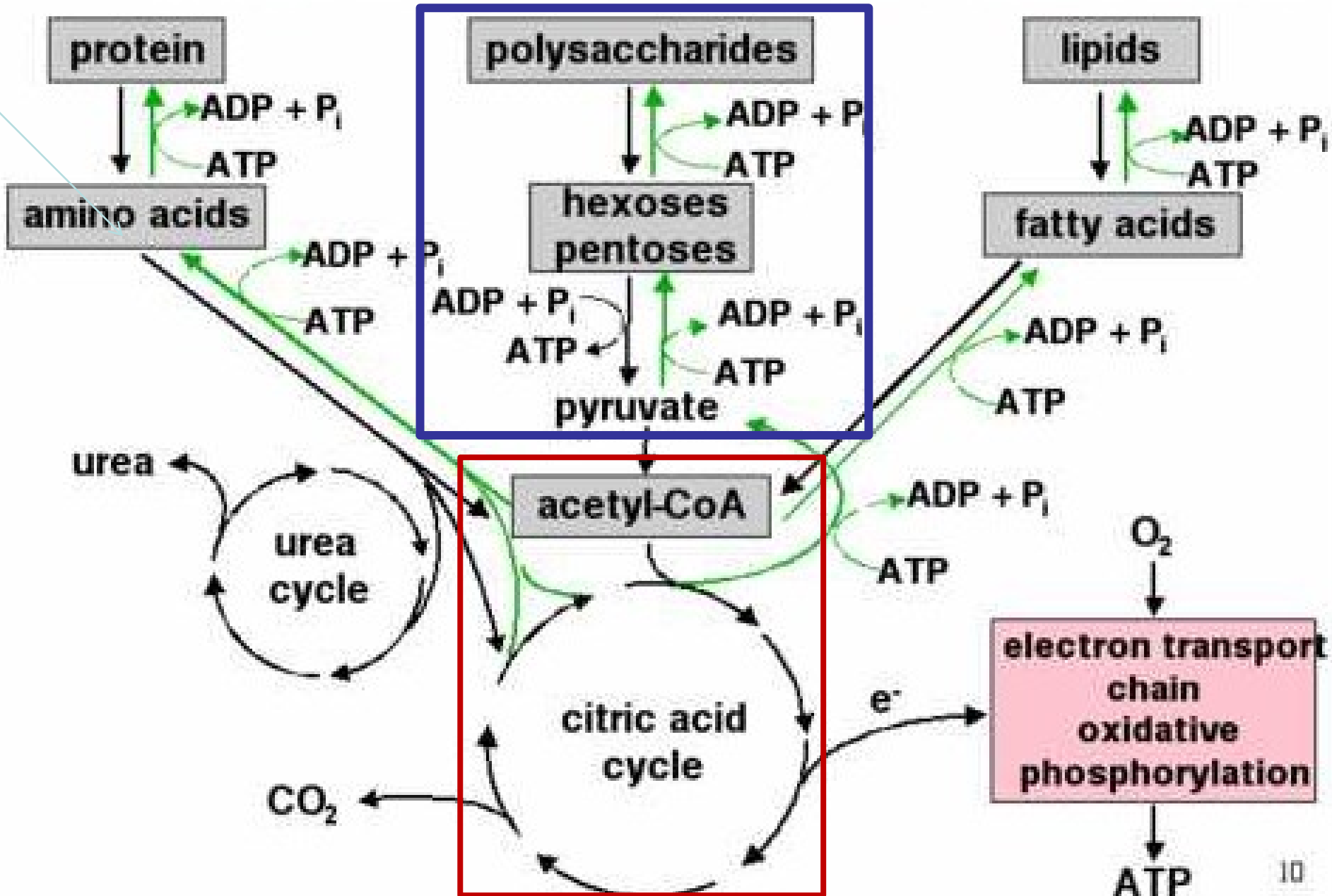


Σύνοψη του μεταβολισμού



Ο κύκλος του κιτρικού οξέος

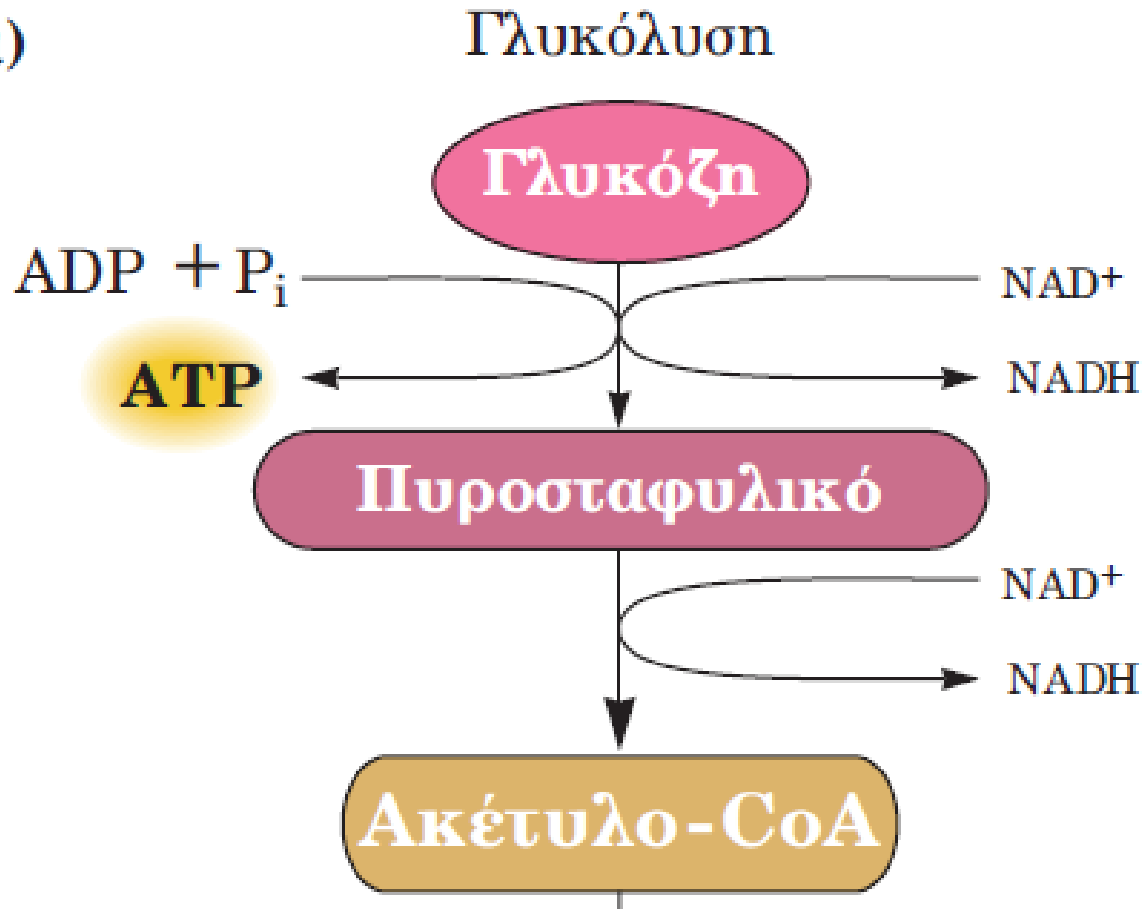
Η γλυκολυτική οδός μετατρέπει τη γλυκόζη σε πυροσταφυλικό και παράγει δύο μόρια ATP ανά μόριο γλυκόζης — ένα μικρό μόνο μέρος της ενέργειας που μπορεί να είναι διαθέσιμη από τη γλυκόζη.

Σε αναερόβιες συνθήκες, το πυροσταφυλικό ανάγεται σε γαλακτικό στα ζώα και σε αιθανόλη στη μαγιά, ενώ το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας του μορίου της γλυκόζης παραμένει αναξιοποίητο.

Παρουσία οξυγόνου όμως, μια πολύ πιο ενδιαφέρουσα και θερμοδυναμικά πλήρης ιστορία εκτυλίσσεται. **Πώς το πυροσταφυλικό οξειδώνεται αερόβια σε CO₂ και ποια χημική λογική υπαγορεύει το πώς συμβαίνει αυτή διαδικασία;**

Σε αερόβιες συνθήκες, το πυροσταφυλικό που παράγεται στη γλυκόλυση μετατρέπεται σε ακέτυλο-συνένζυμο Α (ακέτυλο-CoA) και οξειδώνεται σε CO₂ στον **κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος (tricarboxylic acid cycle, TCA)** που αποκαλείται επίσης και **κύκλος του κιτρικού οξέος (citric acid cycle)**.

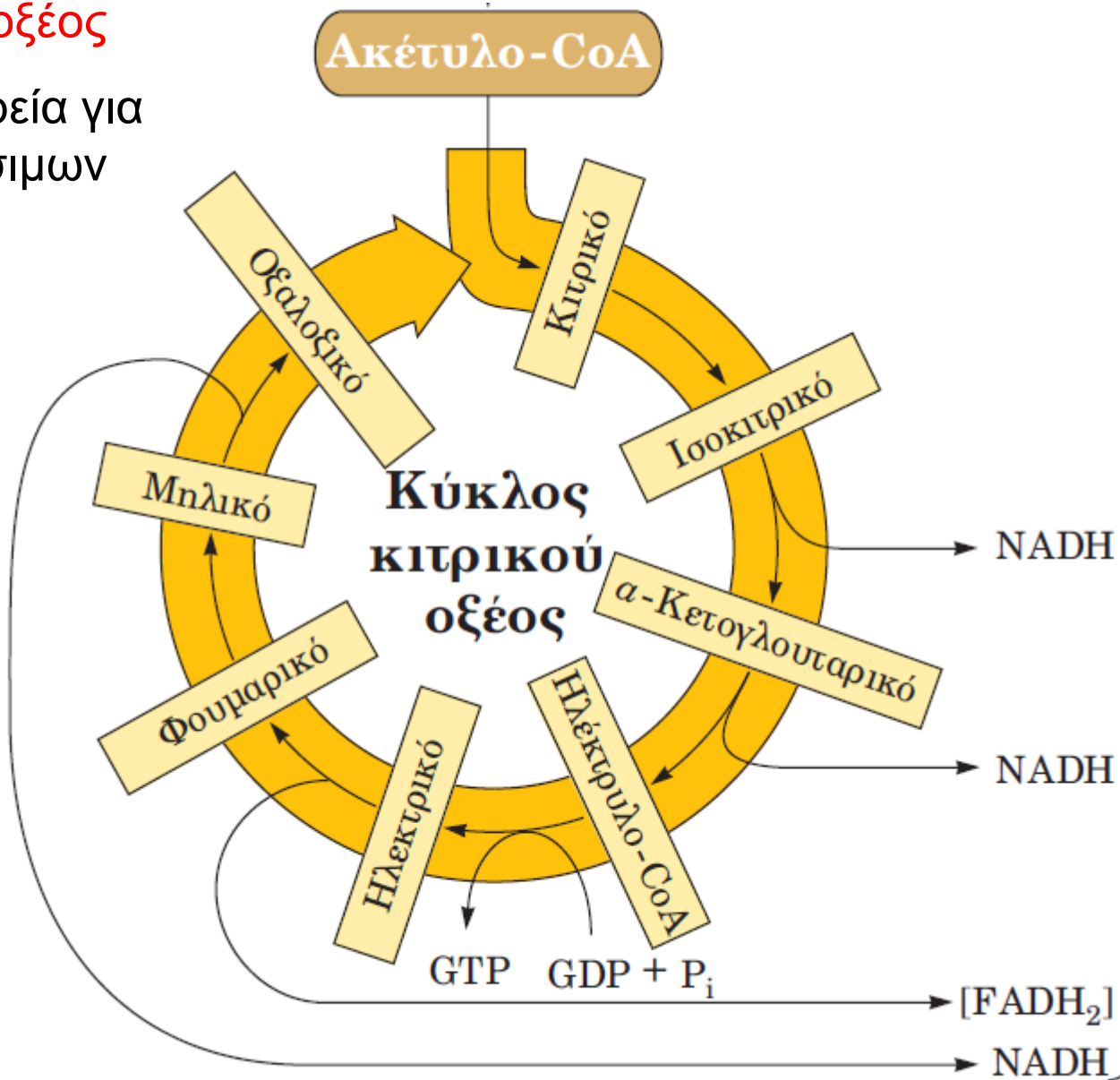
(α)



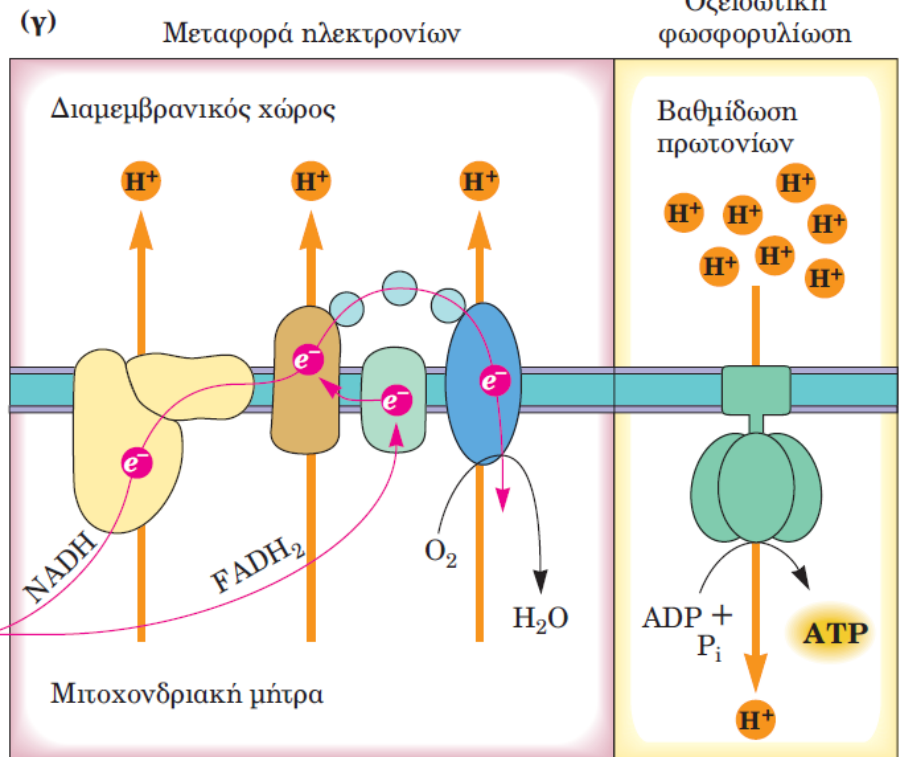
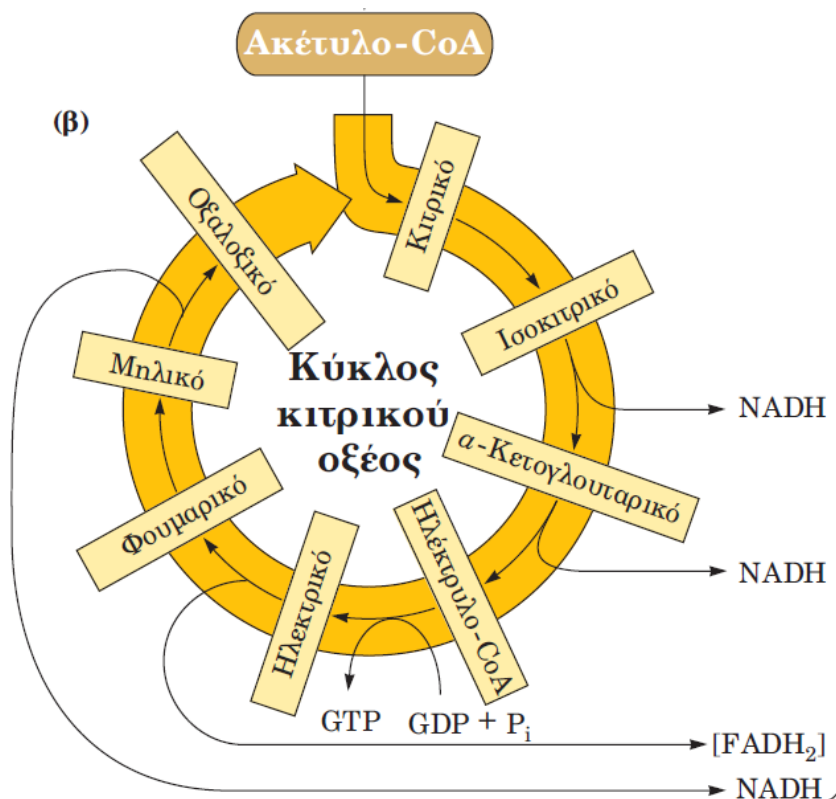
Το πυροσταφυλικό που παράγεται στη γλυκόλυση, κάτω από αερόβιες συνθήκες, μετασχηματίζεται σε ακέτυλο-CoA

Ο κύκλος του κιτρικού οξέος

είναι η τελική κοινή πορεία για την οξείδωση των καύσιμων οργανικών μορίων.



Hans Krebs, 1900–1981



Τα ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται από αυτήν την οξειδωτική διαδικασία διοχετεύονται στα NAD⁺ και FAD και μετά, μέσω ενός περίτεχνου μεμβρανοσυνδεδεμένου **μονοπατιού μεταφοράς ηλεκτρονίων (electron-transport pathway)**, στο O₂, τον τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων.

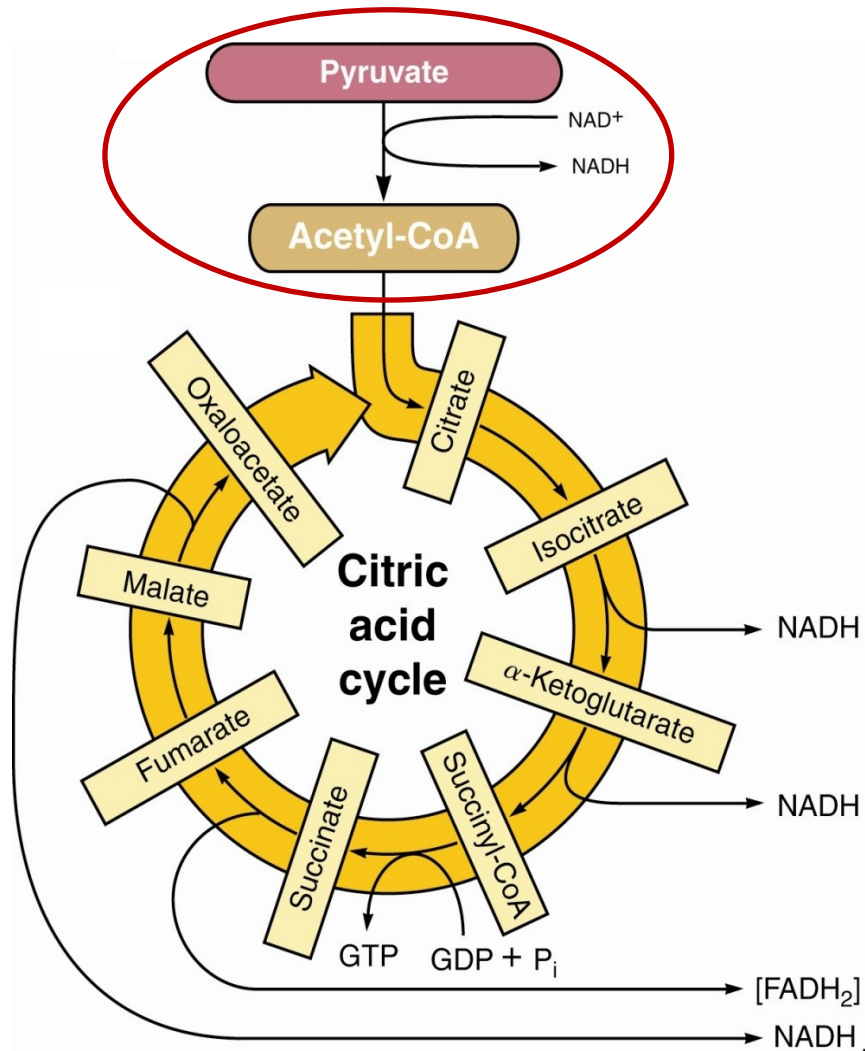
Η μεταφορά ηλεκτρονίων είναι συζευγμένη με τη δημιουργία μιας βαθμίδωσης πρωτονίων εκατέρωθεν της μεμβράνης. Η βαθμίδωση αυτή αντιπροσωπεύει μια κατάσταση υψηλής ενέργειας και η αποθηκευμένη σε αυτήν τη βαθμίδωση ενέργεια χρησιμοποιείται για την προώθηση της σύνθεσης πολλών ισοδυνάμων του ATP.

Η σύνθεση ATP, ως συνέπεια της μεταφοράς ηλεκτρονίων, ονομάζεται **οξειδωτική φωσφορυλίωση**

ΚΑΙΡΙΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ

- Πώς το πυροσταφυλικό αποκαρβοξυλιώνεται οξειδωτικά προς ακέτυλο-CoA;
- Ποια είναι η χημική λογική του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος;
- Πώς παράγονται δυο μόρια CO₂ από το ακέτυλο-CoA;
- Πώς αναγεννάται το οξαλοξικό προκειμένου να ολοκληρωθεί ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος;
- Ποιες είναι οι ενεργειακές συνέπειες του κύκλου;
- Μπορεί ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος να παράγει ενδιάμεσες ενώσεις για βιοσυνθέσεις;
- Τι είναι οι αναπληρωτικές αντιδράσεις;
- Πώς ρυθμίζεται ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος;
- Υπάρχουν οργανισμοί που χρησιμοποιούν το οξικό ως μοναδική πηγή άνθρακα;

Η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού σε ακέτυλο-CoA αποτελεί το σύνδεσμο μεταξύ της γλυκόλυσης και του κύκλου του κιτρικού οξέος.



Επειδή στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η γλυκόλυση επιτελείται στο κυτταρόπλασμα, ενώ ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος και όλα τα επόμενα βήματα του αερόβιου μεταβολισμού λαμβάνουν χώρα στα μιτοχόνδρια, το πυροσταφυλικό πρέπει πρώτα να εισέλθει στα μιτοχόνδρια.





Η σύνθεση του ακετυλο-CoA από τη γλυκόζη είναι ένα μη αντιστρεπτό καθοριστικό βήμα στο μεταβολισμό της γλυκόζης.

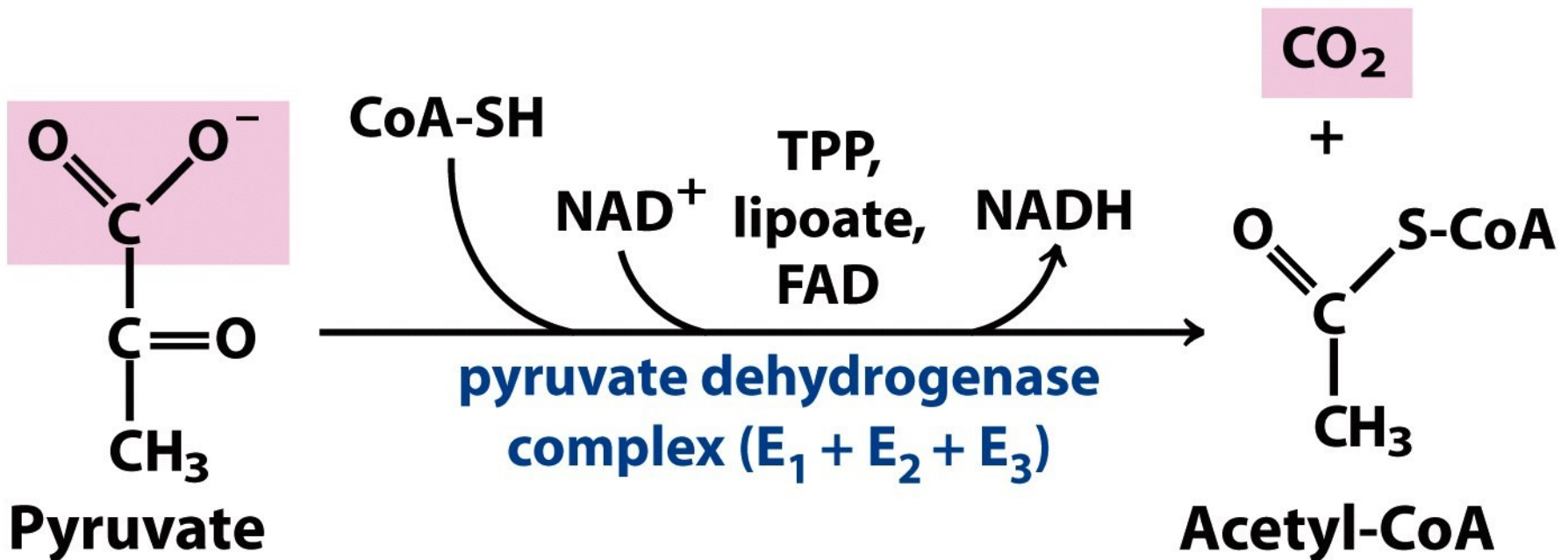
Για το λόγο αυτό οι ζωικοί οργανισμοί δεν είναι ικανοί να μετατρέψουν το ακετυλο-CoA ξανά σε γλυκόζη.

Η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οδηγεί υποχρεωτικά τα άτομα άνθρακα της γλυκόζης σε δύο κατευθύνσεις:

1. Οξείδωση σε CO₂ από τον κύκλο του κιτρικού οξέος, με ταυτόχρονη παραγωγή ενέργειας ή
2. Σύνθεση λιπών.

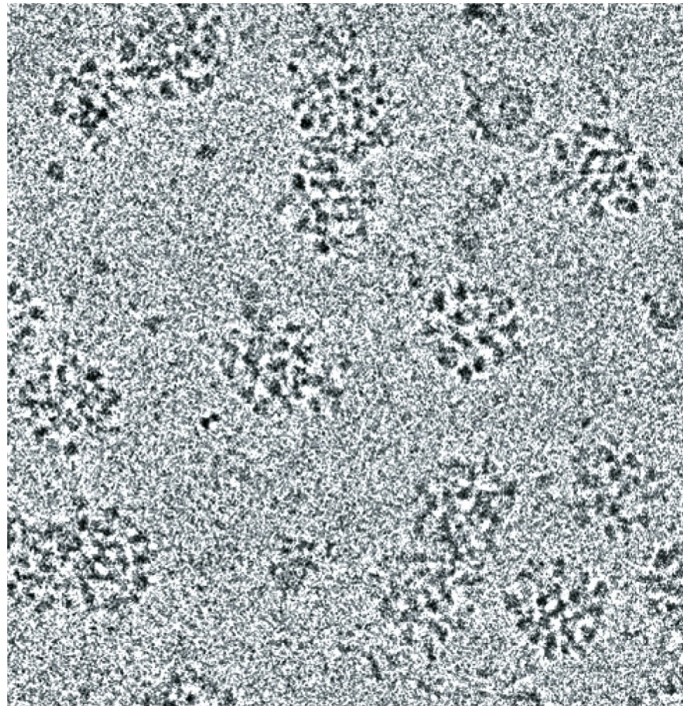
Μετατροπή του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA.

Κάτω από αερόβιες συνθήκες, το πυροσταφυλικό μεταφέρεται από τον φορέα του πυροσταφυλικού (έναν αντιμεταφορέα) μέσα στα μιτοχόνδρια σε ανταλλαγή με OH^- και μετατρέπεται σε ακετυλο-CoA, μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που καταλύονται από το πολυενζυμικό σύμπλεγμα της **πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης**. Η τελική αντίδραση της οξειδωτικής αποκαρβοξυλίωσης είναι:

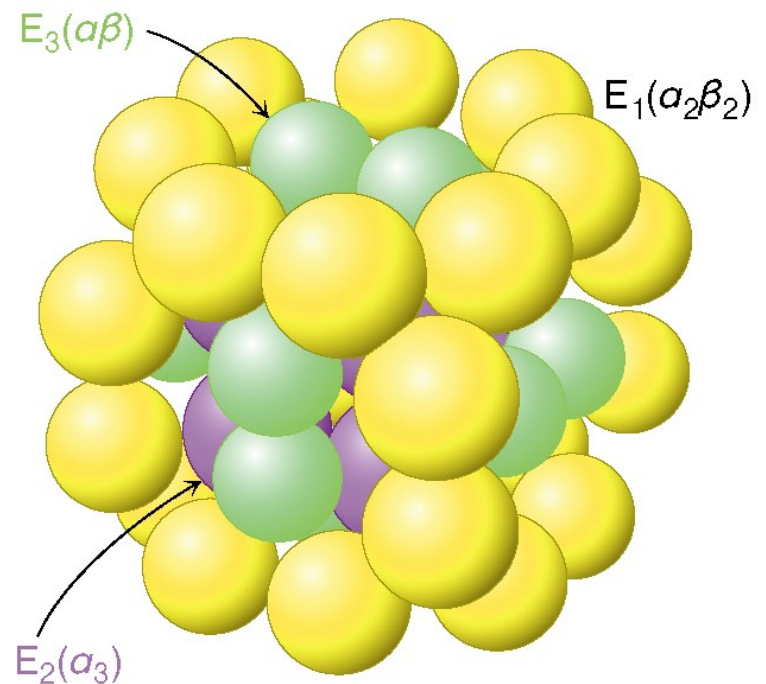


Πυροσταφυλική αφυδρογονάση

Η μη αντιστρεπτή αντίδραση μετατροπής του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA καταλύεται από ένα μεγάλο πολυενζυμικό σύμπλεγμα που περιέχει τρεις διαφορετικές ενζυμικές ενεργότητες: *αφυδρογονάση του πυροσταφυλικού (E1)*, *ακετυλοτρανσφεράση του διυδρολιποαμιδίου (E2)* και *αφυδρογονάση του διυδρολιποαμιδίου (E3)*. Κάθε μια ενεργότητα βρίσκεται μέσα στο σύμπλοκο σε συγκεκριμένη στοιχειομετρική αναλογία και απαιτεί για τη δράση της συγκεκριμένα συνένζυμα.



50 nm

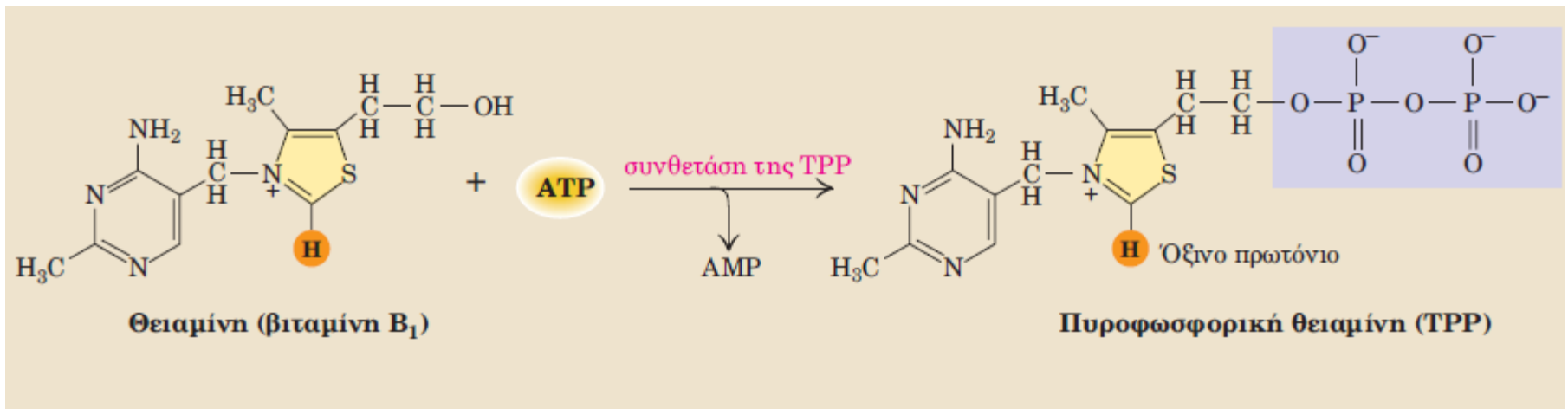


Πολυενζυμικό σύμπλεγμα πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης στο *E. coli*

Ενζυμική ενεργότητα	Λειτουργία	Νο αντιγράφων ανά σύμπλοκο	Συνένζυμα
Πυροσταφυλική αποκαρβοξυλάση (E ₁)	Αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού	24 (20 - 30)	TPP
Τρανακυλάση του διϋδρολιποναμιδίου (E ₂)	Καταλύει τη μεταφορά της ακετυλομάδας στο CoASH	24 (60)	Λιποϊκό οξύ, CoASH
Αφυδρογονάση του διϋδρολιποναμιδίου (E ₃)	Επανοξειδώνει το διϋδρολιποναμίδιο	12 (20 - 30)	NAD ⁺ , FAD

Τα συνένζυμα του συμπλέγματος της αφυδρογονάσης του πυροσταφυλικού

Πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP)

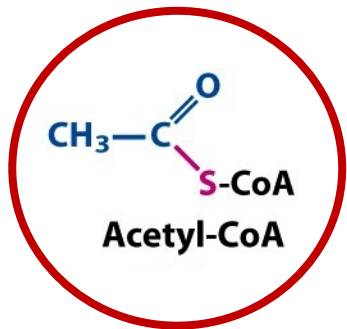
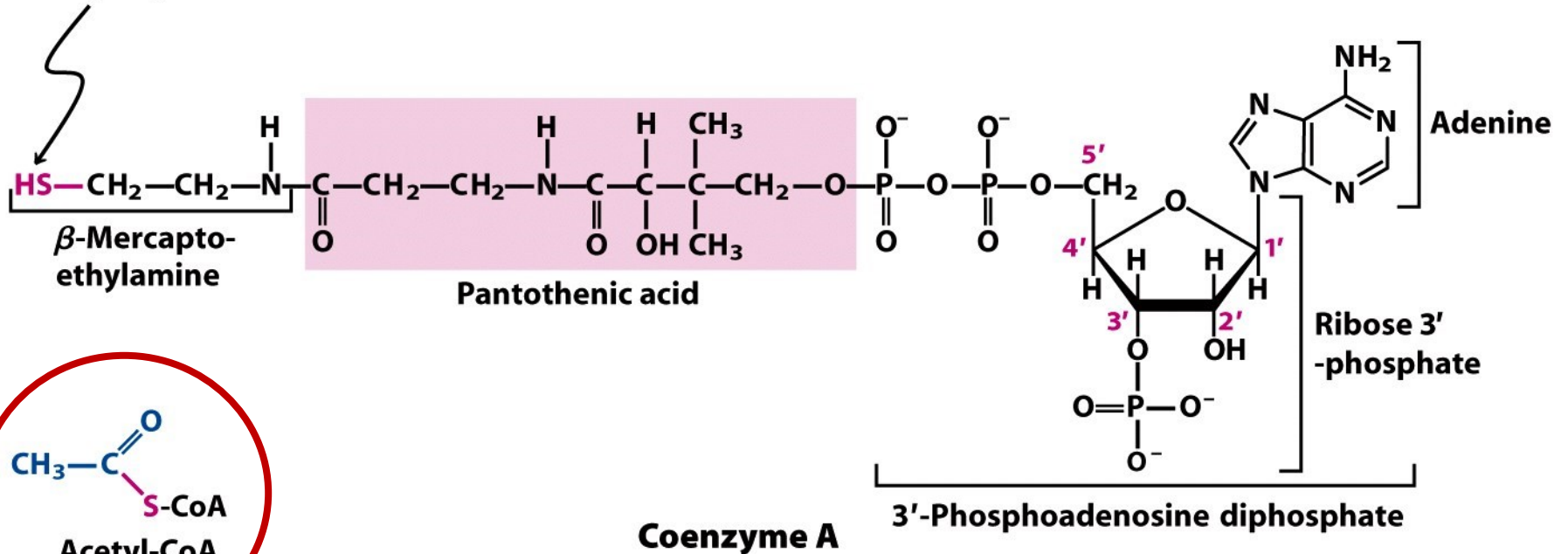


Η TPP βοηθά στην αποκαρβοξυλίωση των α-κετοξέων (εδώ) και στον σχηματισμό και τη διάσπαση των α-υδροξυκετονών (όπως στην αντίδραση της τρανσκετολάσης)

Συνένζυμο A (CoA)

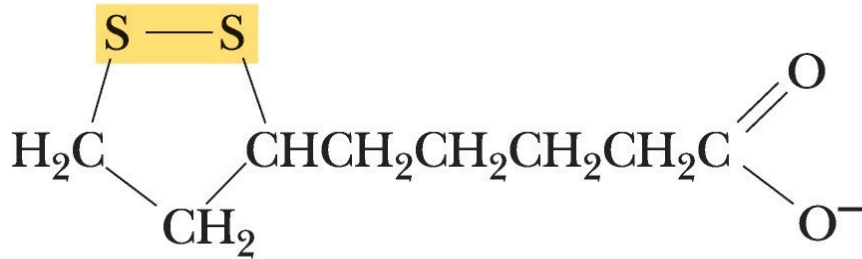
Η σουλφυδρυλική ομάδα του CoA σχηματίζει θειεστερικούς δεσμούς με τις ακυλομάδες.

Reactive thiol group



Λιποϊκό οξύ

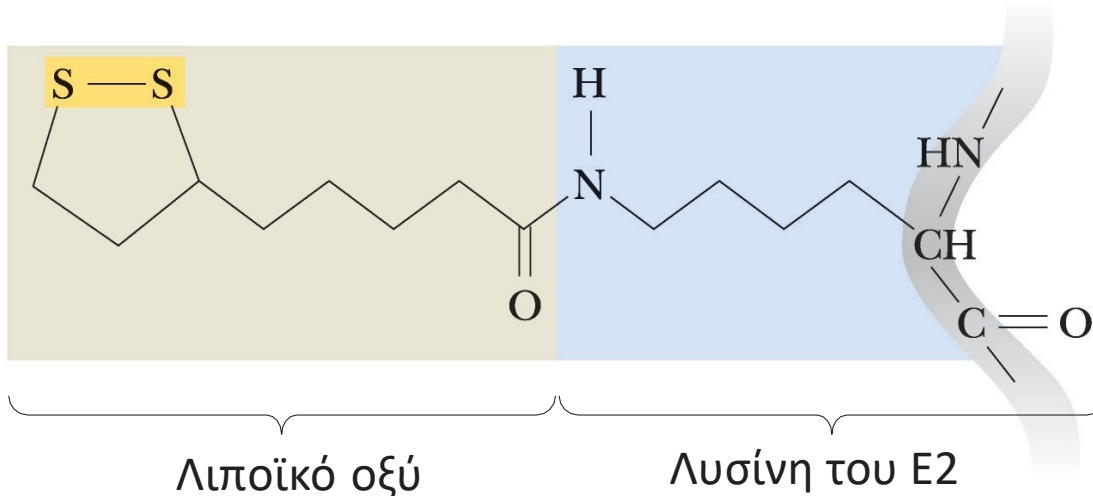
Δρα προκειμένου να επιτευχθεί η σύζευξη της μεταφοράς ακυλομάδας με τη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά την οξείδωση και αποκαρβοξυλίωση των α -κετοξέων. Απαντάται στα συμπλέγματα της αφυδρογονάσης του πυροσταφυλικού και της αφυδρογονάσης του α -κετογλουταρικού.



Λιποϊκό οξύ, οξειδωμένη μορφή



Ανηγγμένη μορφή



Λιποϊκό οξύ

Λυσίνη του E2

Λιποϋλολυσίνη (Λιποαμίδιο)

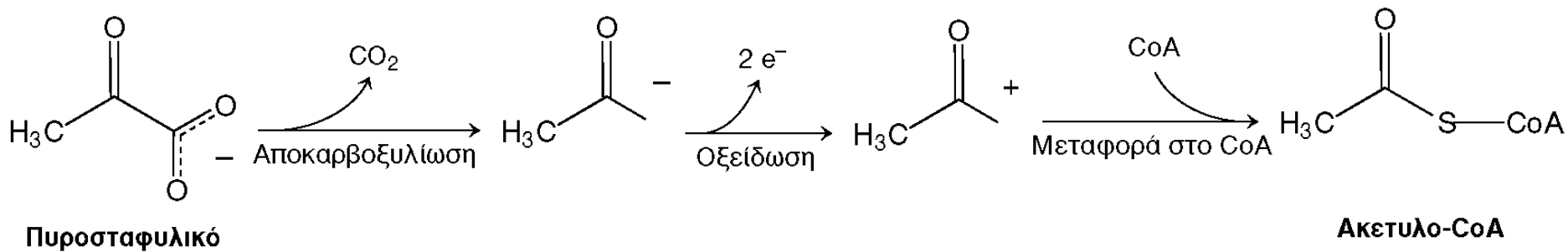
Το λιποϊκό οξύ συνδέεται ομοιοπολικά με τις υπομονάδες E₂ των αντίστοιχων ενζύμων μέσω του σχηματισμού αμιδικού δεσμού με την ϵ -αμινομάδα ενός καταλοίπου λυσίνης.

Η διεργασία μετατροπής του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA απαρτίζεται από τρία βήματα:

1. αποκαρβοξυλίωση

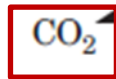
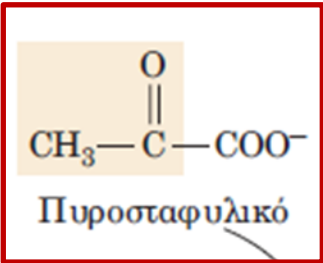
2. οξείδωση

3. και μεταφορά της προκύπτουσας ακετυλικής ομάδας στο CoA.

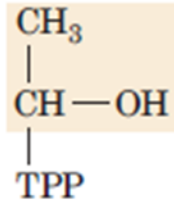


Ο μηχανισμός της αντίδρασης του συμπλέγματος της αφυδρογονάσης του πυροσταφυλικού

- 1 Το πυροσταφυλικό χάνει CO_2 και σχηματίζεται υδροξυαιθυλο-TPP
- 2 Η υδροξυαιθυλική ομάδα μεταφέρεται στο λιποϊκό και οξειδώνεται για να σχηματιστεί ακετυλο-διυδρολιποϊκό
- 3 Η ακετυλομάδα μεταφέρεται στο CoA



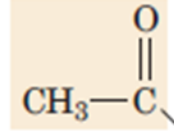
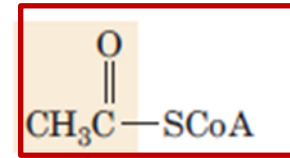
Πυροφωσφορική
θειαμίνη



Υδροξυαιθυλο-TPP
(HETPP)

- 2 Η υδροξυαιθυλική ομάδα μεταφέρεται στο λιποϊκό και οξειδώνεται για να σχηματιστεί ακετυλο-διυδρολιποϊκό

- 3 Η ακετυλομάδα μεταφέρεται στο CoA

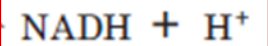


- 4 Το λιποϊκό επανοξειδώνεται



NAD^+

[FAD]



Πρωτεΐνη

Λιποϊκό

Αφυδρογονάση του
πυροσταφυλικού

Διυδρολιποϋλο-τραν-
σακετυλάση
(ακετυλοτρανσφεράση του
διυδρολιποαμιδίου)

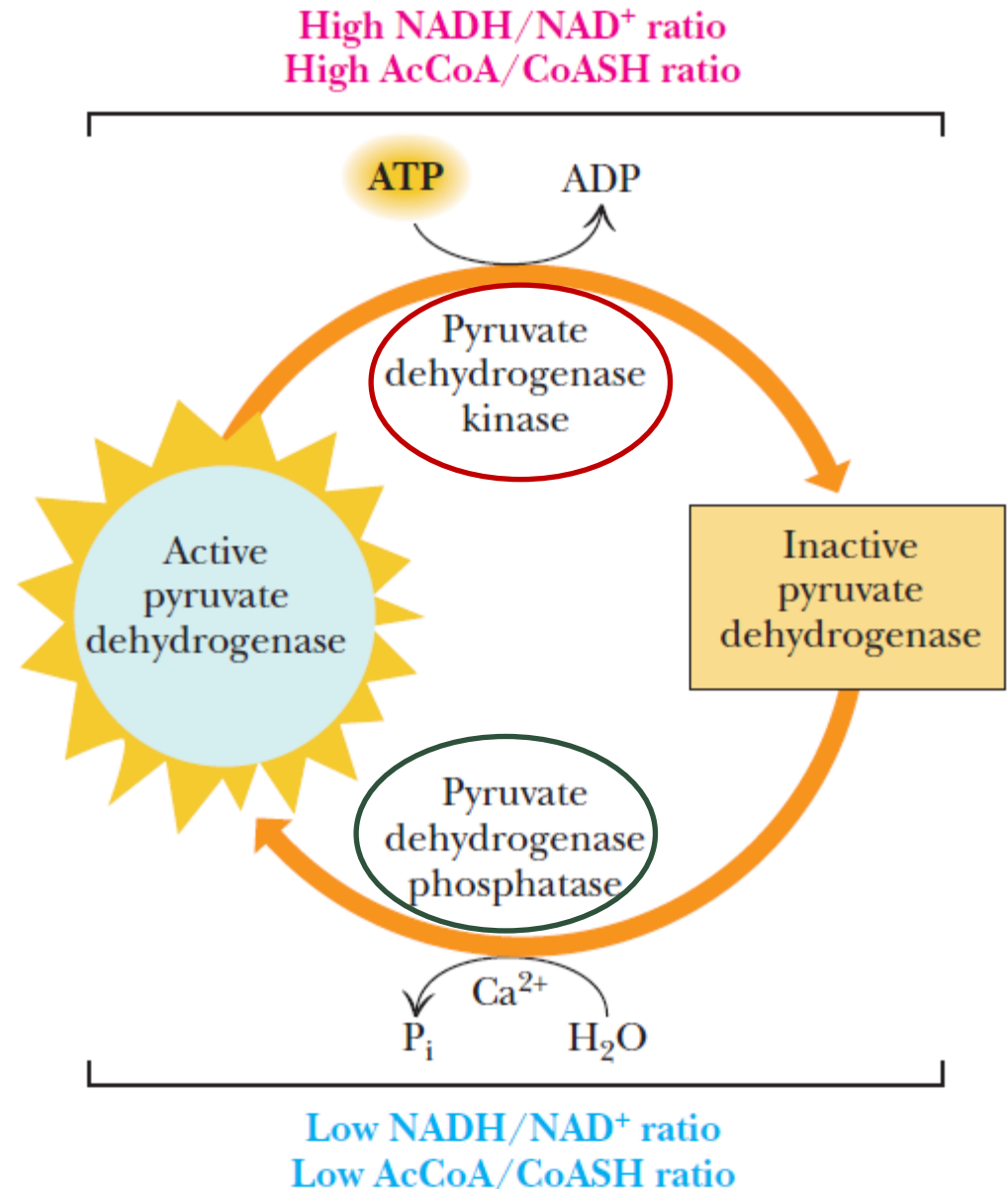
Διυδρολιποϋλο
αφυδρογονάση
(αφυδρογονάση του
διυδρολιποαμιδίου)

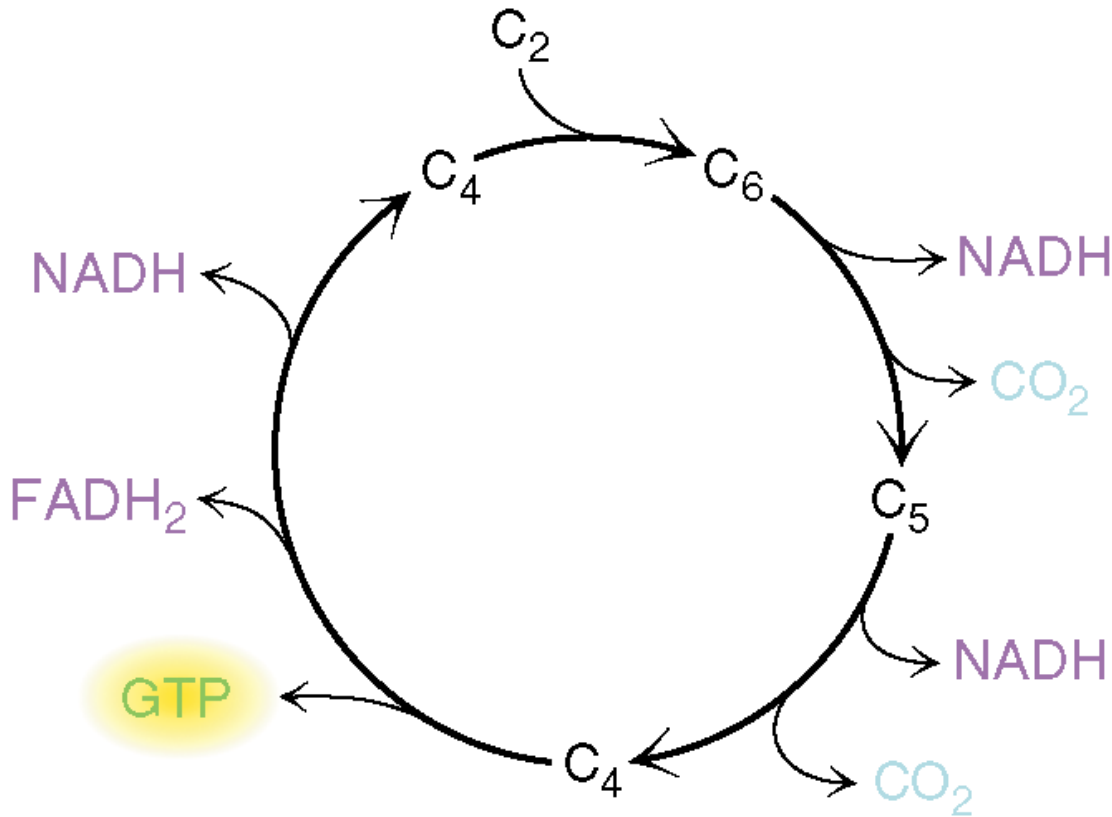
Ρύθμιση της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης

- Ο σχηματισμός του ακέτυλο-CoA από το πυροσταφυλικό αποτελεί σημείο «κλειδί» στα στάδια του διάμεσου μεταβολισμού.
- Για το λόγο αυτό, η ενεργότητα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης βρίσκεται κάτω από αυστηρό έλεγχο, ο οποίος επιτυγχάνεται με τρεις τρόπους:
- **Αναστολή από τα προϊόντα της αντίδρασης.** Τόσο το **ακέτυλο-CoA**, όσο και το **NADH** αναστέλλουν το πολυενζυμικό σύμπλεγμα. Το ακέτυλο-CoA αναστέλλει την τρανσακετυλάση (E_2), ενώ το NADH την αφυδρογονάση του διϋδρολιπινοαμιδίου (E_3). Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η υπέρμετρη αντίδραση.
- **Ανάδρομη ρύθμιση μέσω νουκλεοτιδίων.** Η αποκαρβοξυλάση-αφυδρογονάση (E_1) αναστέλλεται από το **GTP** και ενεργοποιείται από το **AMP**.
Τα υψηλά επίπεδα AMP είναι ένα σημάδι χαμηλού ενεργειακού δυναμικού του κυττάρου. Και συνεπώς η ενεργοποίηση της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης κάτω από αυτές τις συνθήκες πυροδοτεί την παραγωγή ενέργειας από το πυροσταφυλικό.

Ρύθμιση μέσω ομοιοπολικών τροποποιήσεων.

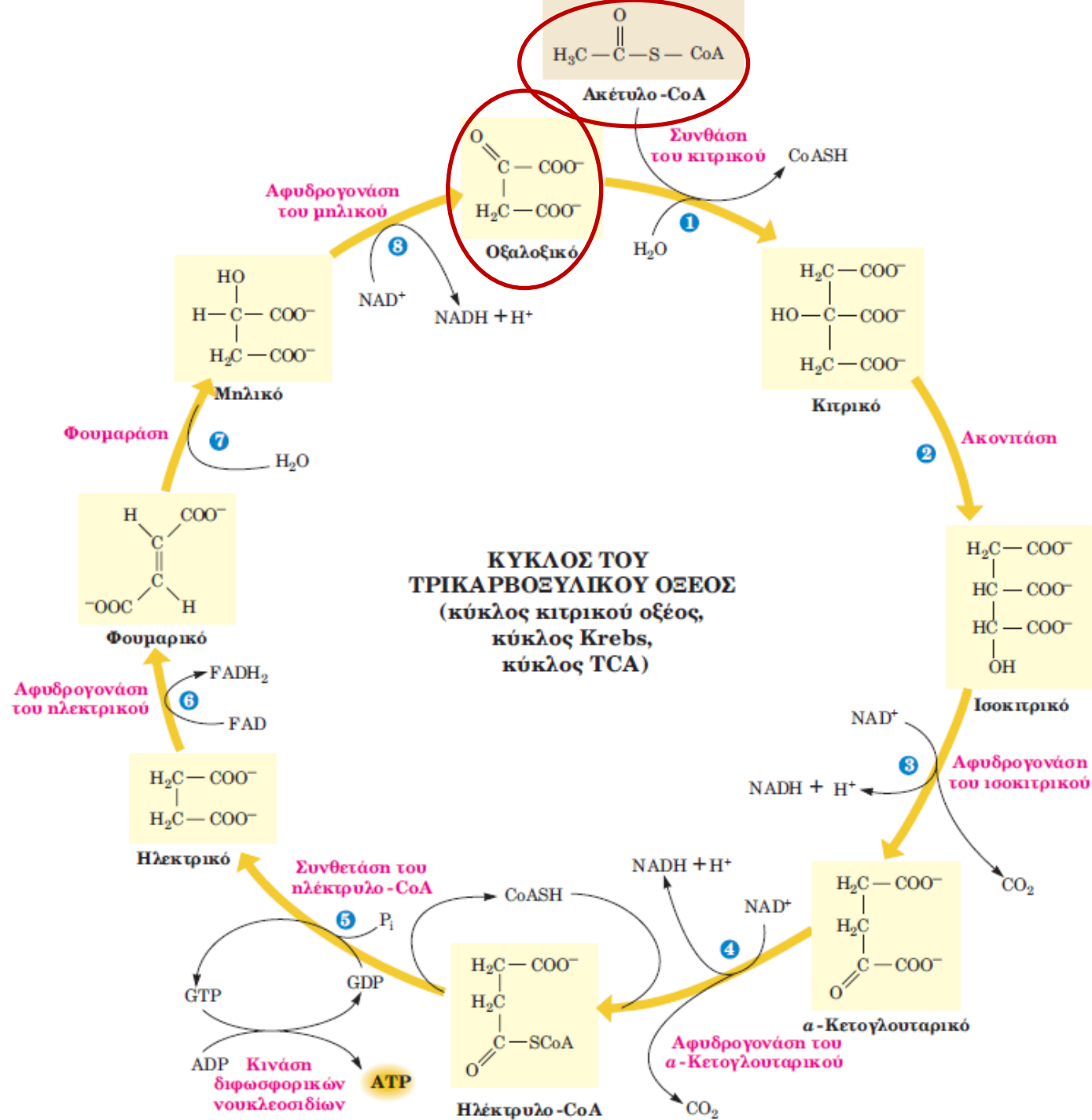
- Η δράση του πολυενζυμικού συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης στα θηλαστικά αναστέλλεται μέσω φωσφορυλίωσης της υπομονάδας E₁ από το ένζυμο κινάση της αφυδρογονάσης του πυροσταφυλικού. Η κινάση αυτή ενεργοποιείται αλλοστερικά από το NADH και το ακετυλοCoA.
- Η επαναενεργοποίηση του ενζύμου επιτυγχάνεται με απομάκρυνση της φωσφορικής ομάδας από μια ειδική φωσφατάση εξαρτώμενη από το Ca²⁺ της οποίας η δράση εξασφαλίζεται όταν τα επίπεδα του NADH και του ακετυλοCoA είναι χαμηλά.
- Επιπλέον, η ινσουλίνη ενεργοποιεί την αποφωσφορυλίωση και το πυροσταφυλικό αναστέλλει την αντίδραση φωσφορυλίωσης.



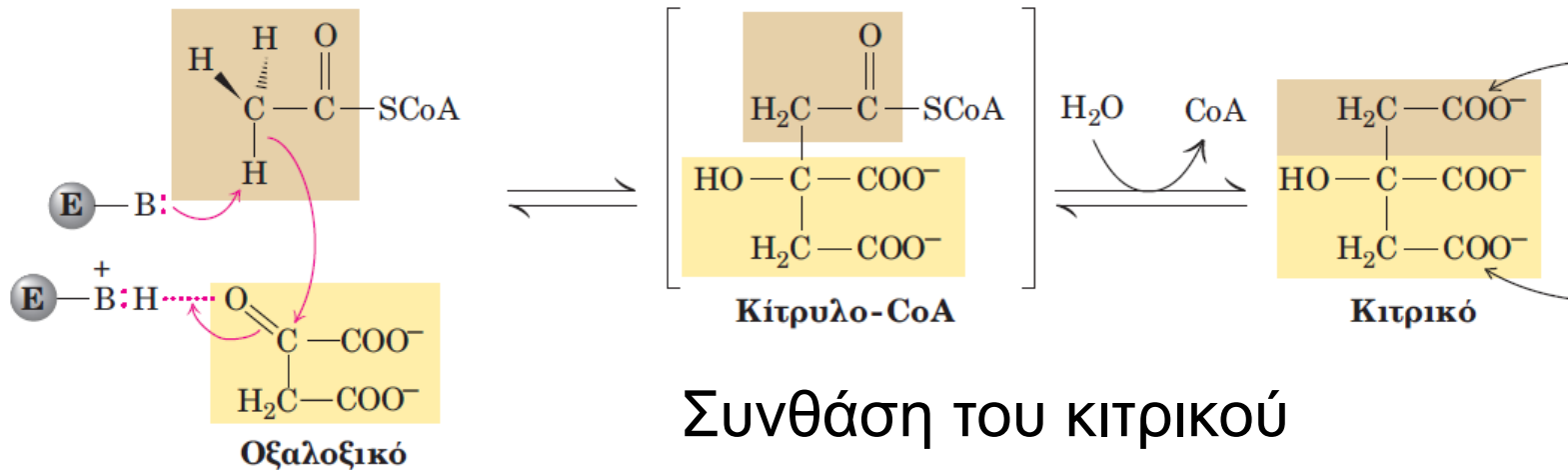


Συνοπτική
παρουσίαση
του κύκλου
του κιτρικού
οξέος.

1. Οξειδώνει μονάδες δύο ατόμων άνθρακα, παράγοντας CO₂, ένα μόριο GTP και ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας στη μορφή του NADH και του FADH₂.
2. Είναι κομβικό μεταβολικό σημείο του κυττάρου, αφού αποτελεί την πύλη εισόδου στον αερόβιο μεταβολισμό οποιουδήποτε μορίου μπορεί να μετασχηματιστεί σε ακετυλομάδες.
3. Παράλληλα αποτελεί πηγή πρόδρομων δομικών μονάδων που απαιτούνται για τη σύνθεση άλλων σημαντικών για το κύτταρο μορίων, όπως αμινοξέα, βάσεις νουκλεοτιδίων, χοληστερόλης, αίμης κ.α.



1. Ο κύκλος αρχίζει με τη συμπύκνωση του οξαλοξικού με το ακετυλο-CoA.



Συνθάση του κιτρικού

Τύπος αντίδρασης:

A. Αλδολική συμπύκνωση

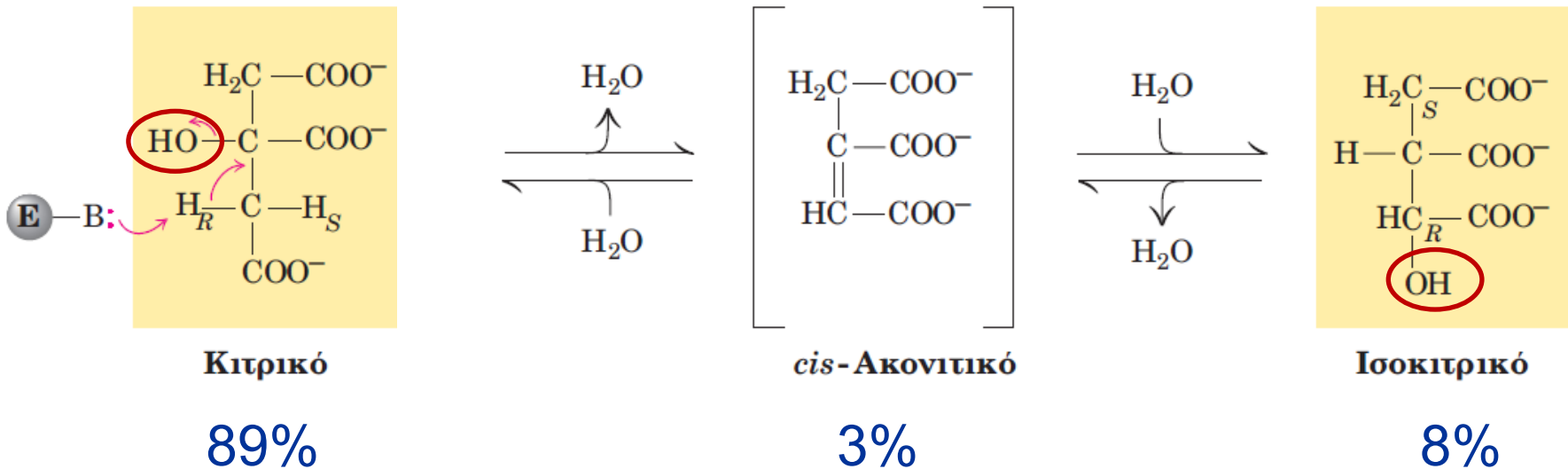
B. Υδρόλυση

Η υδρόλυση του κιτρυλο-CoA, ενός ενδιάμεσου θειεστέρα υψηλής ενέργειας, μετατοπίζει ουσιαστικά την όλη αντίδραση στην κατεύθυνση σύνθεσης του κιτρικού, χωρίς την άμεση συμμετοχή του ATP.

Η ολική ΔG° είναι $-31,4 \text{ kJ/mol}$ και κάτω από πρότυπες συνθήκες, η αντίδραση είναι ουσιαστικά μη αντιστρεπτή.

2. Το κιτρικό ισομερειώνεται σε ισοκιτρικό.

Το κιτρικό θέτει από μόνο του ένα πρόβλημα: Δεν είναι εύκολο να οξειδωθεί γιατί διαθέτει ένα τριτοταγές αλκοολικό υδροξύλιο, το οποίο θα μπορούσε να οξειδωθεί μόνο μετά από διάσπαση δεσμού άνθρακα-άνθρακα. Μια προφανής λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι να ισομερειωθεί η τριτοταγής αλκοόλη σε δευτεροταγή και αυτό ακριβώς συμβαίνει στο δεύτερο βήμα του κύκλου.



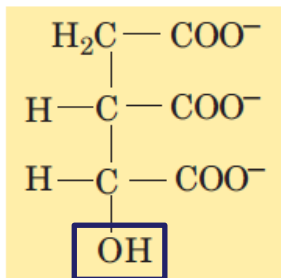
Τύπος αντίδρασης:

A. Αφυδάτωση

B. Ενουδάτωση

Το ένζυμο που καταλύει και τα δύο βήματα της αντίδρασης, ονομάζεται **ακονιτάση**, είναι μια πρωτεΐνη σιδήρου-θείου που παρουσιάζει αυστηρή στερεοεξειδίκευση.

3. Το ισοκιτρικό οξειδώνεται και αποκαρβοξυλιώνεται σε α-κετογλουταρικό σε δύο βήματα.



Τύπος αντίδρασης:

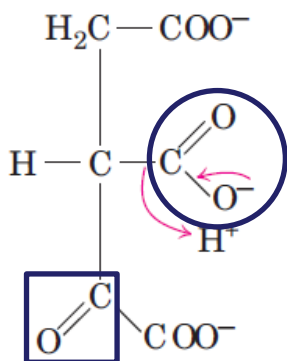
A. Οξείδωση

B. Αποκαρβοξυλίωση

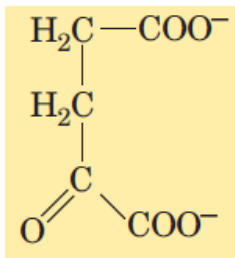
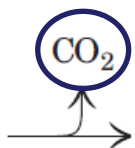
NAD⁺

Αφυδρογονάση
του ισοκιτρικού

NADH
+ H⁺



Οξαλοπλεκτρικό



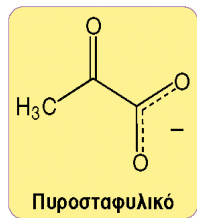
α-Κετογλουταρικό

Το ενδιαμέσο προϊόν της αντίδρασης είναι ένα ασταθές κετοξύ, το οποίο ενώ είναι προσδεμένο στο ένζυμο, χάνει ένα CO₂ για να σχηματιστεί το α-κετογλουταρικό.

Η αντίδραση έχει μια καθαρή ΔG^o στα -8,4 kJ/mol και είναι αρκετά εξεργονική ώστε να ωθήσει την αντίδραση της ακονιτάσης προς τα μπρος.

Η αφυδρογονάση του ισοκιτρικού παρέχει την πρώτη σύνδεση του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και την οξειδωτική φωσφορυλίωση μέσω της παραγωγής NADH.

4. Το ηλέκτρο- CoA σχηματίζεται από μια δεύτερη αντίδραση οξειδωτικής αποκαρβοξυλίωσης.



α-Κετογλουταρικό

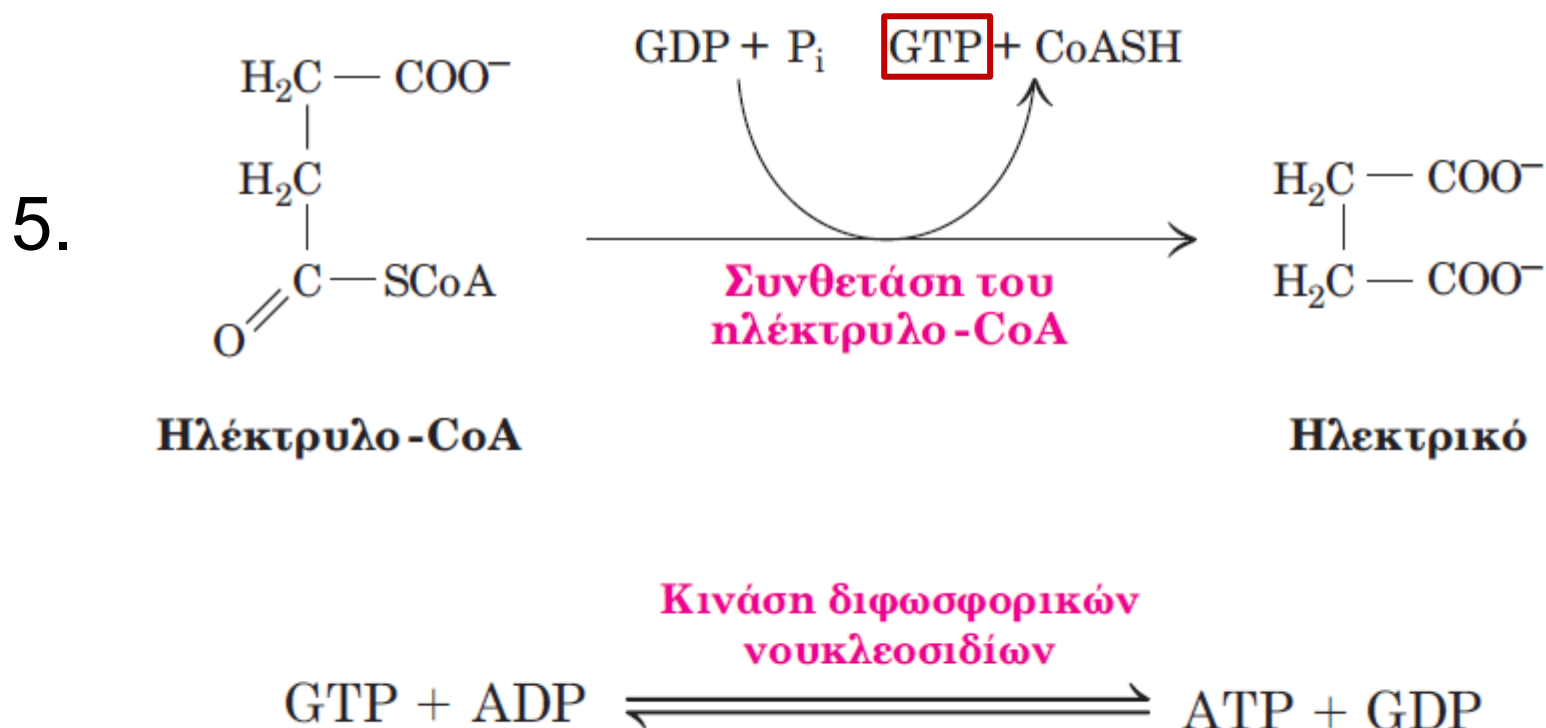
Ηλέκτρο- CoA

Η αντίδραση αυτή μοιάζει πολύ με την οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού, το οποίο επίσης είναι α-κετοξύ και έχει ως επακόλουθο το σχηματισμό ενός θειεστέρα με το CoA , υψηλού δυναμικού μεταφοράς. Καταλύεται από την **αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού**, που είναι ένα πολυενζυμικό σύμπλεγμα που παρουσιάζει υψηλή δομική και καταλυτική αναλογία με αυτό της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης, που χρησιμοποιεί πέντε συνένζυμα.

Το E1 είναι η **αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού**, το E2 η **διυδρολιπτόυλο τρανσηλεκτρούλαση** και το E3 **αφυδρογονάση του διυδρολιπτοναμιδίου**.

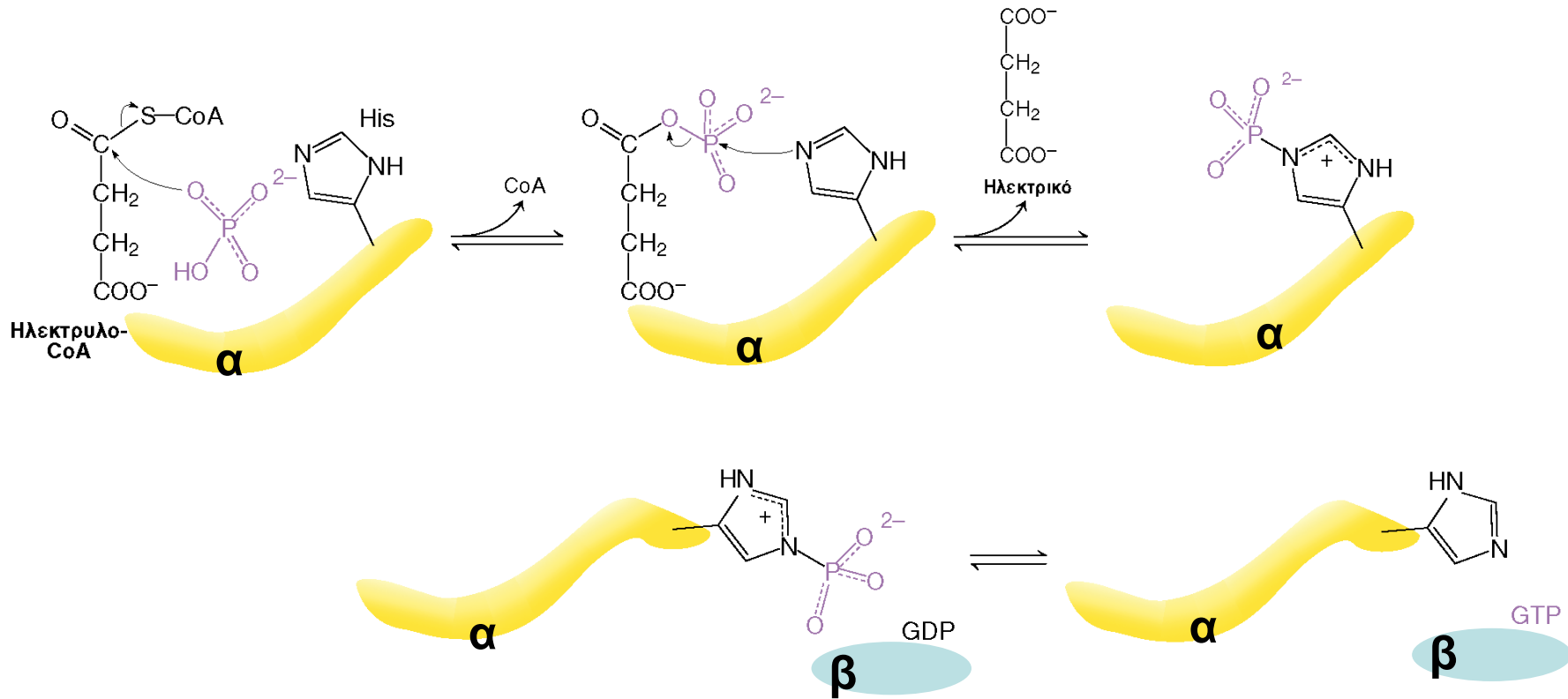
Πώς αναγεννάται το οξαλοξικό για να ολοκληρωθεί ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος;

Η συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA καταλύει μια φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος. Η διάσπαση του θειεστερικού δεσμού υψηλής ενέργειας του ηλεκτρυλο-CoA είναι συζευγμένη με τη φωσφορυλίωση του GDP.



Εάν δεν υπάρχει αρκετό ADP αθροίζεται GTP και κατά συνέπεια ηλεκτρυλο-CoA, το οποίο αναστέλλει τον κύκλο του κιτρικού οξέος.

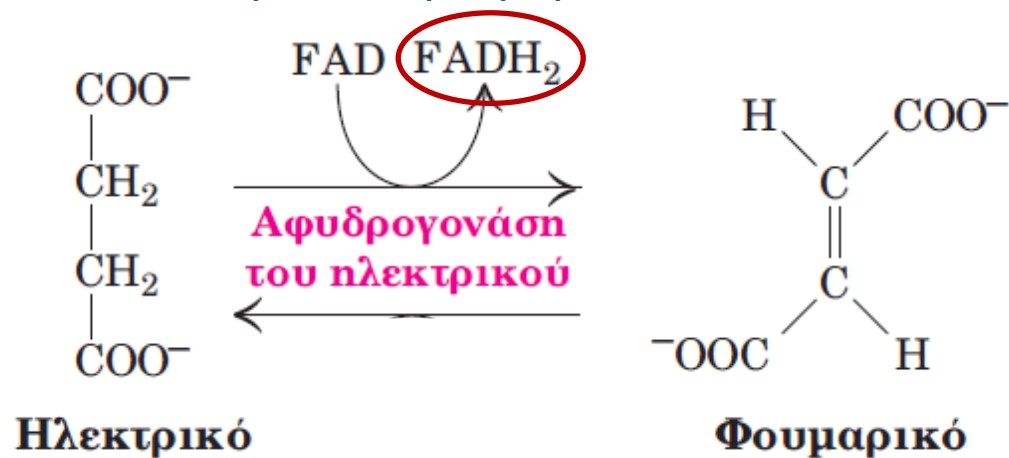
Μηχανισμός της αντίδρασης της συνθετάσης του ηλεκτυλο-CoA.



Ο μηχανισμός της συνθετάσης του ηλεκτυλο-CoA αρχικά περιλαμβάνει την αντικατάσταση του CoA από φωσφορικό, σχηματίζοντας ηλεκτυλοφωσφορικό στο ενεργό κέντρο της α -υπομονάδας του ενζύμου. Στη συνέχεια, η φωσφορική ομάδα μεταφέρεται σε μια ιστιδίνη του ενεργού κέντρου (σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο φωσφοϊστιδίνης) και απελευθερώνεται το ηλεκτρικό. Τέλος, η φωσφορική ομάδα μεταφέρεται στο GDP που είναι προσδεδεμένο στη β -υπομονάδα του ενζύμου για να σχηματιστεί GTP και να αναγεννηθεί η α -υπομονάδα του ενζύμου.

6. Αφυδρογόνωση του ηλεκτρικού.

Περιλαμβάνει την απομάκρυνση ατόμων H από δεσμό C — C και την παραγωγή του trans-ακόρεστου φουμαρικού.

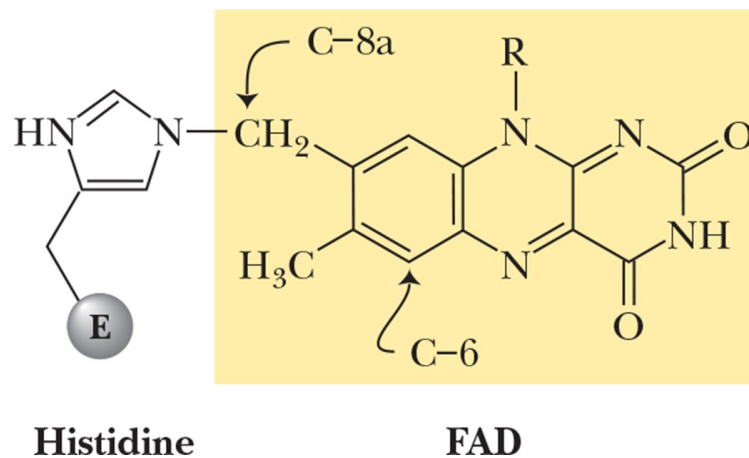


Τύπος αντίδρασης:
Οξείδωση

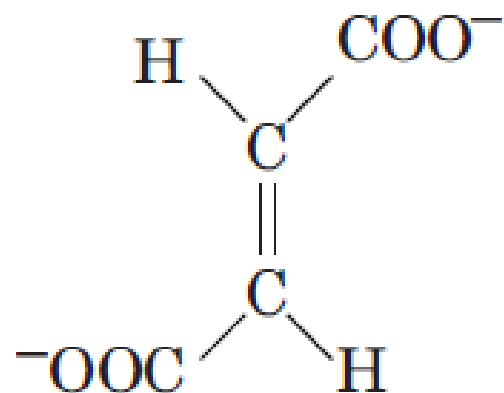
Αυτή η αντίδραση (η οξείδωση ενός αλκανίου σε αλκένιο) δεν είναι αρκετά εξεργονική ώστε να ανάγει το NAD^+ , απελευθερώνει όμως αρκετή ενέργεια ώστε να ανάγει το $[\text{FAD}]$.

Η αφυδρογόνωση του ηλεκτρικού είναι μια διαμεμβρανική διμερής σιδηροπρωτεΐνη στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου (στην πραγματικότητα είναι μέρος της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων).

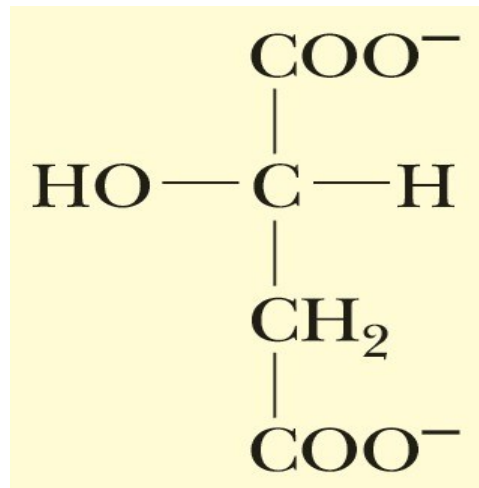
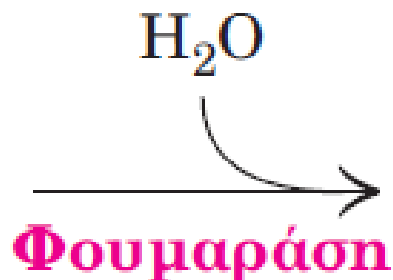
Το FAD είναι συνδεδεμένο ομοιοπολικά στη μεγαλύτερη υπομονάδα της.



7. Μετατροπή του φουμαρικού σε μηλικό.



Φουμαρικό



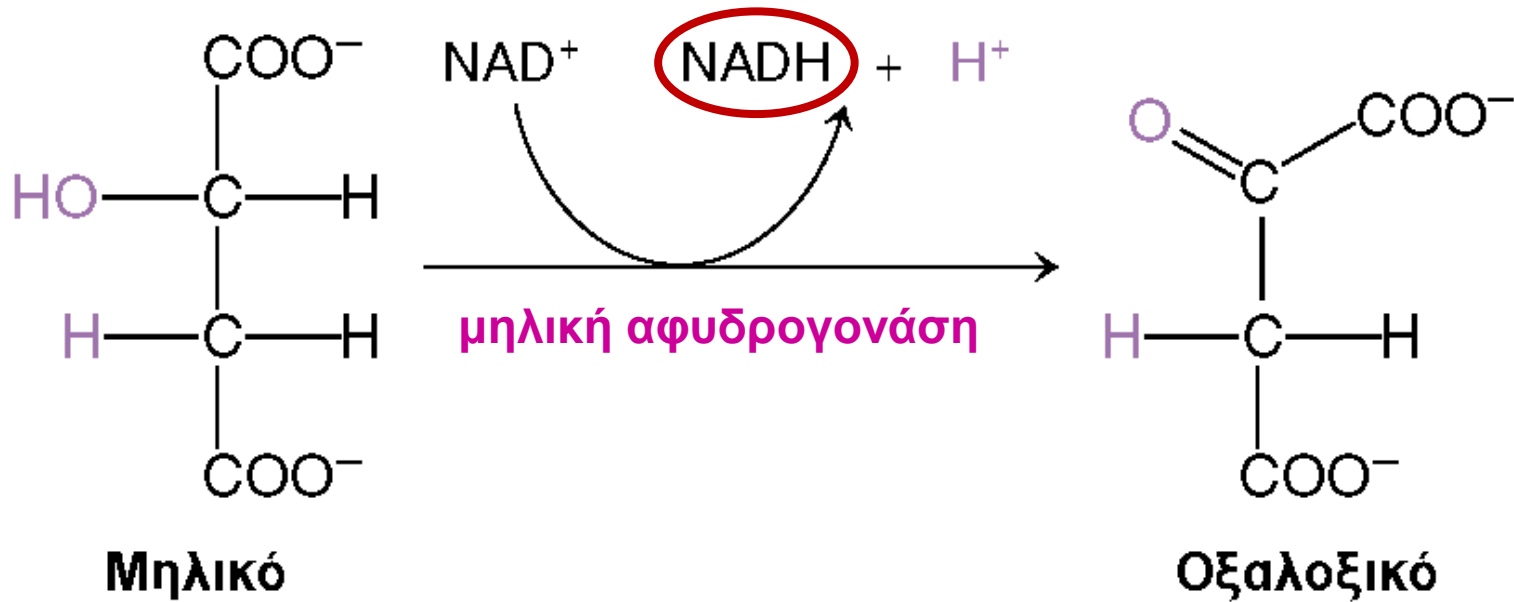
L - Μηλικό

Τύπος αντίδρασης:

A. Ενυδάτωση

Στερεοειδική trans-προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου και μιας υδροξυλομάδας, οπότε σχηματίζεται μόνο το L-μηλικό.

8. Αναγέννηση του οξαλοξικού.



Τύπος αντίδρασης:

A. Οξείδωση

Επισημαίνεται ότι η τιμή πρότυπης ελεύθερης ενέργειας αυτής της αντίδρασης είναι σημαντικά θετική (+30 kJ/mol) και συνεπώς η συγκέντρωση του οξαλοξικού στη μιτοχονδριακή μήτρα είναι πολύ χαμηλή.

Ωστόσο, η αντίδραση προωθείται από την άμμεση αξιοποίηση των προϊόντων της – το οξαλοξικό από την κιτρική συνθάση και το NADH από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Ο κύκλος του κιτρικού οξέος.

ΠΙΝΑΚΑΣ

Τα ένζυμα και οι αντιδράσεις του κύκλου του τρικαρβοκυλικού οξέος

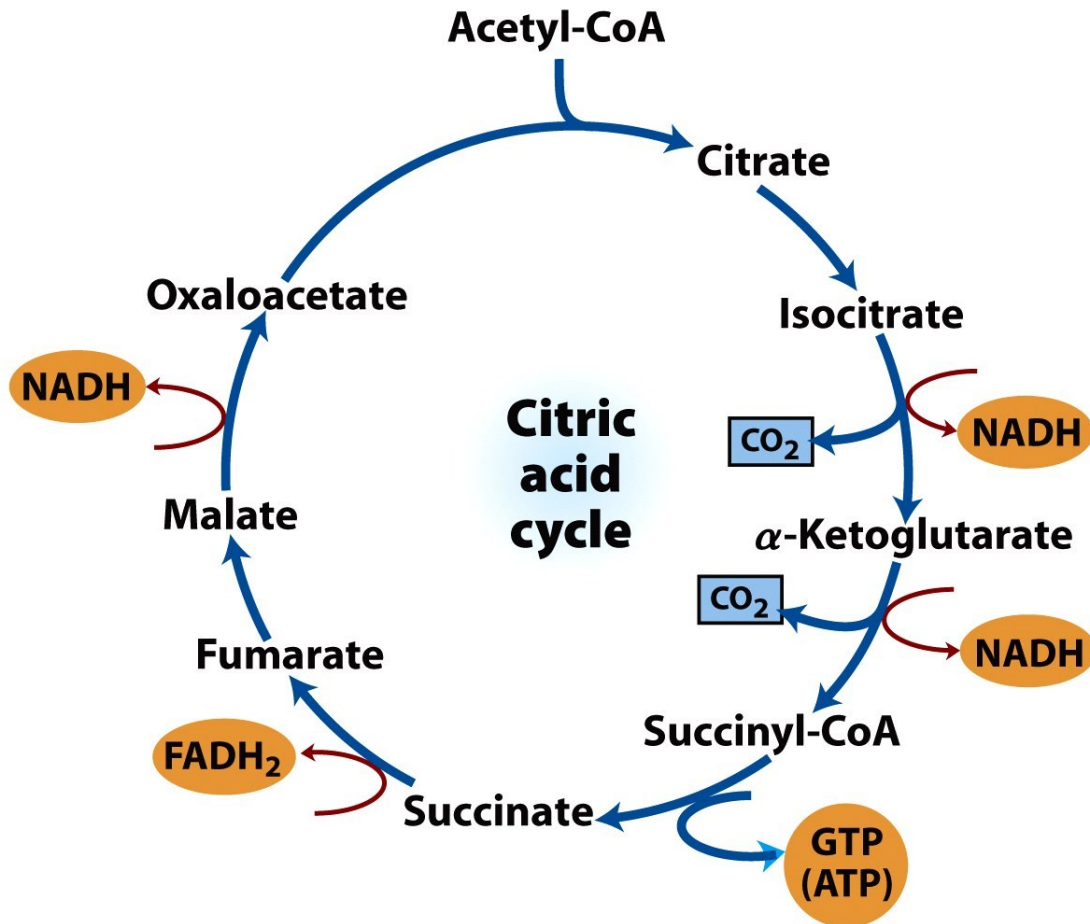
Αντιδράσεις	Ένζυμα	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1. Acetyl-CoA + οξαλοξικό + H ₂ O \rightleftharpoons CoASH + κιτρικό	Συνθάση του κιτρικού	-31.4	-53.9
2. Κιτρικό \rightleftharpoons ισοκιτρικό	Ακονιτάση	+6.7	+0.8
3. Ισοκιτρικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons α-κετογλουταρικό + NADH + CO ₂	Αφυδρογονάση του ισοκιτρικού	-8.4	-17.5
4. α-κετογλουταρικό + CoASH + NAD ⁺ \rightleftharpoons ηλεκτρυλο-CoA + NADH + CO ₂	Σύμπλεγμα αφυδρογονάσης α-κετογλουταρικού	-30	-43.9
5. Ηλεκτρυλο-CoA + GDP + P _i \rightleftharpoons ηλεκτρικό + GTP + CoASH	Συνθετάση ηλεκτρυλο-CoA	-3.3	≈0
6. Ηλεκτρικό + [FAD] \rightleftharpoons φουμαρικό + [FADH ₂]	Αφυδρογονάση ηλεκτρικού	+0.4	≠0
7. Φουμαρικό + H ₂ O \rightleftharpoons L-μηλικό	Φουμαράση	-3.8	≈0
8. L-μηλικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons οξαλοξικό + NADH + H ⁺	Αφυδρογονάση μηλικού	+29.7	≈0

Ανασκόπηση του κύκλου του κιτρικού οξέος

1. Δύο άτομα άνθρακα εισέρχονται στον κύκλο κατά τη συμπύκνωση της ακετυλομάδας με το οξαλοξικό και δύο τον εγκαταλείπουν με τη μορφή CO_2 , κατά τις αντιδράσεις που καταλύονται από την αφυδρογονάση του ισοκιτρικού και την αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού. Τα δύο άτομα άνθρακα που φεύγουν είναι διαφορετικά από εκείνα που μπαίνουν.
2. Τέσσερα ζεύγη ατόμων υδρογόνου αφήνουν τον κύκλο στις τέσσερες οξειδωτικές αντιδράσεις: Δύο μόρια NAD^+ ανάγονται κατά τις οξειδωτικές αποκαρβοξυλιώσεις του ισοκιτρικού και του α-κετογλουταρικού, ένα FAD ανάγεται κατά την οξείδωση του ηλεκτρικού και ένα NAD^+ ανάγεται κατά την οξείδωση του μηλικού.

3. Ένας δεσμός υψηλής ενέργειας (υπό τη μορφή του GTP) δημιουργείται από την φωσφορική διάσπαση του πλούσιου σε ενέργεια θειοεστέρα του ηλέκτρο-υλο-CoA.
4. Δύο μόρια νερού καταναλώνονται : ένα κατά την αντίδραση σύνθεσης του κιτρικού και συγκεκριμένα κατά την υδρόλυση του κιτρώλο-CoA και ένα δεύτερο κατά την ενυδάτωση του φουμαρικού.

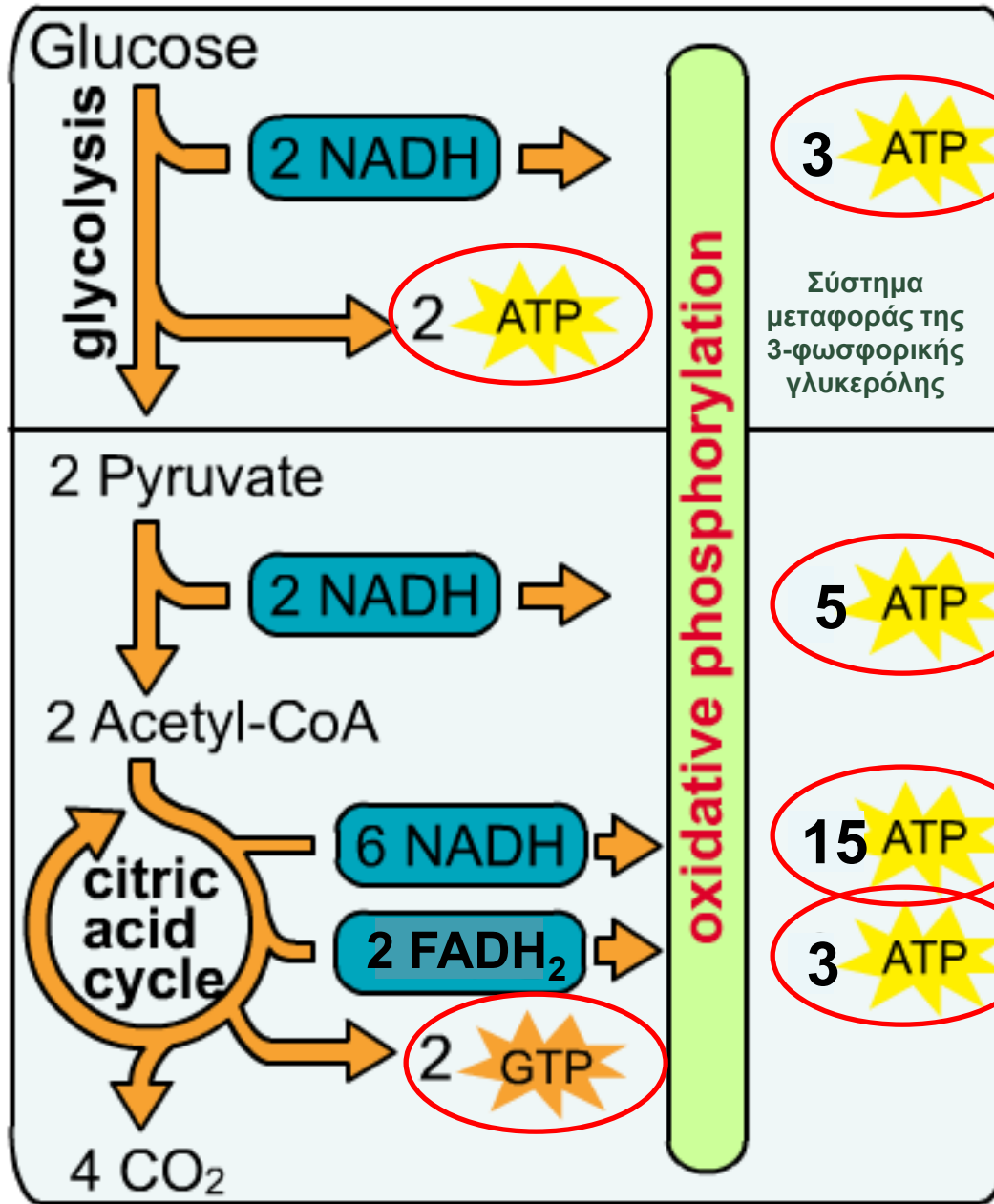
Ενεργειακή απόδοση του κύκλου του κιτρικού οξέος.



3 NADH X 2.5 = 7.5 ATP
1 FADH_2 X 1.5 = 1.5 ATP
1 GTP = 1 ATP
ΣΥΝΟΛΟ 10 ATP

Ενεργειακός υπολογισμός πλήρους οξείδωσης της γλυκόζης

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, τα συνδυασμένα μονοπάτια της γλυκόλυσης, του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος, της μεταφοράς ηλεκτρονίων, και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης αποδίδουν περίπου 30 έως 32 μόρια ATP ανά μόριο γλυκόζης που οξειδώνεται, ανάλογα με την οδό μεταφοράς ηλεκτρονίων που χρησιμοποιείται.



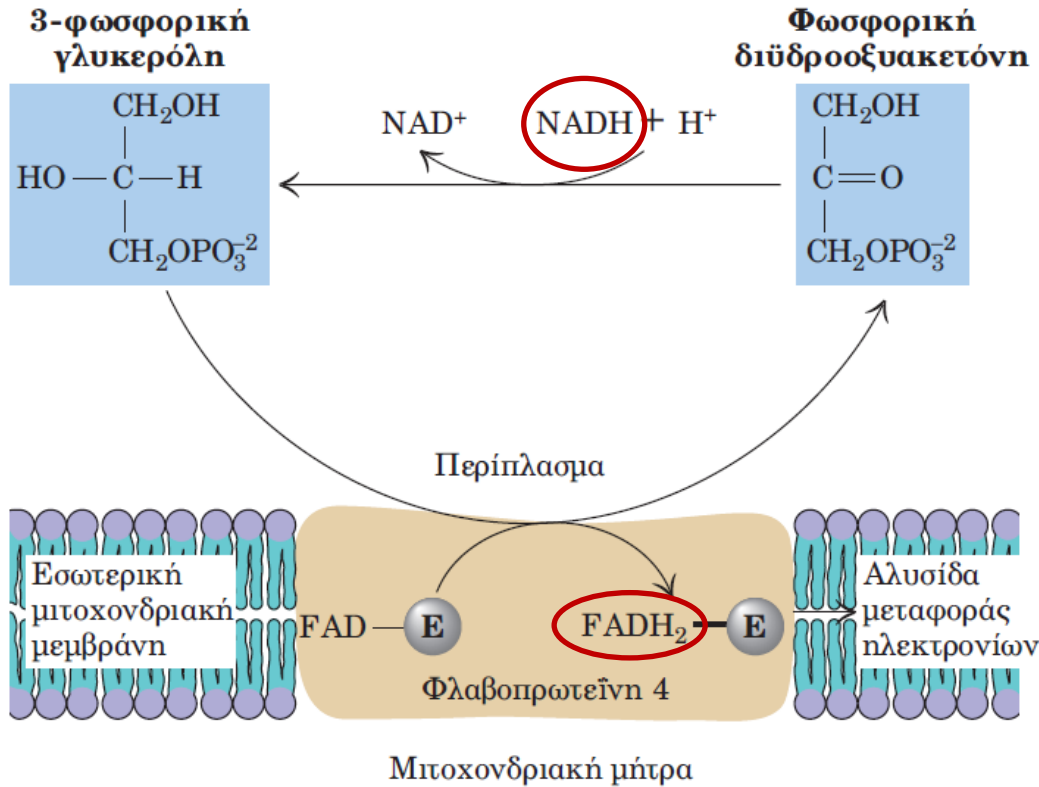
Σύστημα μεταφοράς μηλικού-ασπαρτικού

Aerobic

30 ATP

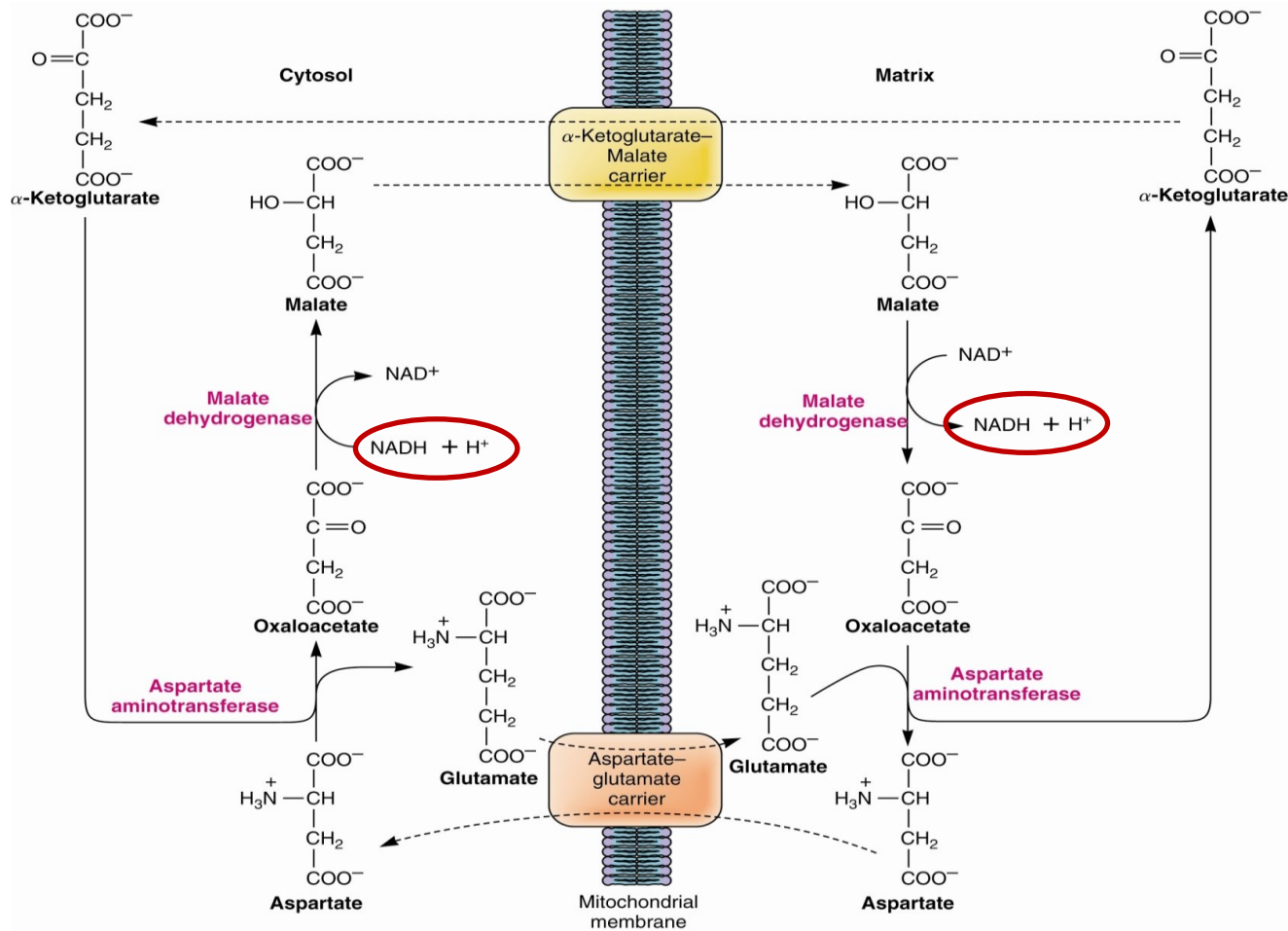
32 ATP

Το σύστημα μεταφοράς του γλυκεροφωσφορικού (επίσης γνωστό ως σύστημα μεταφοράς της 3-φωσφορικής γλυκερόλης).



- Το NADH που παράγεται στο κυτταροδιάλυμα μεταφέρει τα ηλεκτρόνια του στη φωσφορική διϋδροοξυακετόνη, ανάγοντάς την σε 3-φωσφορική γλυκερόλη.
 - Δύο διαφορετικές αφυδρογονάσεις του γλυκεροφωσφορικού, μια στο κυτταρόπλασμα και μια στην εξωτερική πλευρά της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, συνεργάζονται για να μεταφέρουν ηλεκτρόνια στη μιτοχονδριακή μήτρα.
- Ως αποτέλεσμα, το NADH του κυτταροδιαλύματος που οξειδώνεται μέσω αυτής της πορείας μεταφοράς αποδίδει μόνο 1,5 μόρια ATP.
 - Το κύτταρο “πληρώνει” με ένα δυνητικό μόριο ATP για να μπορέσει να εισάγει το NADH του κυτταροδιαλύματος μέσα στα μιτοχόνδρια.
 - Παρότι αυτό μπορεί να φαίνεται σπατάλη, υπάρχει μια σημαντική ανταμοιβή. Η μεταφορά του γλυκεροφωσφορικού είναι ουσιαστικά μη αντιστρεπτή, και συνεπώς ο κύκλος λειτουργεί αποτελεσματικά ακόμη και όταν τα επίπεδα του NADH είναι πολύ χαμηλά σε σχέση με αυτά του NAD⁺.

Το σύστημα μεταφοράς μηλικού-ασπαρτικού



Το οξαλοξικό ανάγεται στο κυτταροδιάλυμα λαμβάνοντας τα ηλεκτρόνια από το NADH (που οξειδώνεται σε NAD^+). Το μηλικό μεταφέρεται διαμέσου της εσωτερικής μεμβράνης στη μήτρα όπου οξειδώνεται και πάλι, μετατρέποντας το NAD^+ σε NADH το οποίο εισέρχεται εύκολα στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Το οξαλοξικό που παράγεται σε αυτή την αντίδραση δεν μπορεί να διαπεράσει την εσωτερική μεμβράνη και χρειάζεται μια αντίδραση τρανσαμίνωσης για να σχηματίσει ασπαρτικό, που μπορεί τότε να μεταφερθεί διαμέσου της μεμβράνης στην πλευρά του κυτταροδιαλύματος. Η τρανσαμίνωση στο κυτταροδιάλυμα ανακυκλώνει το ασπαρτικό πάλι σε οξαλοξικό.

Σε αντίθεση με το σύστημα μεταφοράς της 3-φωσφορικής γλυκερόλης, ο κύκλος μηλικού-ασπαρτικού είναι αντιστρεπτός, και λειτουργεί μόνο όταν ο λόγος $\text{NADH} / \text{NAD}^+$ στο κυτταροδιάλυμα είναι μεγαλύτερος από τον λόγο στη μήτρα.

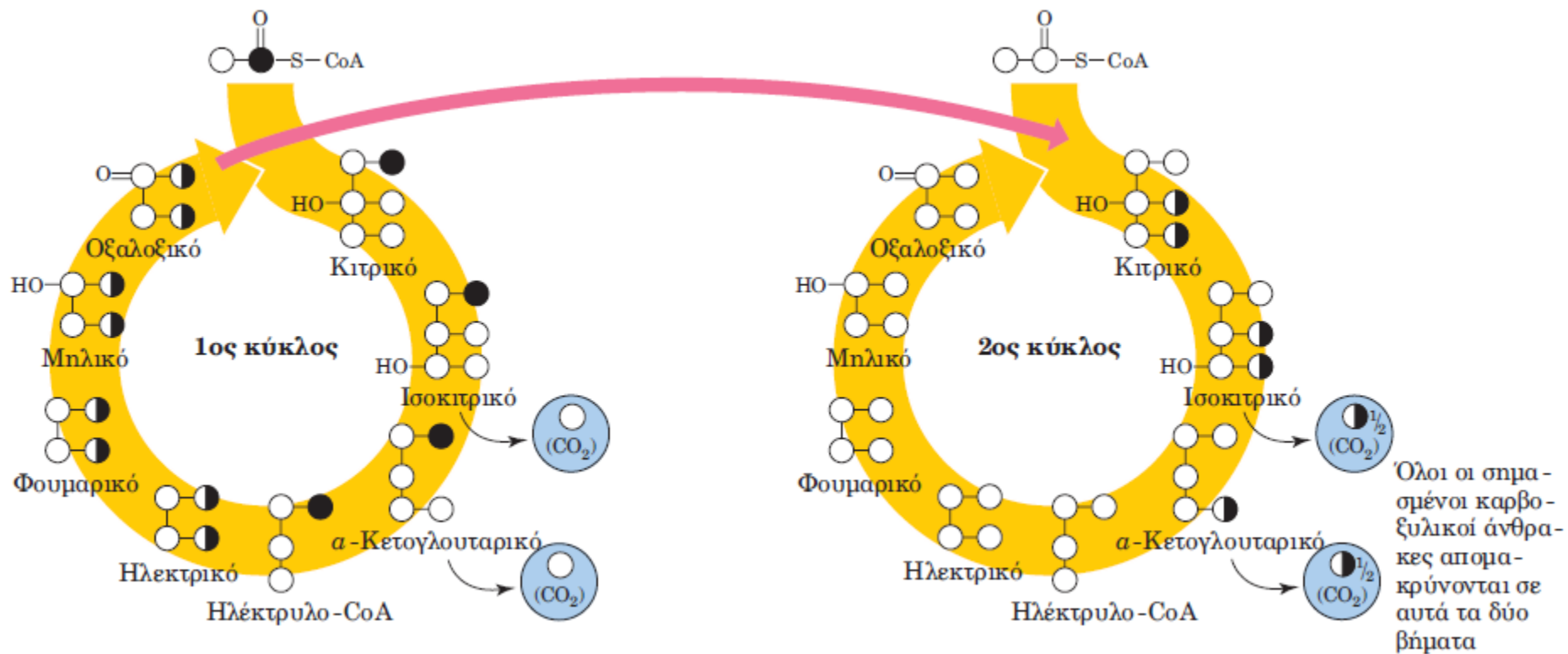
Επειδή αυτός ο μεταφορέας παράγει NADH στη μήτρα, αποδίδεται το σύνολο των 2,5 μορίων ATP ανά NADH .

Ο κύκλος του κιτρικού οξέος λειτουργεί αποκλειστικά κάτω από αερόβιες συνθήκες.

Το μοριακό οξυγόνο δεν συμμετέχει απευθείας στον κύκλο του κιτρικού. Παρ' όλα αυτά, ο κύκλος αυτός λειτουργεί μόνο κάτω από αερόβιες συνθήκες διότι τα ανηγμένα συνένζυμα NADH και $FADH_2$ που σχηματίζονται είναι δυνατό να αναγεννηθούν στο μιτοχόνδριο μόνο με τη μεταφορά των ηλεκτρονίων τους στο μοριακό οξυγόνο.

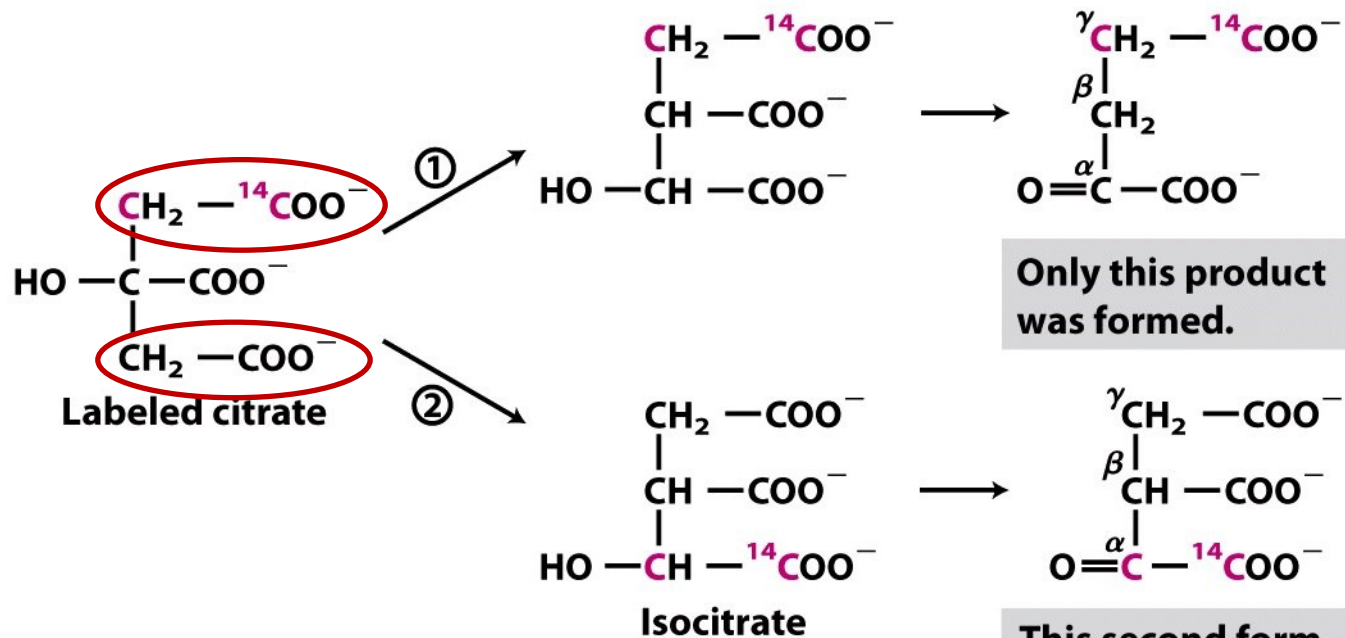
Η γλυκόλυση έχει και αερόβιο και αναερόβιο μηχανισμό λειτουργίας, αφού κάτω από αναερόβιες συνθήκες το NADH αναγεννάται κατά τη μετατροπή του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό οξύ.

Η τύχη των ατόμων άνθρακα του οξικού σε διαδοχικούς κύκλους τρικαρβοξυλικού οξέος.



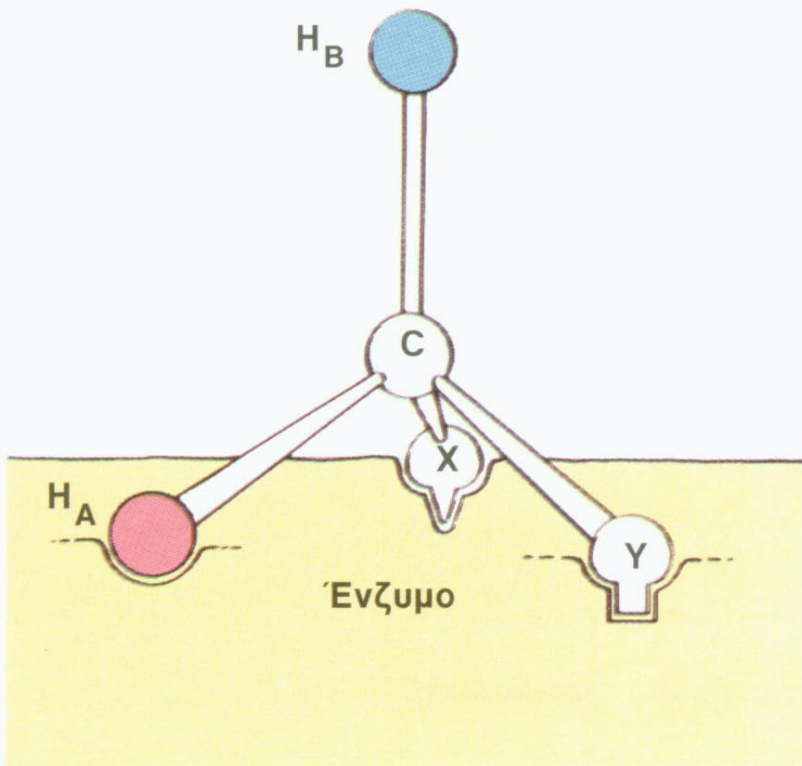
- Ο καρβονυλικός άνθρακας του ακέτυλο-CoA διατηρείται πλήρως κατά τη διάρκεια μιας στροφής του κύκλου,
- αλλά χάνεται κατά τη διάρκεια της επόμενης στροφής.

ΣΥΜΜΕΤΡΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΟΥΝ ΑΣΥΜΜΕΤΡΑ.



Only this product was formed.

This second form of labeled α -ketoglutarate was also expected, but was not formed.



1948
Alexander Ogston

«Ασύμετρα δομημένης
ενζυμικής επιφάνειας»

«...ένα ασύμετρο ένζυμο, το
οποίο επιδρά σε μία συμμετρική
ένωση είναι σε θέση να διακρίνει
μεταξύ δύο πανομοιότυπων
τμημάτων.....»

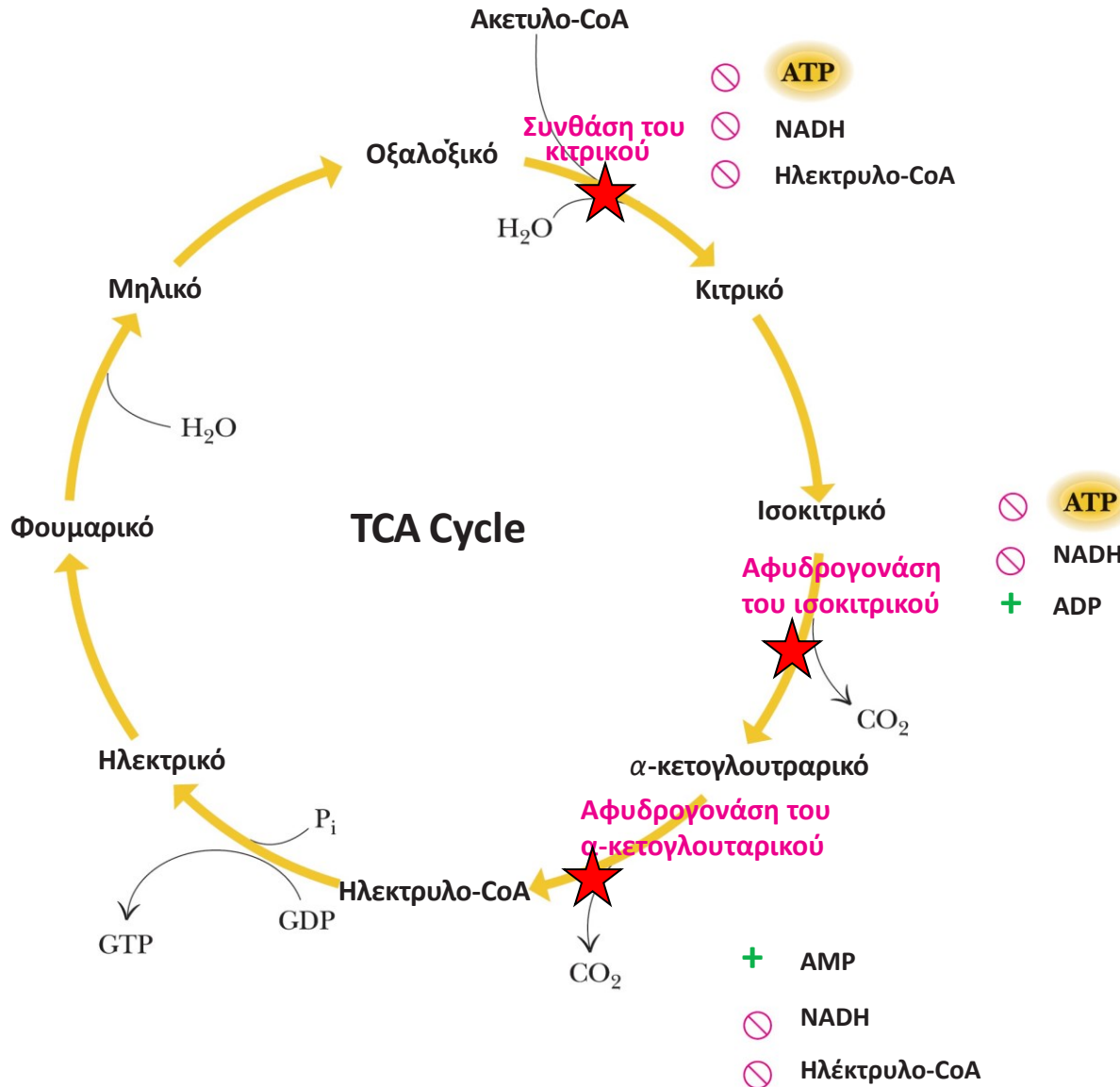
Πώς ρυθμίζεται ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος;

Αν επιτρεπόταν στον κύκλο να λειτουργεί ανεξέλεγκτα, μεγάλα ποσά μεταβολικής ενέργειας θα χάνονταν στην υπερπαραγωγή ανηγμένων συνενζύμων και ATP. Αντίθετα, αν λειτουργούσε πολύ αργά, το ATP δεν θα παραγόταν αρκετά γρήγορα ώστε να ικανοποιεί τις ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου.

ΠΙΝΑΚΑΣ	Τα ένζυμα και οι αντιδράσεις του κύκλου του τρικαρβοκυλικού οξέος		
Αντιδράσεις	Ένζυμα	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1. Acetyl-CoA + οξαλοξικό + H ₂ O \rightleftharpoons CoASH + κιτρικό	Συνθάση του κιτρικού	-31.4	-53.9
2. Κιτρικό \rightleftharpoons ισοκιτρικό	Ακονιτάση	+6.7	+0.8
3. Ισοκιτρικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons α-κετογλουταρικό + NADH + CO ₂	Αφυδρογονάση του ισοκιτρικού	-8.4	-17.5
4. α-κετογλουταρικό + CoASH + NAD ⁺ \rightleftharpoons ηλεκτρυλο-CoA + NADH + CO ₂	Σύμπλεγμα αφυδρογονάσης α-κετογλουταρικού	-30	-43.9
5. Ηλεκτρυλο-CoA + GDP + P _i \rightleftharpoons ηλεκτρικό + GTP + CoASH	Συνθετάση ηλεκτρυλο-CoA	-3.3	≈0
6. Ηλεκτρικό + [FAD] \rightleftharpoons φουμαρικό + [FADH ₂]	Αφυδρογονάση ηλεκτρικού	+0.4	≠0
7. Φουμαρικό + H ₂ O \rightleftharpoons L-μηλικό	Φουμαράση	-3.8	≈0
8. L-μηλικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons οξαλοξικό + NADH + H ⁺	Αφυδρογονάση μηλικού	+29.7	≈0

Οι τρεις αντιδράσεις του κύκλου που καταλύονται από την συνθάση του κιτρικού, την αφυδρογονάση του ισοκιτρικού και την αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού λειτουργούν με μεγάλες αρνητικές τιμές ΔG στις μιτοχονδριακές συνθήκες κι έτσι αποτελούν τα πρωταρχικά σημεία ρύθμισης.

Σημεία ελέγχου του κύκλου του κιτρικού οξέος



Η συνθάση του κιτρικού, η αφυδρογονάση του ισοκιτρικού και η αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού αναστέλλονται από το NADH, συνεπώς όταν το κύτταρο έχει υψηλά επίπεδα NADH που του είναι απαραίτητο για τη σύνθεση ATP, ο κύκλος σταματά.

Για παρόμοιους λόγους, το ATP είναι αναστολέας της συνθάσης του κιτρικού και της αφυδρογονάσης του ισοκιτρικού.

Ο κύκλος επάγεται όταν ο λόγος ADP/ATP είναι υψηλός, ένδειξη ότι το κύτταρο έχει μικρά ενεργειακά αποθέματα.

Εκτός της ρύθμισης του κύκλου από την ενεργειακή κατάσταση του κυττάρου, το ηλεκτρυλο-CoA αποτελεί έναν εσωτερικό ρυθμιστή του κύκλου, αναστέλλοντας τη συνθάση του κιτρικού και την αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού.

Μπορεί ο κύκλος του τρικαρβοξυλικού οξέος να παρέχει ενδιάμεσους μεταβολίτες για βιοσυνθέσεις;

Η σημασία του κύκλου του κιτρικού οξέος δεν εξαντλείται στην παραγωγή του ATP. Ως το μείζον κομβικό μεταβολικό σημείο του κυττάρου, ο κύκλος αυτός αποτελεί σημαντική πηγή προμήθειας ενδιάμεσων ενώσεων που χρησιμοποιούνται σε βιοσυνθετικές αντιδράσεις. Συγκεκριμένα, αποτελεί δεξαμενή υλικών για τη βιοσύνθεση:

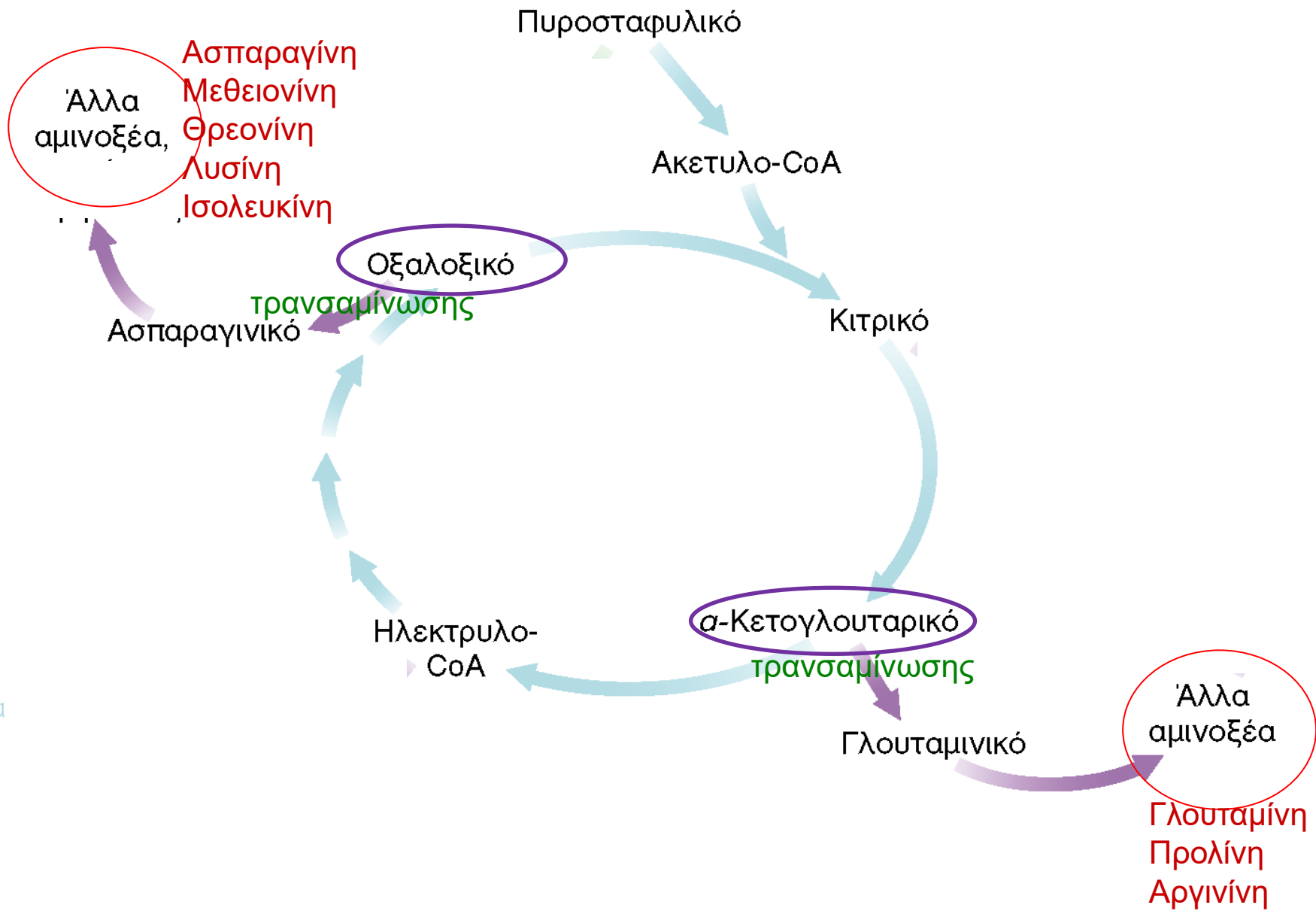
A. αμινοξέων

B. λιπαρών οξέων, στερολών ...

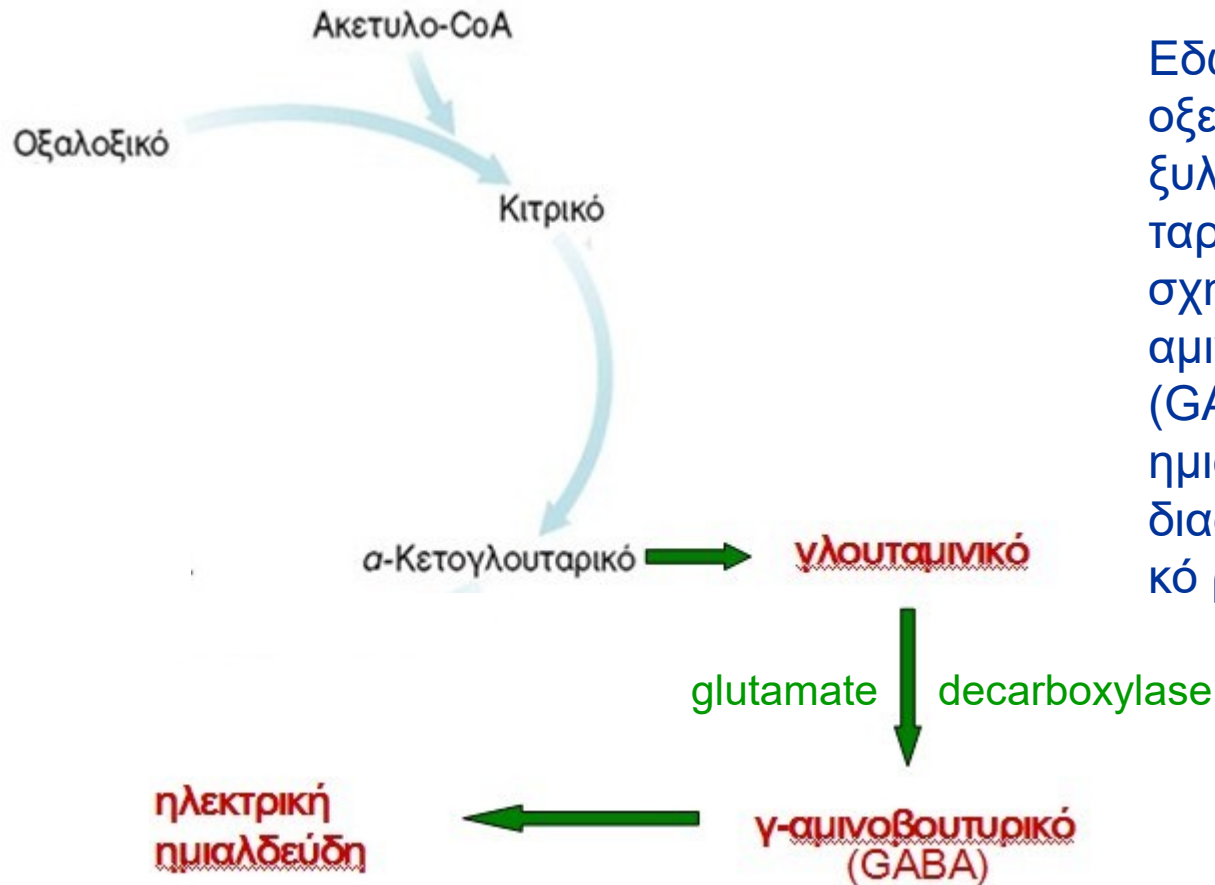
Γ. γλυκόζης,

Δ. πορφυρινών, αίμης, χλωροφύλλης ...

E. πουρινών και πυριμιδινών



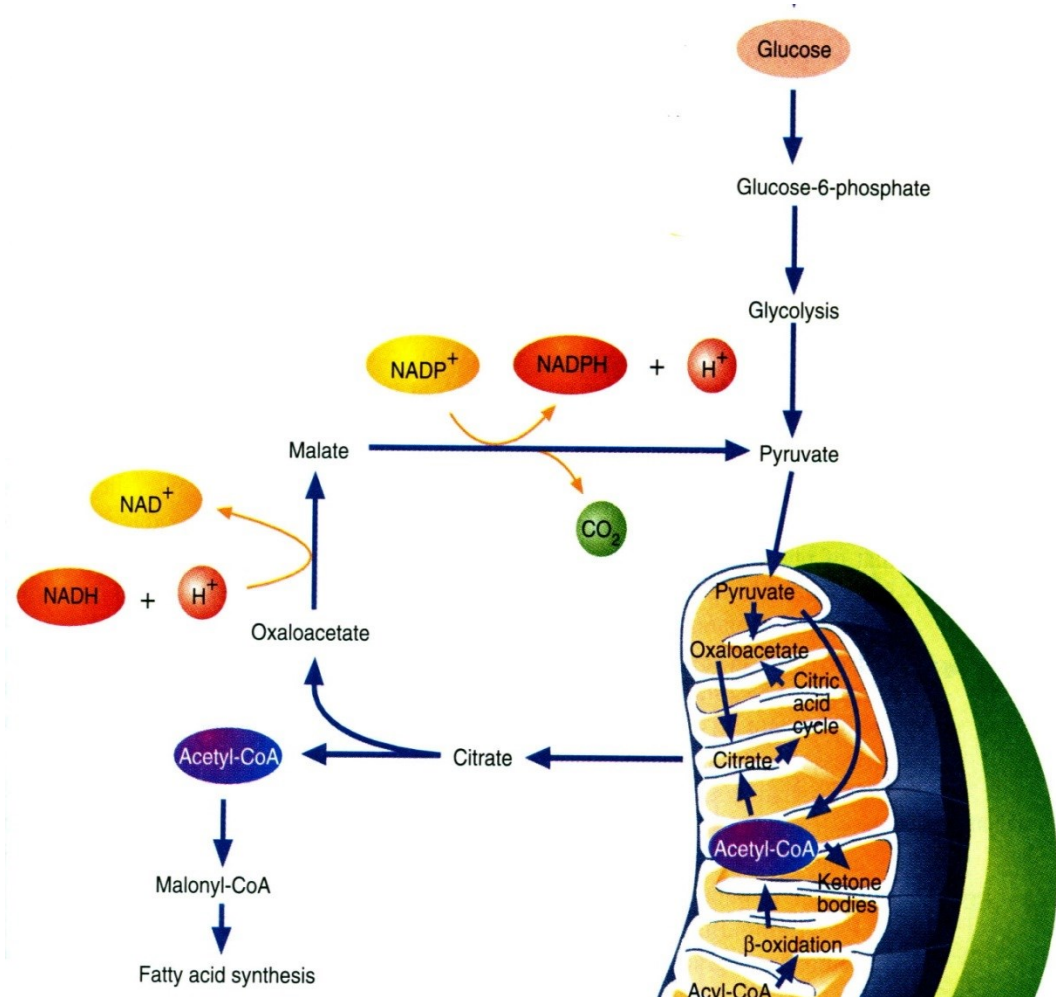
Η τρανσαμίνωση σε γλουταμινικό αποτελεί αντίδραση κλειδί σχετικά με το μεταβολισμό του γ-αμινοβουτυρικού που αποτελεί ιδιομορφία του μεταβολισμού του εγκεφάλου.



Εδώ αποφεύγεται η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του α-κετογλουταρικού, προκειμένου να σχηματιστούν το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και ηλεκτρική ημιαλδεύδη, ουσίες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον εγκέφαλο.



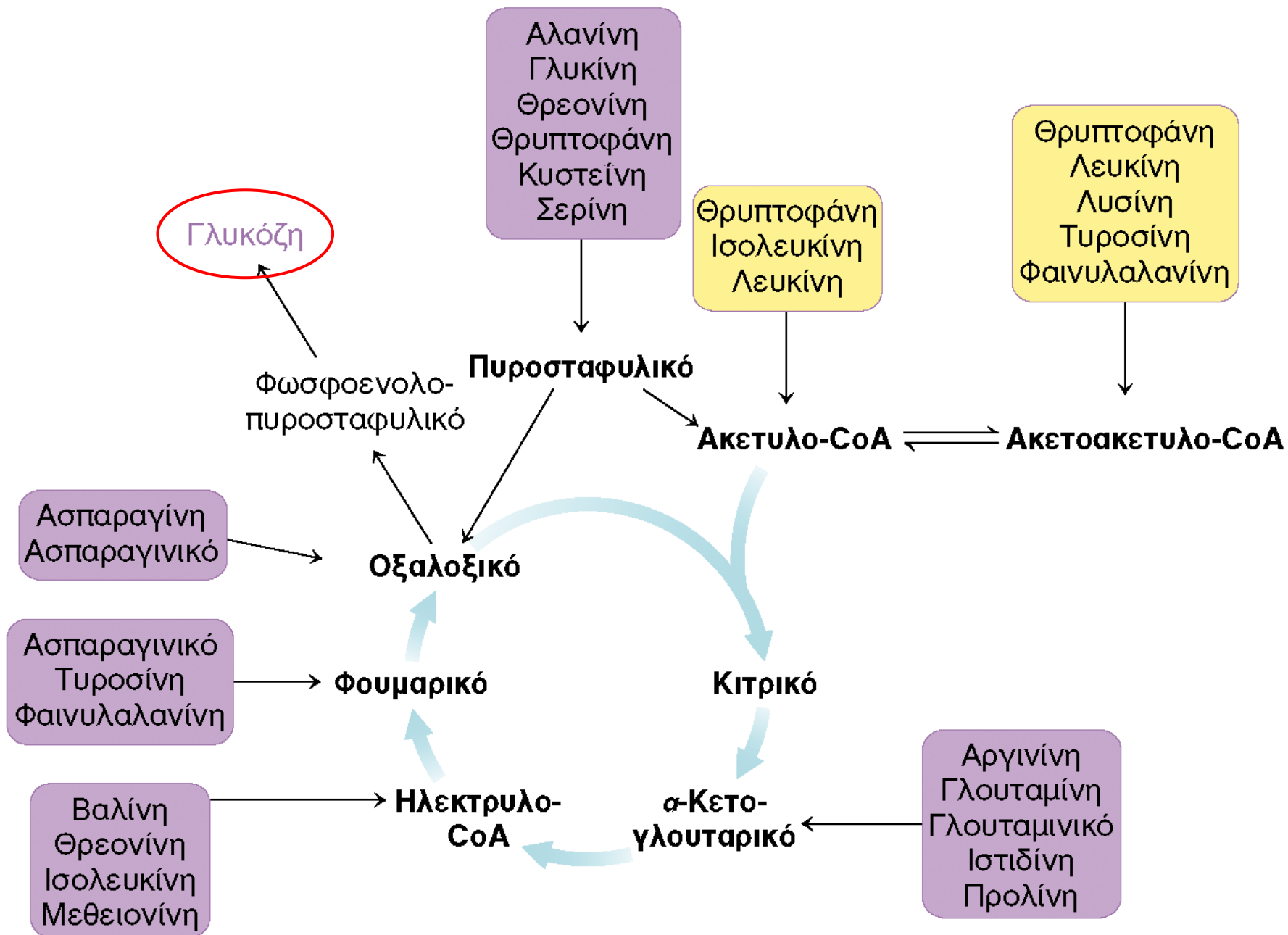
Το ακετυλο-CoA, που σχηματίζεται στο μιτοχόνδριο από τη διάσπαση της περίσσειας των υδατανθράκων εξέρχεται μέσω Κιτρικού στο κυτταρόπλασμα και σηματοδοτεί τη σύνθεση των λιπαρών οξέων.



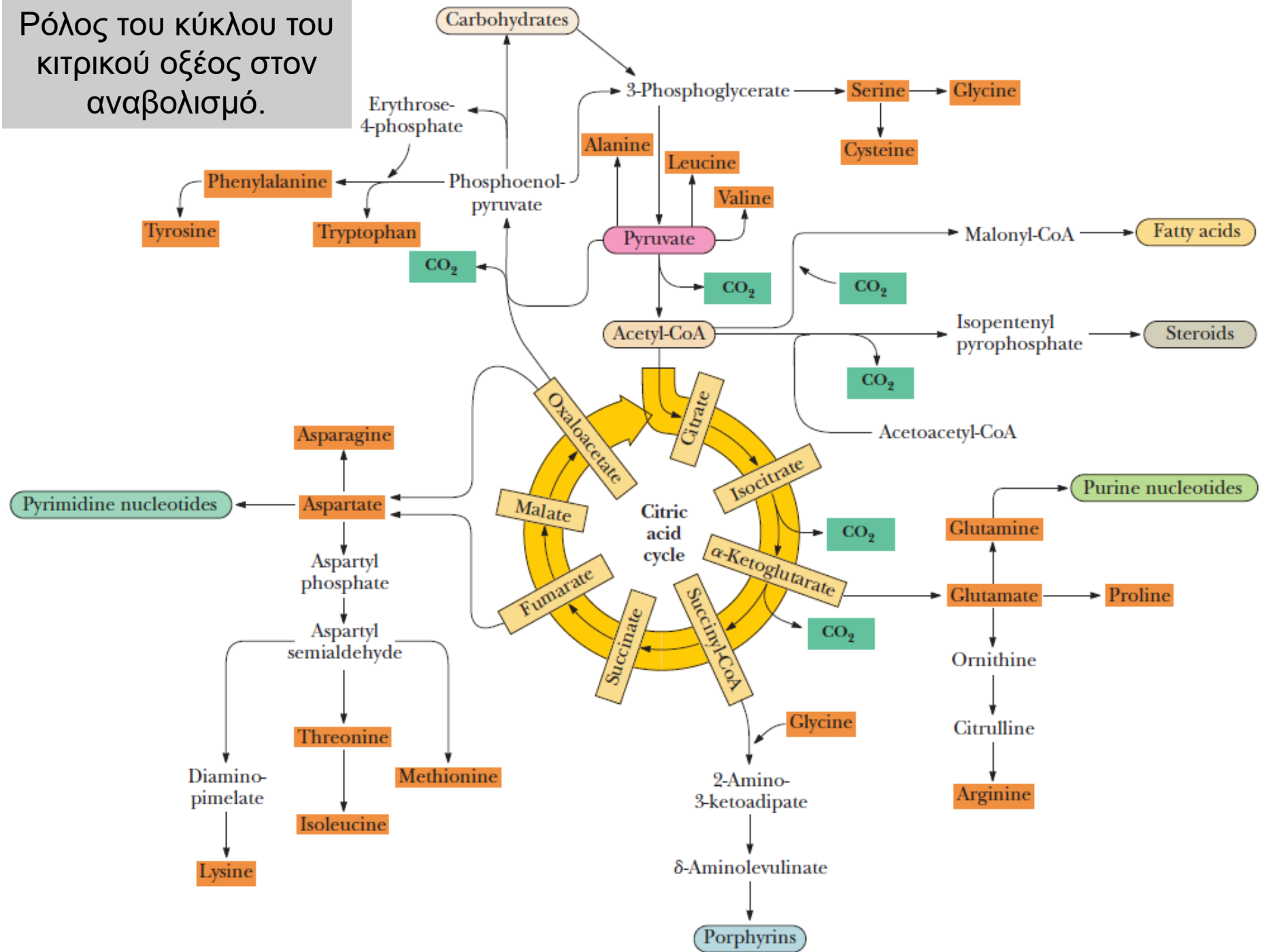
Η σύνθεση της αίμης και της χλωροφύλλης ξεκινά από το ηλεκτρυλο-CoA



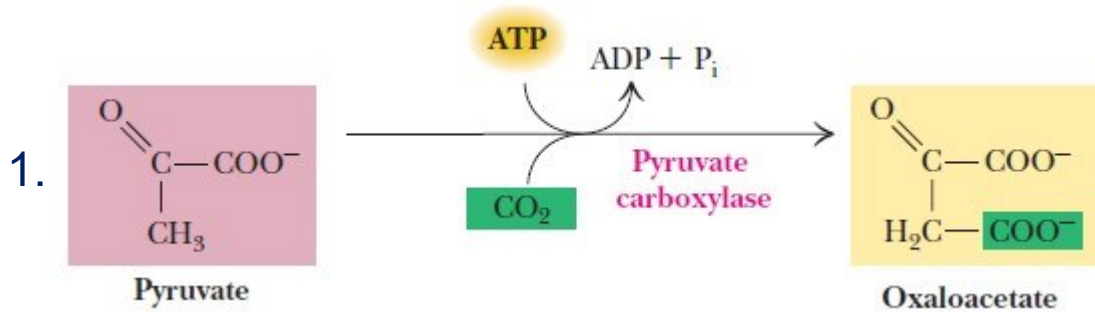




Ρόλος του κύκλου του κιτρικού οξέος στον αναβολισμό.

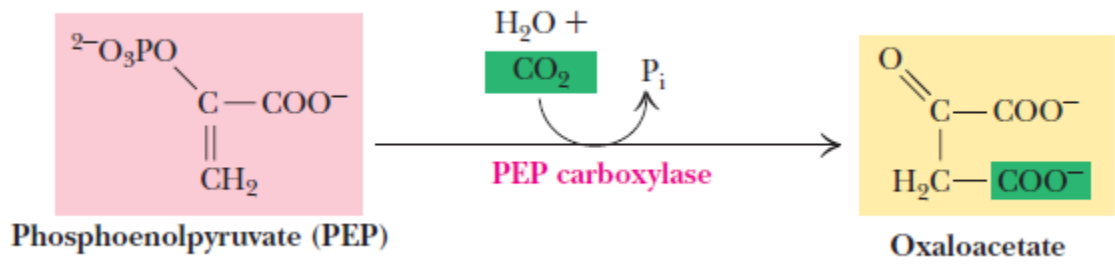


ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ



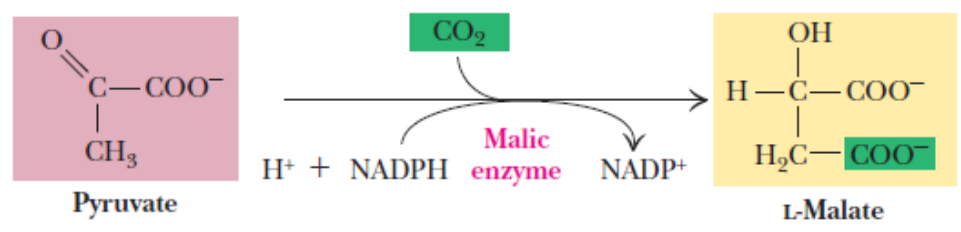
2. Αντιδράσεις αποδομής των αμινοξέων.

3.



Η PEP καρβοξυλάση εκφράζεται σε ζυμομύκητες, βακτήρια και ανώτερα φυτά, αλλά όχι σε ζώα. Το ένζυμο αναστέλλεται ειδικά από το ασπαρτικό, το οποίο παράγεται με τρανσαμίνωση από το οξαλοξικό

4.

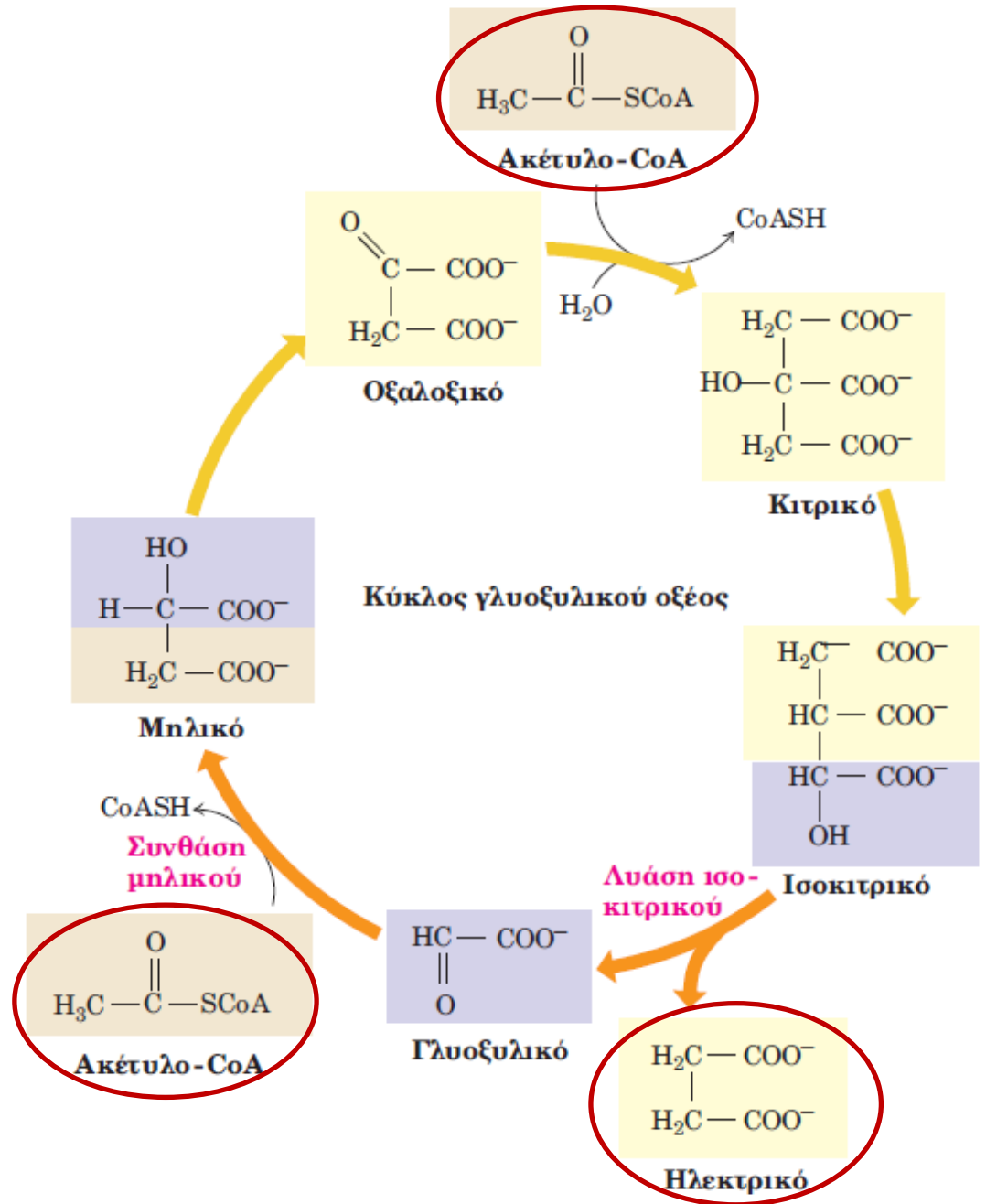


Το μηλικό ένζυμο βρίσκεται στο κυτοσόλιο ή τα μιτοχόνδρια πολλών ζωικών και φυτικών κυττάρων και είναι ένα ένζυμο εξαρτώμενο από NADPH.

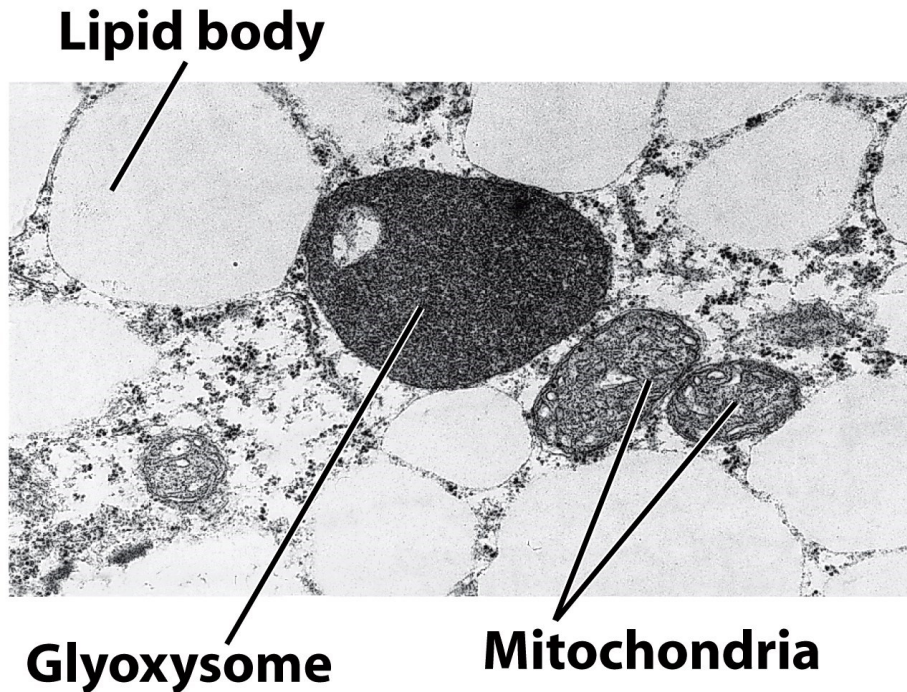
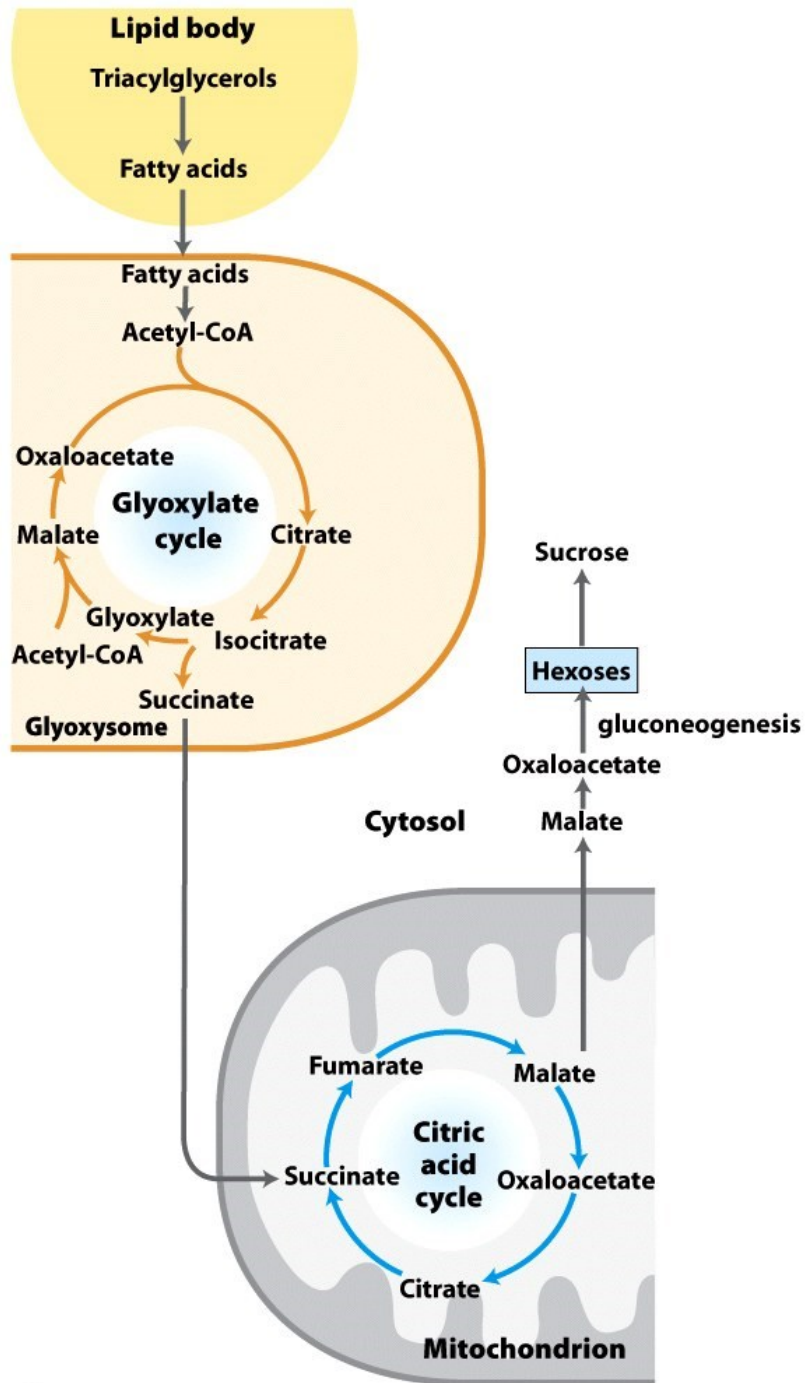
Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΓΛΥΟΞΥΛΙΚΟΥ

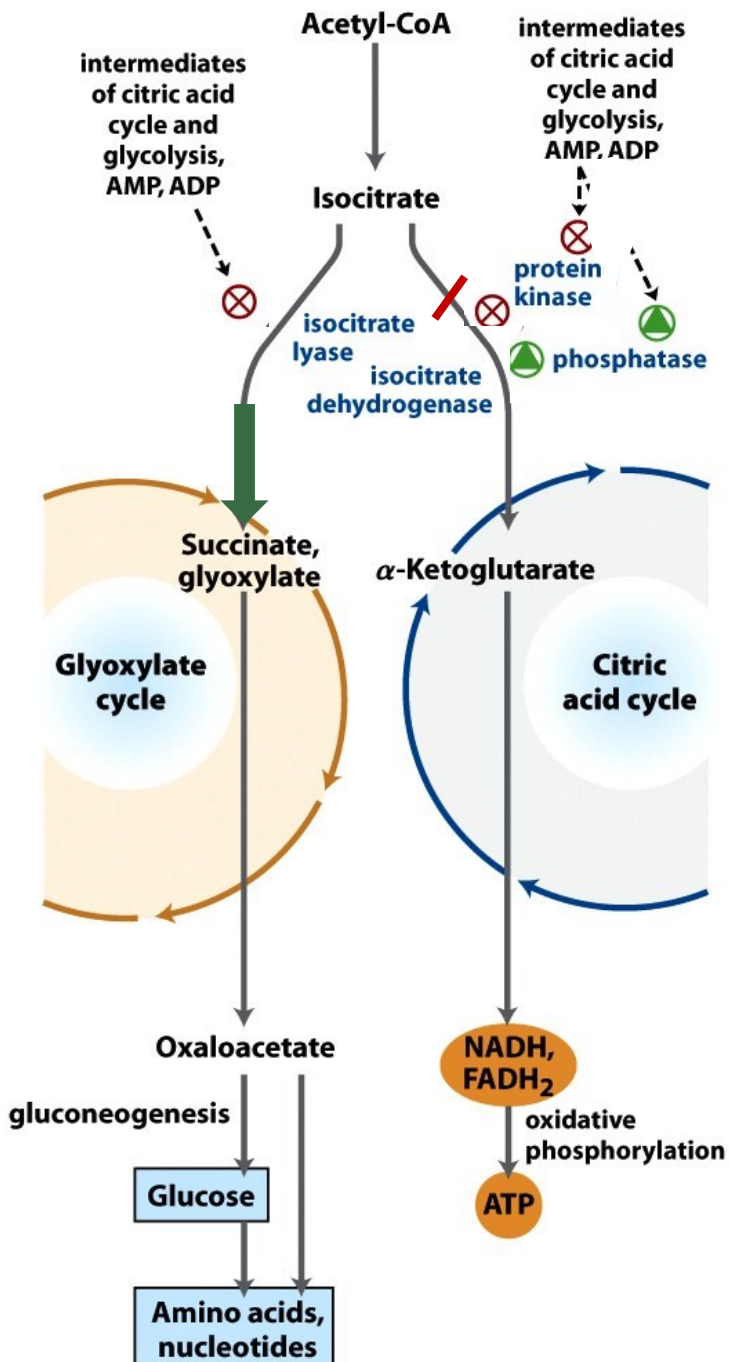
Επιτρέπει στα φυτά και σε πολλά βακτήρια να αναπτύσσονται παρουσία οξικού ή ενώσεων που παράγουν ακετυλο-CoA (π.χ. λιπαρά οξέα) και να πραγματοποιούν γλυκο-νεογένεση από τα καύσιμα αυτά υλικά.

Αυτό κατορθώνεται με την παράκαμψη των δύο βημάτων αποκαρβοξυλίωσης του κύκλου του κιτρικού οξέος, οπότε από δύο μόρια ακετυλο-CoA παράγεται ένα μόριο ηλεκτρικού οξέος.



ΣΧΕΣΗ ΚΥΚΛΟΥ ΓΛΥΟΞΥΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ





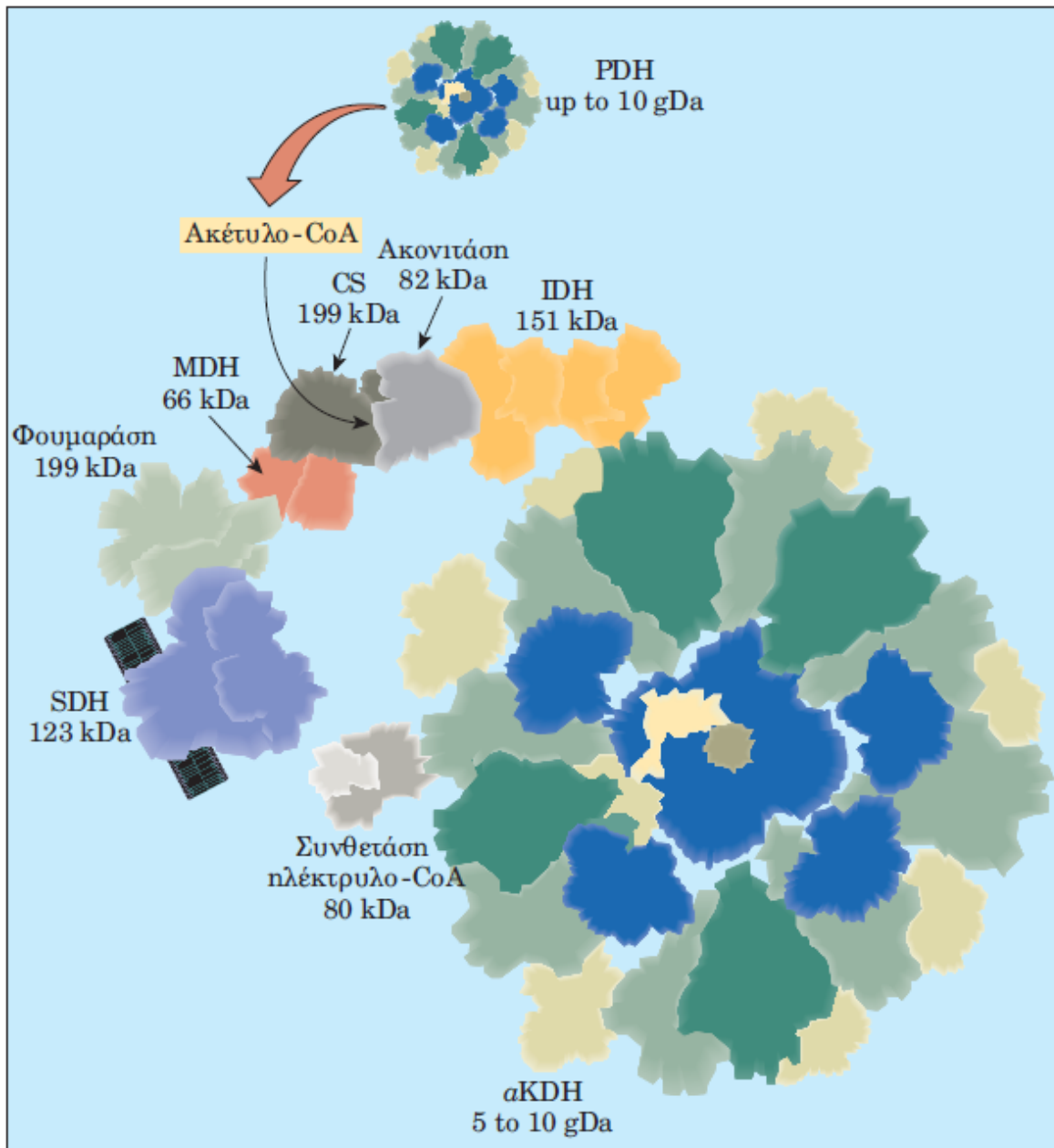
Συντονισμένη ρύθμιση των κύκλων γλυοξυλικού και κιτρικού οξέος στο *E. coli*.

Το ισοκιτρικό είναι ένα κρίσιμο ενδιάμεσο, στο σημείο διακλάδωσης μεταξύ των κύκλων γλυοξυλικού και κιτρικού οξέος. Η ισοκιτρική αφυδρογονάση ρυθμίζεται με ομοιοπολική τροποποίηση μέσω μιας διλειτουργικής πρωτεΐνης με ενεργότητες κινάσης και φωσφατάσης.

Παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ενδιάμεσων του κύκλου του κιτρικού και της γλυκόλυσης, καθώς και σε συνθήκες χαμηλού ενεργειακού φορτίου, η ισοκιτρική λυάση αναστέλλεται αλλοστερικά και η ισοκιτρική αφυδρογονάση ενεργοποιείται με αποφωσφορυλίωση (από μια ειδική φωσφατάση), οπότε το ισοκιτρικό εισέρχεται στον κύκλο του κιτρικού οξέος και παράγεται ATP.

Όταν το ενεργειακό φορτίο είναι υψηλό και οι συγκεντρώσεις των ενδιάμεσων χαμηλές, η ισοκιτρική αφυδρογονάση απενεργοποιείται με φωσφορυλίωση (από μια συγκεκριμένη πρωτεϊνική κινάση), και το ισοκιτρικό κατευθύνεται μέσω του γλυοξυλικού κύκλου προς βιοσύνθεση υδατανθράκων, αμινοξέων και άλλων κυτταρικών συστατικών.

Ο κύκλος του κιτρικού λειτουργεί ως ένα μεταβολόνιο (Metabolon)



Τα ένζυμα του κύκλου του τρικαρβοξυλικού οξέος (Krebs) συνδέονται μεταξύ τους σε ένα μεταβολόνιο (metabolon). Η αυτό-συγκρότηση των ενζύμων αυτών σε ένα **υπερσύμπλοκο** επιτρέπει την άμεση μεταφορά των υποστρωμάτων από το ένα ένζυμο στο άλλο, επιτυγχάνοντας έτσι πολύ υψηλότερες μεταβολικές ροές σε σύγκριση με την περίπτωση κατά την οποία τα ένζυμα θα ήταν διασκορπισμένα στη μιτοχονδριακή μήτρα.

Η εργασία που πρότεινε τον κύκλο του κιτρικού οξέος υποβλήθηκε για δημοσίευση στο περιοδικό *Nature* αλλά απορρίφθηκε. Στη συνέχεια δημοσιεύθηκε στο περιοδικό *Enzymologia*. Ο Dr. H.A. Krebs έδειχνε με υπερφάνεια το γράμμα της απόρριψης σε όλη τη διάρκεια της καριέρας του ως ενθάρρυνση για τους νέους ερευνητές.

“Ιούνιος 1937

Ο εκδότης του *NATURE* εκφράζει τις φιλοφρονήσεις του στον Dr. Krebs και λυπάται διότι, καθώς έχει ήδη αρκετές επιστολές για να καλύψει τις στήλες αλληλογραφίας του *NATURE* για τις επόμενες επτά ή οκτώ εβδομάδες, δεν επιθυμεί να δεχθεί άλλες επιστολές επί του παρόντος, λόγω της καθυστέρησης η οποία θα παρατηρηθεί στη δημοσίευσή τους.

Εάν ο Dr. Krebs δεν έχει πρόβλημα με τη μεγάλη καθυστέρηση, ο εκδότης είναι έτοιμος να φυλάξει το άρθρο έως ότου υπάρξει αποσυμφόρηση, με την ελπίδα να το χρησιμοποιήσει.

Για την ώρα το επιστρέφει, σε περίπτωση που ο Dr. Krebs προτιμά να το υποβάλει για γρήγορη δημοσίευση σε ένα άλλο περιοδικό.”



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1953

"for his discovery of the citric acid cycle"

"for his discovery of co-enzyme A and its importance for intermediary metabolism"



Hans Adolf Krebs

Fritz Albert Lipmann

🏆 1/2 of the prize

🏆 1/2 of the prize

United Kingdom

USA

Sheffield University
Sheffield, United
Kingdom

Harvard Medical School;
Massachusetts General
Hospital
Boston, MA, USA

b. 1900
(in Hildesheim,
Germany)
d. 1981

b. 1899
(in Koenigsberg, then
Germany)
d. 1986

Ποια από τις παρακάτω προτάσεις σχετικά με τον κύκλο του κιτρικού οξέος ΔΕΝ είναι σωστή;

- A. Οξειδώνει μονάδες δύο ατόμων άνθρακα, παράγοντας CO_2
- B. Αποτελεί την πύλη εισόδου στον αερόβιο μεταβολισμό οποιουδήποτε μορίου μπορεί να μετασχηματιστεί σε ακετυλομάδες
- Γ. Αποτελεί πηγή πρόδρομων δομικών μονάδων που απαιτούνται για τη σύνθεση άλλων σημαντικών για το κύτταρο μορίων
- Δ. Παράγει ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας στη μορφή του NADH και του FADH_2
- E. Απαιτεί την κατανάλωση οξαλοξικού οξέος

Σωστή απάντηση το E

Η συνθάση του κιτρικού:

- A. Καταλύει την υδρόλυση ενός ενδιάμεσου θειεστέρα υψηλής ενέργειας
- B. Δεν αναστέλλεται από το ηλεκτρυλο-CoA
- Γ. Καταλύει μια αντίδραση ενός σταδίου
- Δ. Καταλύει μια ουσιαστικά αντιστρεπτή αντίδραση

Σωστή απάντηση το A

Σε ποιο/α μέρος/η του μιτοχονδρίου βρίσκονται τα ένζυμα του κύκλου του κιτρικού οξέος;

- A. Εσωτερική μεμβράνη
- B. Εσωτερική μεμβράνη και διαμεμβρανικός χώρος
- Γ. Μήτρα
- Δ. Μήτρα και εσωτερική μεμβράνη

Σωστή απάντηση το Δ

Ποιος από τους παρακάτω μεταβολίτες **ΔΕΝ** μπορεί να αξιοποιηθεί από το ζωικό κύτταρο για την καθαρή σύνθεση γλυκόζης;

- A. οξαλοξικό οξύ
- B. αλανίνη
- Γ. γλυκερίνη
- Δ. ακέτυλο-CoA

Σωστή απάντηση το Δ

Πόσα μόρια ακετυλο-CoA απαιτούνται για τη σύνθεση ενός μορίου γλυκόζης μέσω του γλυοξυλικού κύκλου και της γλυκονεογένεσης.

A. 12

B. 3

Γ. 6

Δ. 4

Σωστή απάντηση το Δ