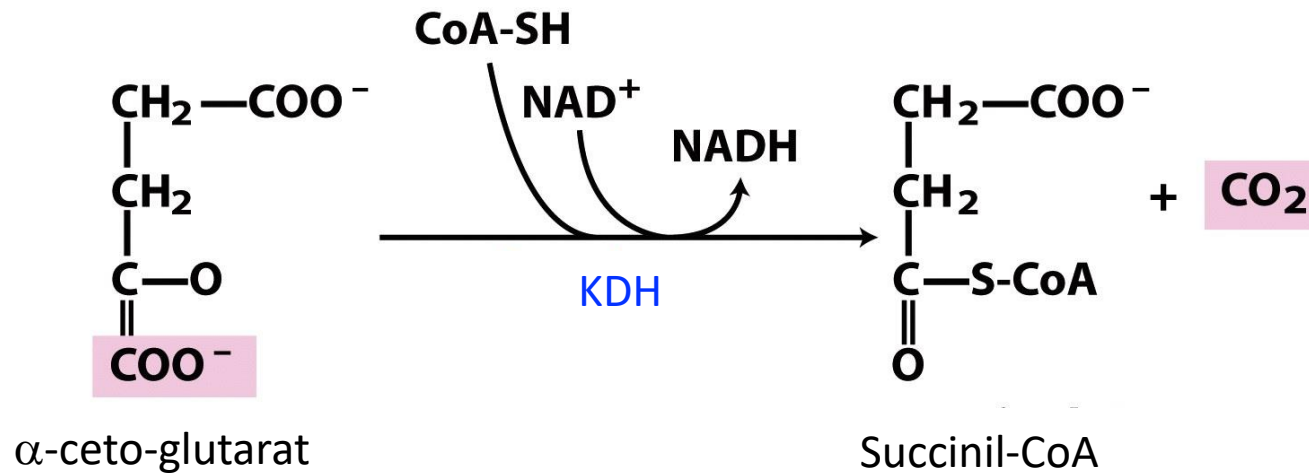
**Figure 16-11**

*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*

© 2008 W. H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

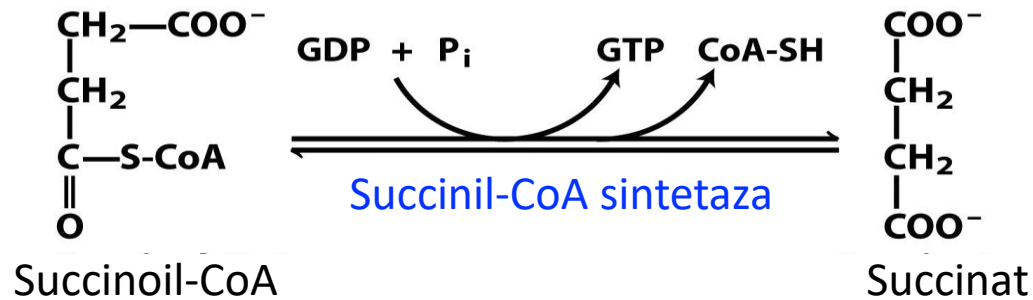
4. Oxidarea  $\alpha$ -ceto-glutarat la Succinil-CoA și eliberarea celei de-a doua molecule de  $\text{CO}_2$  – este tot o reacție de decarboxilare oxidativă realizată de complexul proteic cetoglutarat-dehidrogenaza (KDH). KDH este asemănător din punct de vedere al structurii și mecanismului de acțiune cu PDH, folosind în calitate de cofactor  $\text{NAD}^+$  și CoA.



Unnumbered 16 p625  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

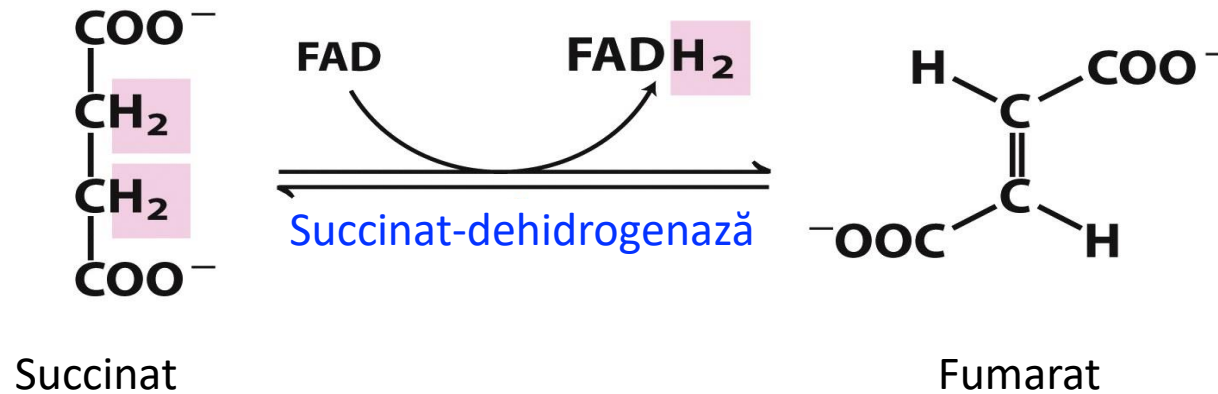
**5. Conversia Succinoil-CoA în succinat** – este catalizată de enzima **Succinil-CoA sintetaza** sau **succinat-tio-kinaza**. Reacția constă în liza legăturii tioesterice dintre CoA și succinat, echilibrul fiind puternic deplasat spre dreapta. Reacția de liză este cuplată cu reacția de fosforilare a GDP și duce deci la formarea GTP. Molecula de GTP poate fi mai apoi convertită în ATP prin activitatea unei nucleosid-difosfat-kinaze (**reacția nu face parte din ciclul Krebs**).



Unnumbered 16 p626  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

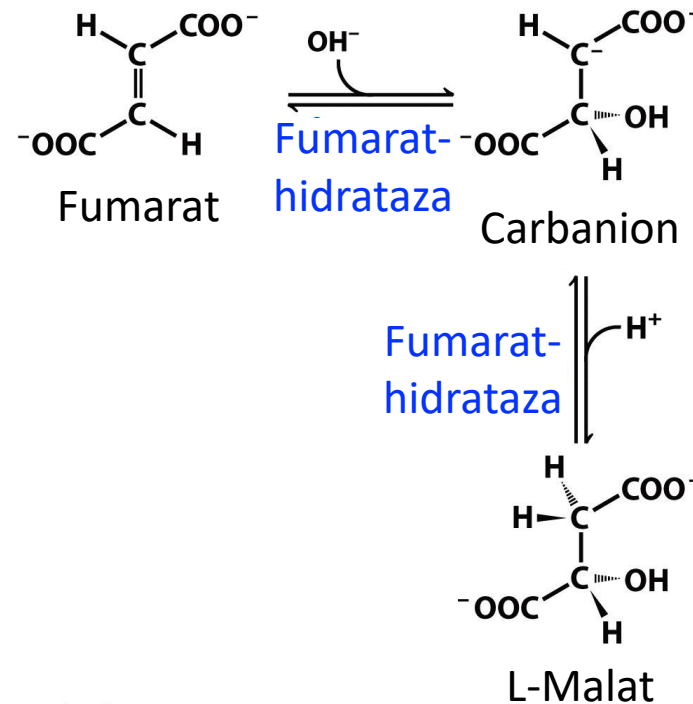
**6. Dehidrogenarea succinatului în acid fumaric** – este realizată de o flavo-enzimă (enzimă de culoare galbenă ce are ca și cofactor FAD) numită **succinat-dehidrogenază**.



Unnumbered 16 p628a  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

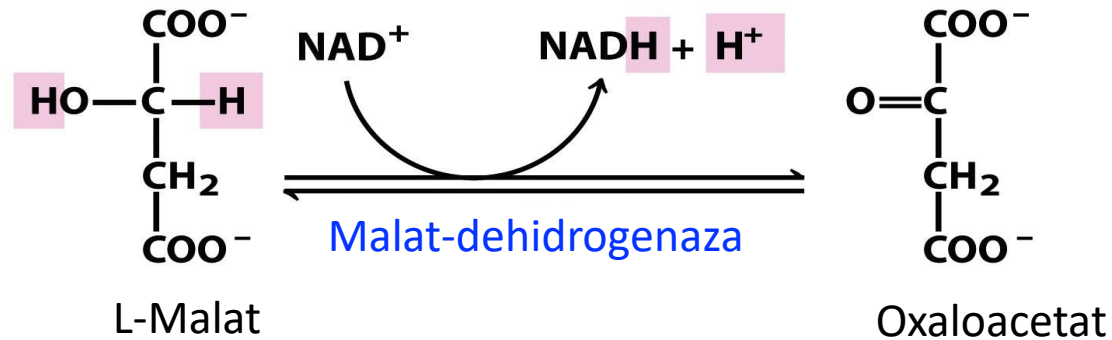
**7. Hidratarea fumaratului cu obținere de malat** – este catalizată de enzima numită **fumarat-hidratază**. Reacția se realizează în două etape cu apariția unui intermediar instabil sub forma unui carbanion. Fumarat-hidrataza este o enzimă stereospecifică, în sensul că enzima catalizează hidratarea legăturii duble din trans din fumarat, dar nu și a legăturii duble în cis din acidul maleic.



Unnumbered 16 p628c  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company

# Etapele ciclului Krebs

**8. Oxidarea malatului în oxaloacetat** – este ultima reacție a CAT catalizată de **malat-dehidrogenaza**. Oxidarea malatului la oxaloacetat este însoțită de transferul electronilor către  $\text{NAD}^+$  și deci reducerea acestuia.



Unnumbered 16 p628e  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# Bilanțul ciclului Krebs

Parcurgerea completă a celor 8 reacții ce alcătuiesc ciclul Krebs de către ceste ultima reacție a CAT catalizată de **malat-dehidrogenaza**. Oxidarea malatului la oxaloacetat este însoțită de transferul electronilor către  $\text{NAD}^+$  și deci reducerea acestuia.

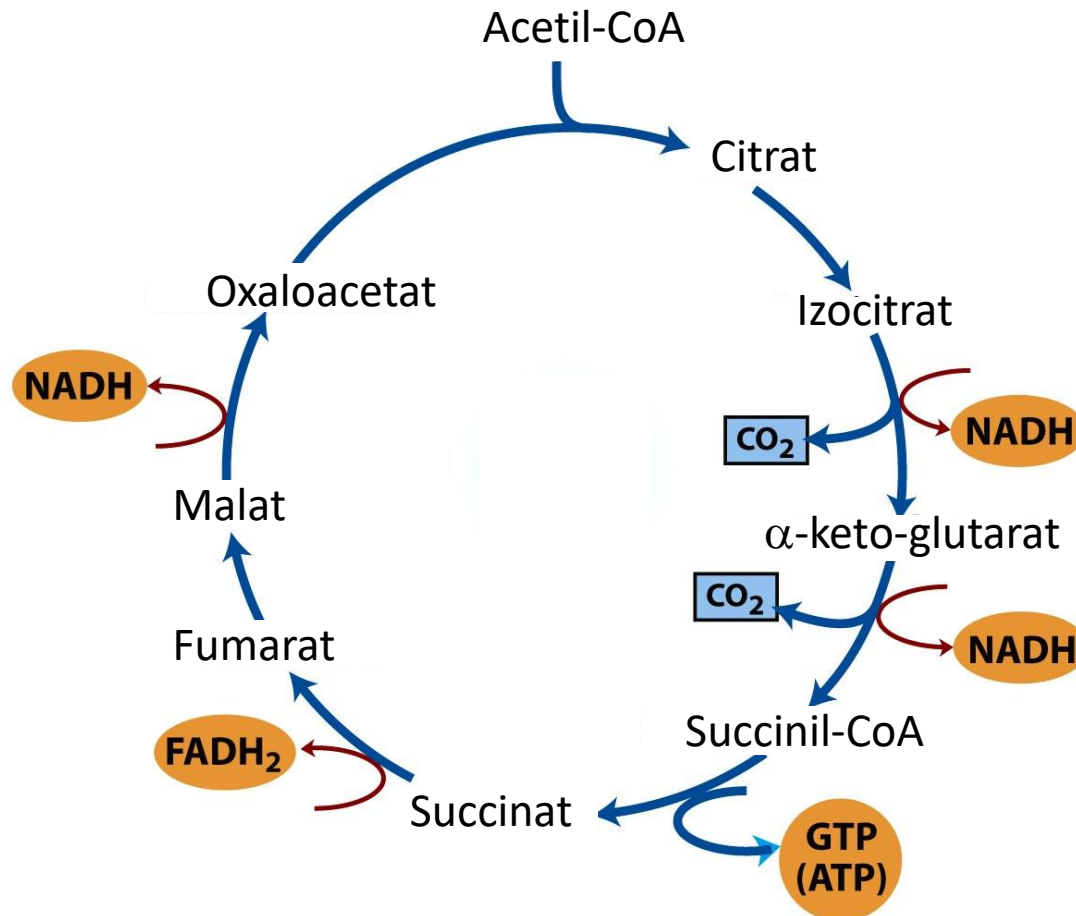


Figure 16-13  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company