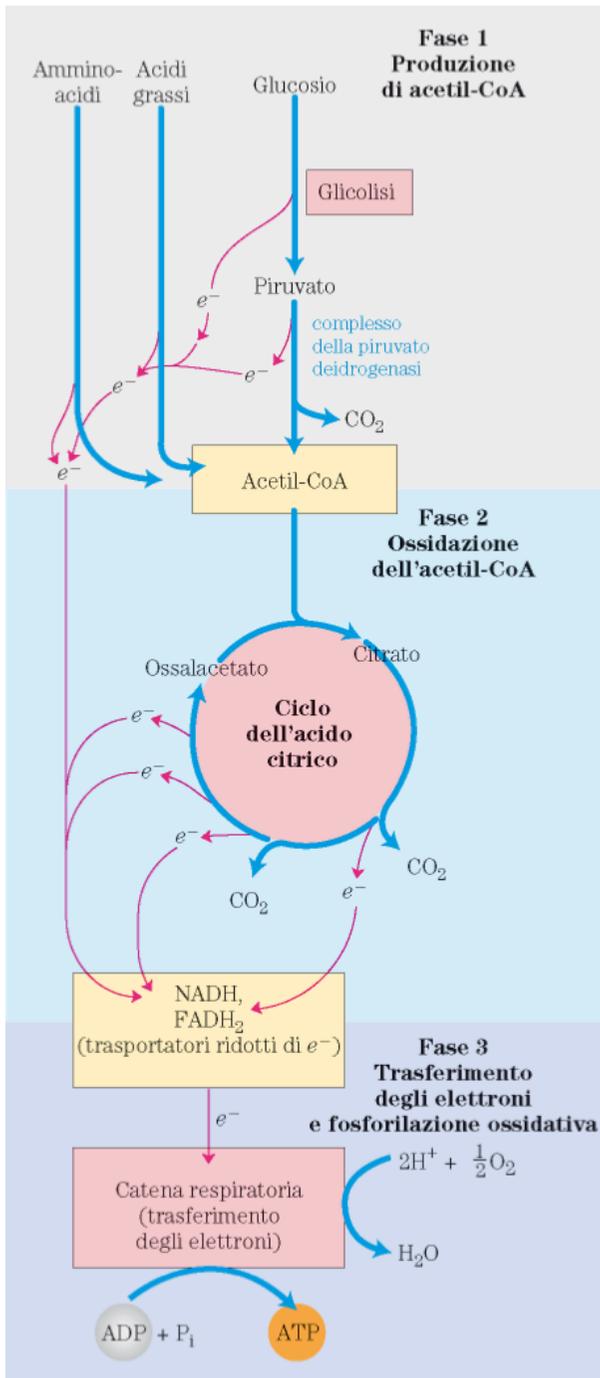


Ciclo di Krebs
Ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA)
Ciclo dell'acido citrico

Ha luogo nella matrice mitocondriale;

consiste nella degradazione ossidativa di unità acetiliche;

collega via di degradazione a vie biosintetiche



Schema generale del metabolismo ossidativo dei substrati metabolici

I gruppi acetilici derivanti dai
carboidrati,
dagli acidi grassi e
dagli amminoacidi (anche altri
intermedi del ciclo)

entrano nel ciclo di Krebs dove sono
ossidati a CO_2 .

Il destino aerobico del piruvato

Il piruvato, in condizioni aerobiche viene ossidato ad anidride carbonica ed acqua con produzione di una grande quantità di composti ad alto contenuto energetico.

- La prima tappa è rappresentata dalla sintesi di acetil-CoA, un processo che avviene in cinque reazioni.
- La reazione globale viene catalizzata dal complesso multienzimatico della piruvato deidrogenasi, costituito da tre diversi enzimi e cinque diversi cofattori.

Enzima

- **Piruvato deidrogenasi (E1)**
- **Diidrolipoil transacetilasi (E2)**
- **Diidrolipoil deidrogenasi (E3)**

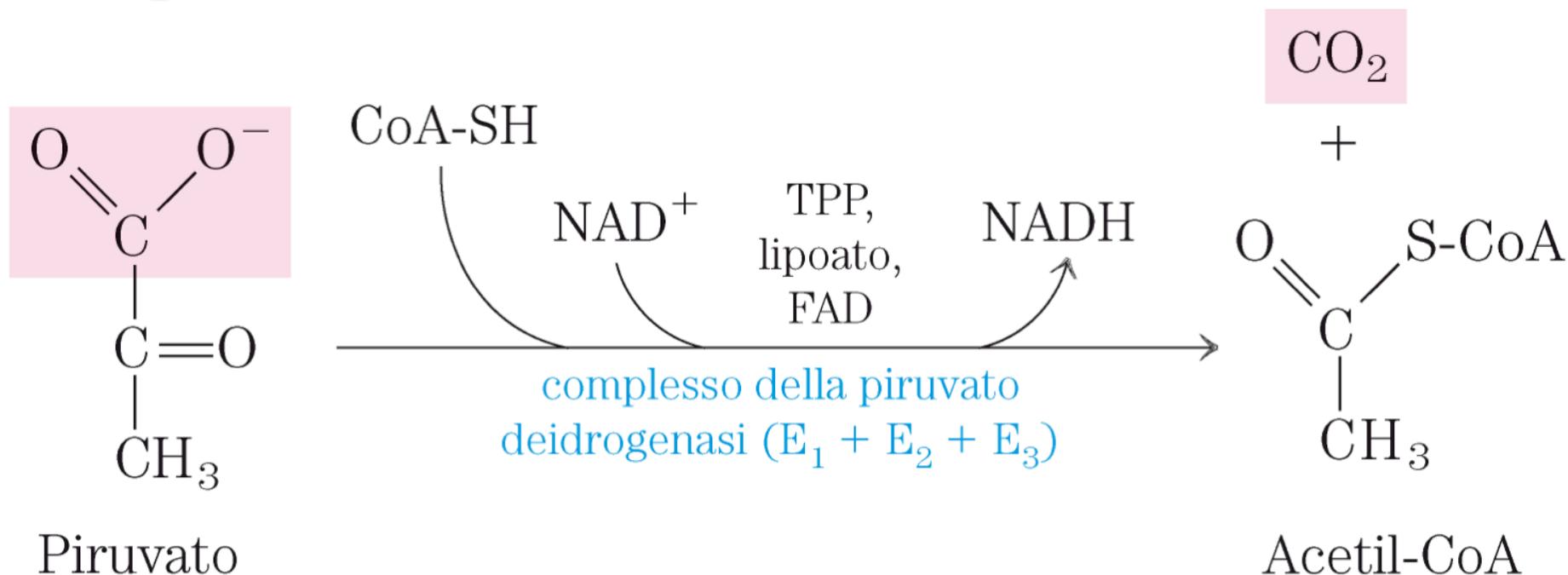
Coenzima

- **Tiamina pirofosfato (TPP)**
- **Lipoammide**
- **Coenzima A**
- **FAD**
- **NAD⁺**



Produzione di acetil-CoA da piruvato: il complesso della piruvato deidrogenasi

Il piruvato viene ossidato ad Acetil-CoA e CO₂



$$\Delta G'^{\circ} = -33,4 \text{ kJ/mole}$$

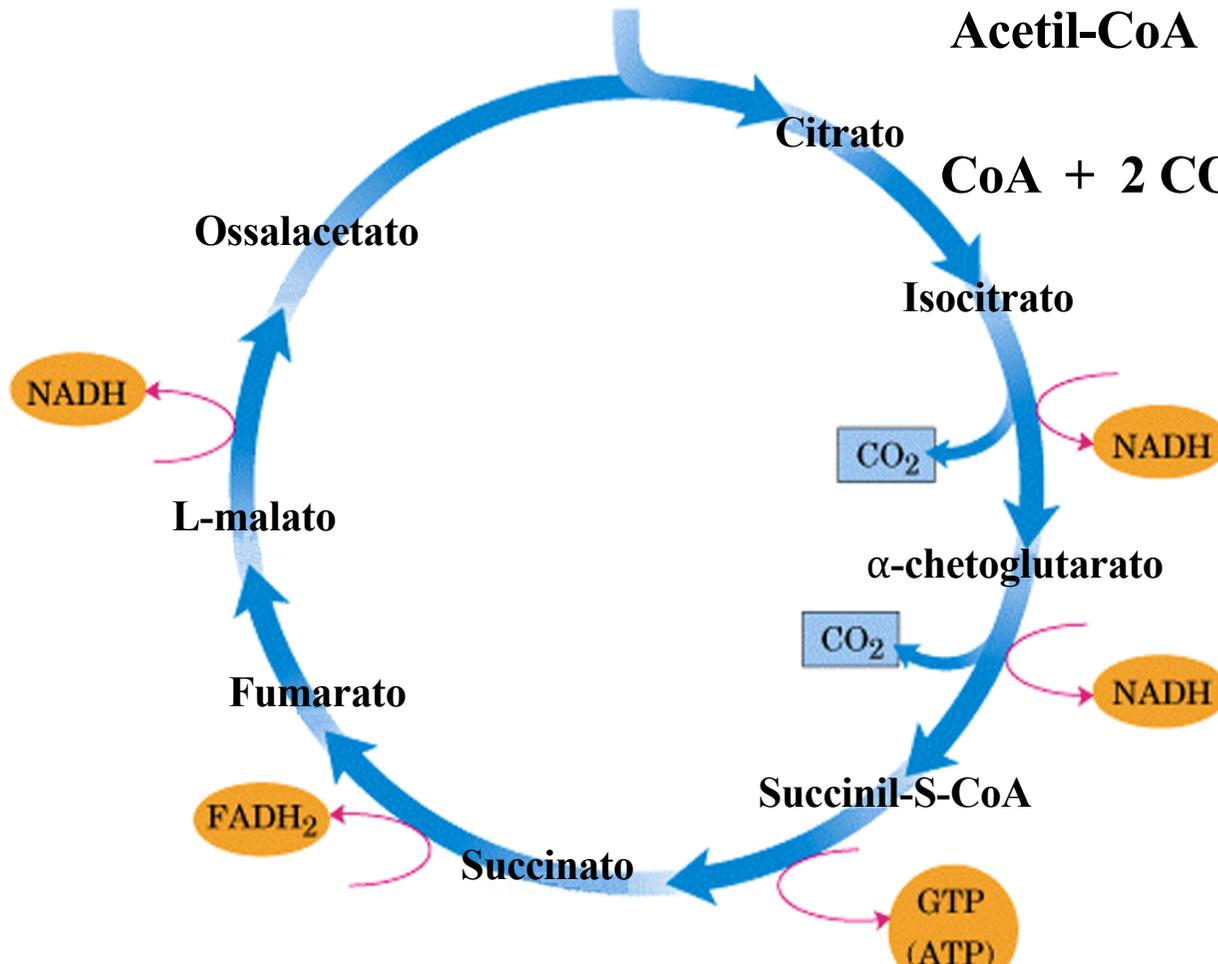
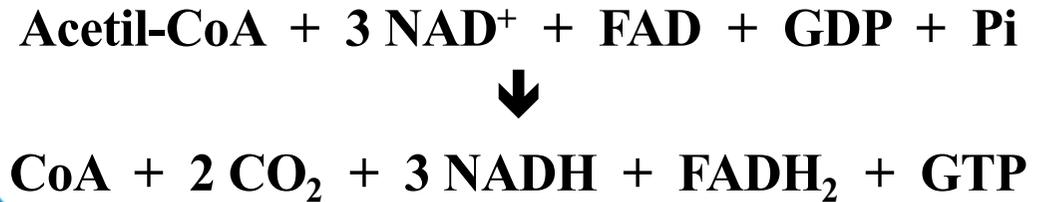
Reazione di decarbossilazione ossidativa catalizzata dall'azione sequenziale di 3 enzimi diversi e 5 diversi gruppi prostetici o coenzimi

Ciclo di Krebs

Serie di otto reazioni che portano all'ossidazione dell'Acetil-CoA a due molecole di CO₂ e l'energia liberata viene conservata nei coenzimi ridotti (3 molecole di NADH, 1 molecola di FADH₂; è prodotta 1 molecola di GTP).

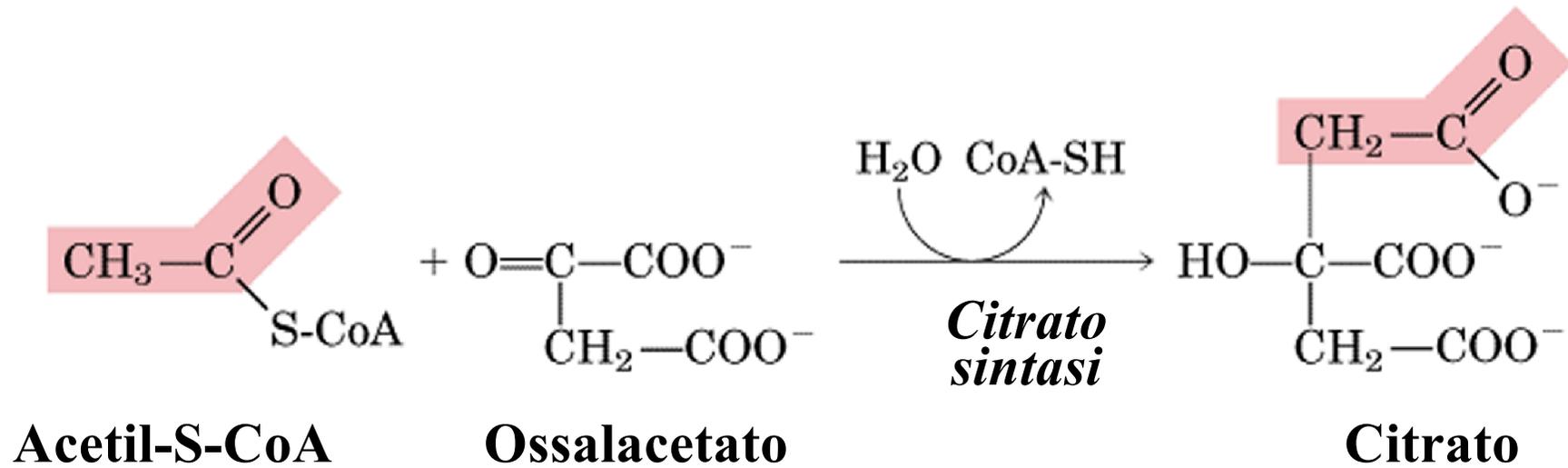
Acetil-S-CoA

La reazione globale è:



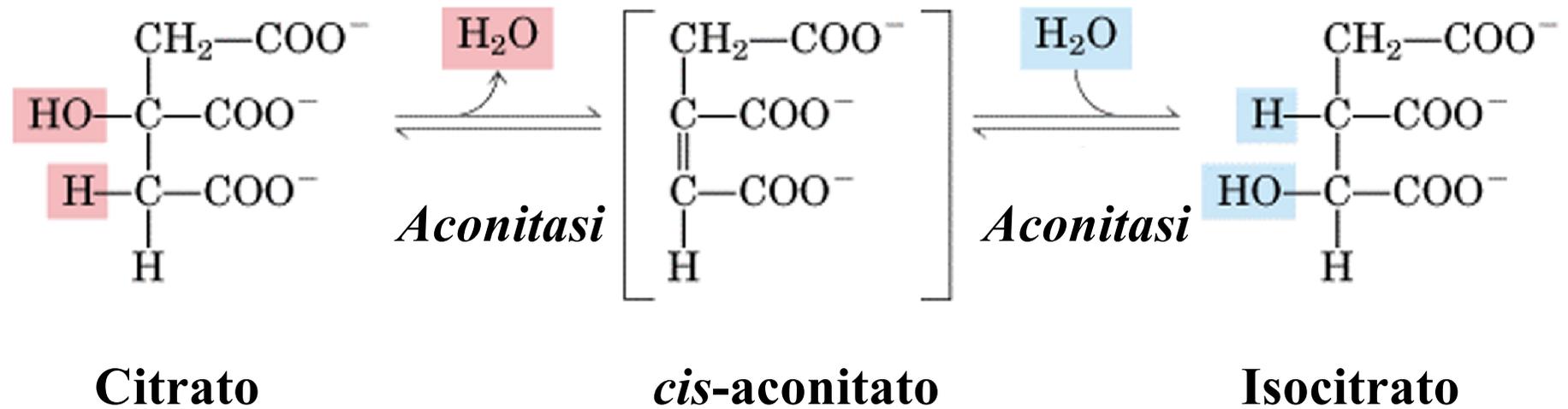
Alcuni intermedi del ciclo dell'acido citrico sono contenuti in altre vie metaboliche diverse da quella dei carboidrati, come composti intermedi sia del catabolismo che dell'anabolismo. Per questo motivo viene definito un ciclo *anfibolico*.

La reazione 1 del ciclo dell'acido citrico: citrato sintasi



E' una reazione di condensazione altamente esoenergica ($\Delta G^{\circ'} = -31,5 \text{ kJ/mol}$)

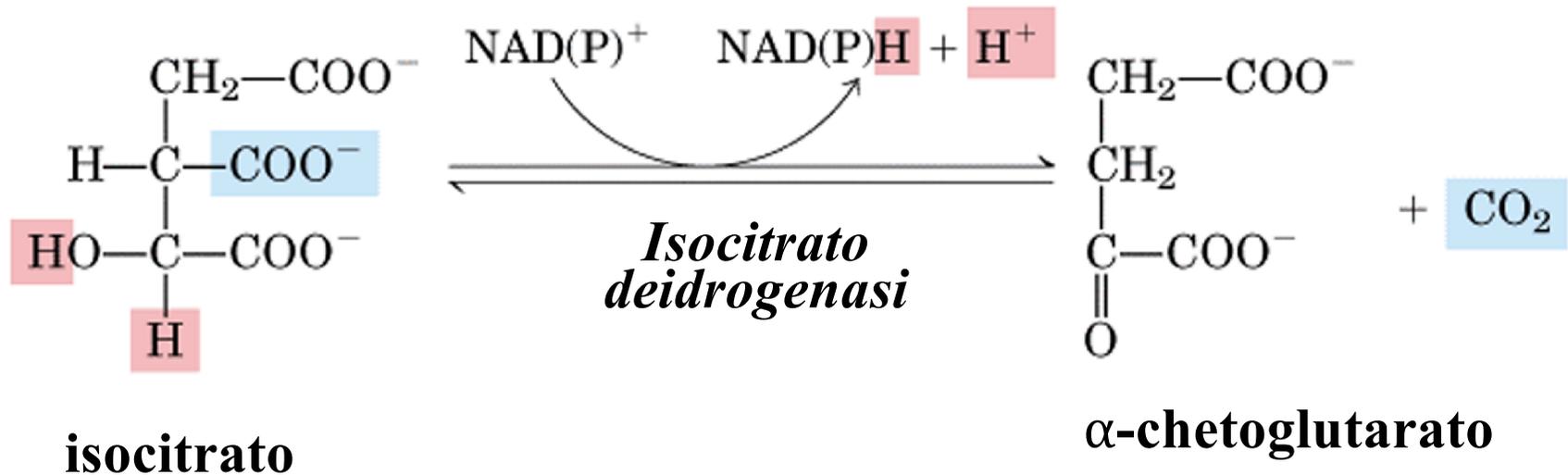
La reazione 2: aconitasi



L'aconitasi catalizza la reazione di isomerizzazione reversibile del citrato ad isocitrato, con la formazione dell'intermedio *cis*-aconitato

La reazione 3: isocitrato deidrogenasi

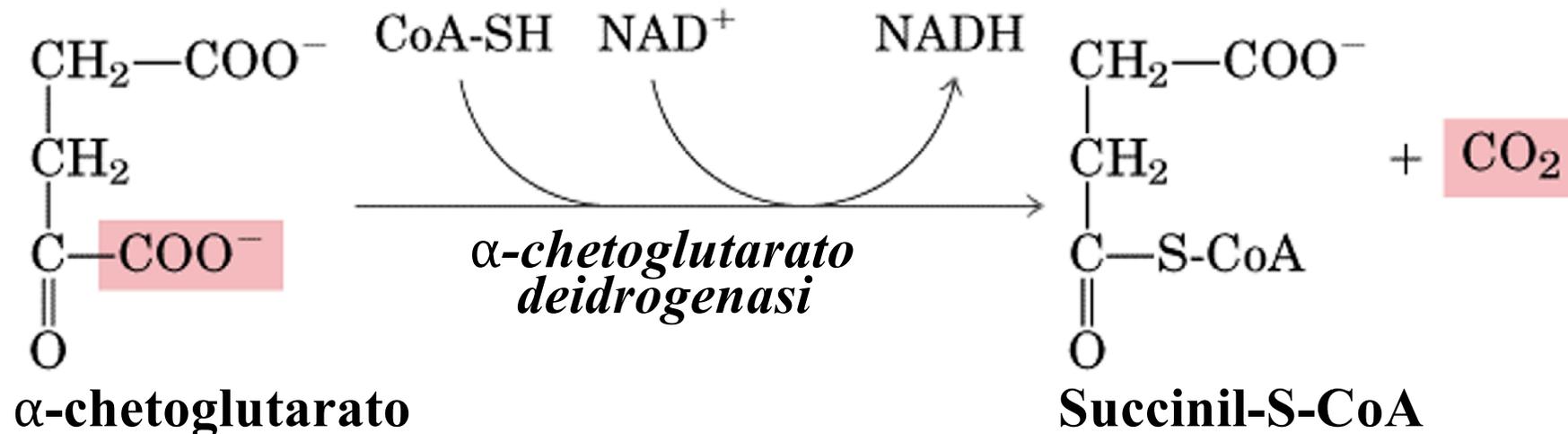
Si ha la decarbossilazione ossidativa dell'isocitrato ad α -chetoglutarato con eliminazione della prima molecola di CO_2 e formazione di NADH.



Il carbonio della molecola di CO_2 non appartiene all'acetil-CoA che è entrata nel ciclo, ma appartiene all'ossalacetato.

La reazione 4: α -chetoglutarato deidrogenasi

Si verifica una seconda decarbossilazione ossidativa: quella dell' α -chetoglutarato; si elimina la seconda molecola di CO_2 e si forma la seconda molecola di NADH.



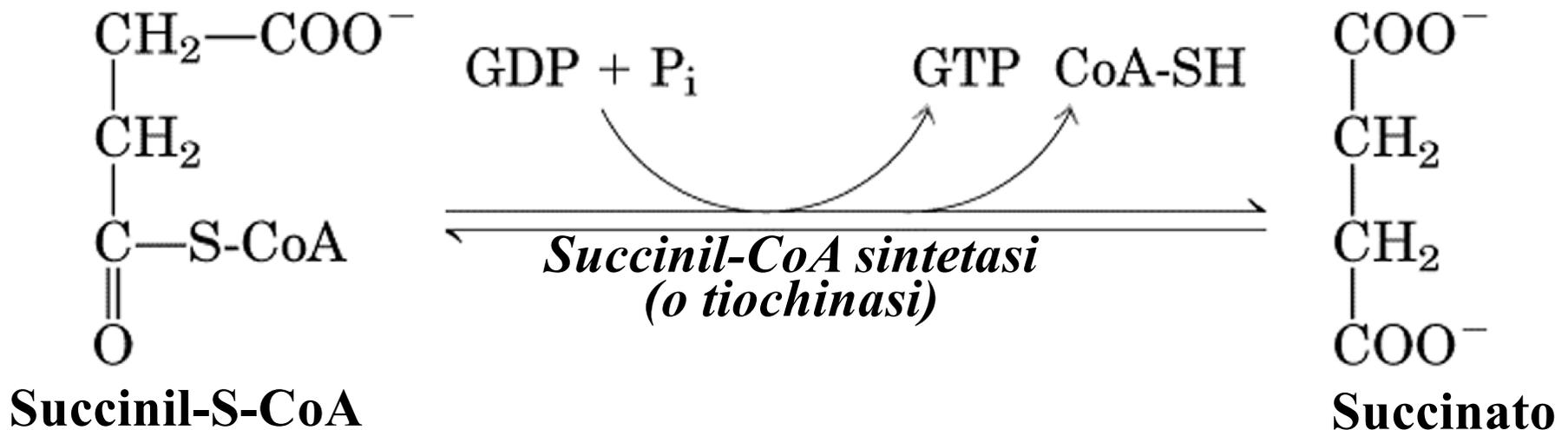
Anche il carbonio della seconda molecola di CO_2 non appartiene all'acetil-CoA che è entrata nel ciclo, ma appartiene all'ossalacetato.

L' α -chetoglutarato deidrogenasi è un complesso multienzimatico molto simile alla piruvato deidrogenasi. E' costituito da tre enzimi e cinque coenzimi. Il prodotto della reazione è un altro tioestere il succinil-CoA.

La reazione 5: succinil-CoA sintetasi

Questo enzima viene anche chiamato *tiocinasasi*. Esso accoppia la scissione del legame tioestere ad alta energia del succinil-CoA con la sintesi di un altro composto ad alta energia, il GTP.

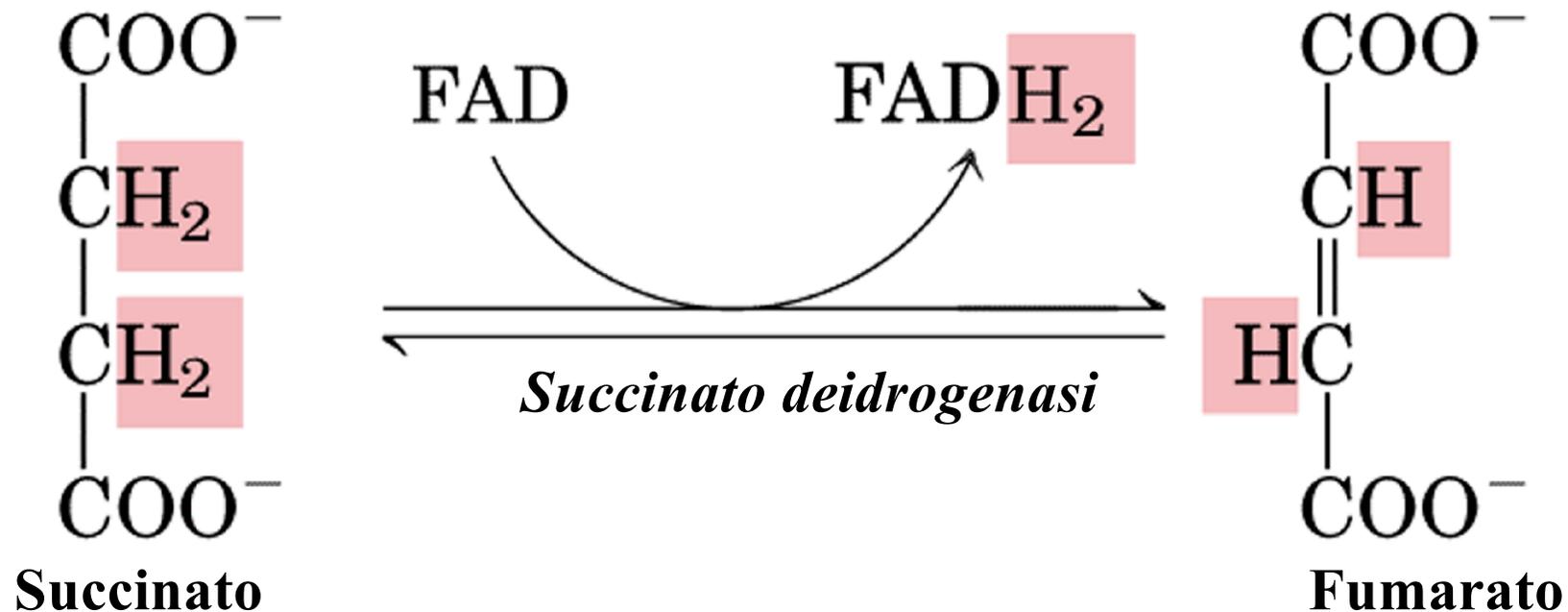
Un altro esempio di fosforilazione a livello del substrato.



Con questa reazione l'acetile proveniente dal piruvato è stato ossidato a CO_2 con produzione di due molecole di NADH e una di GTP. Le ultime tre reazioni del ciclo dell'acido citrico sono necessarie per convertire il succinato in ossalacetato.

Queste ulteriori tre reazioni produrranno altri coenzimi ridotti: una molecola di FADH_2 e un'altra di NADH.

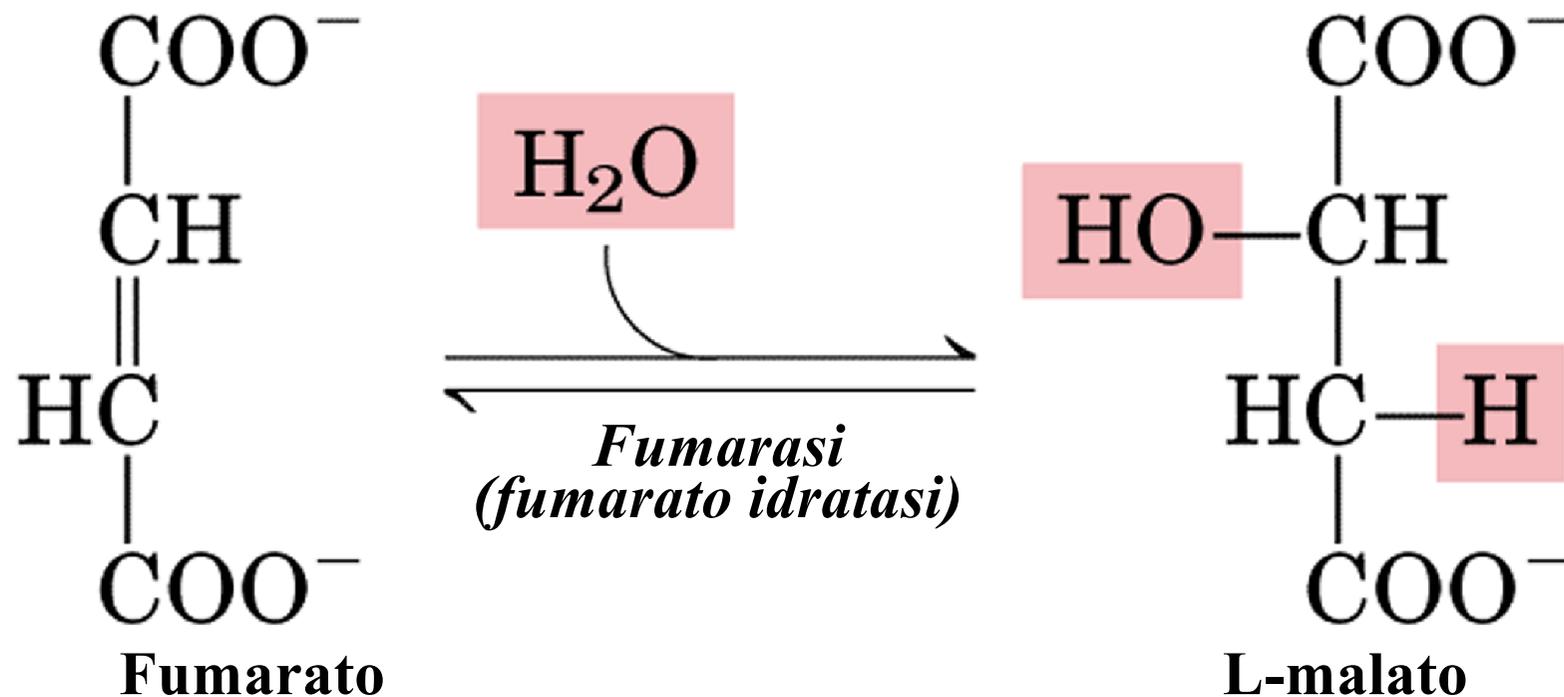
La reazione 6: succinato deidrogenasi



La succinato deidrogenasi catalizza la deidrogenazione stereospecifica del succinato con formazione di fumarato. **Gli equivalenti riducenti vengono utilizzati per produrre una molecola di FADH₂.**

La reazione 7: fumarasi

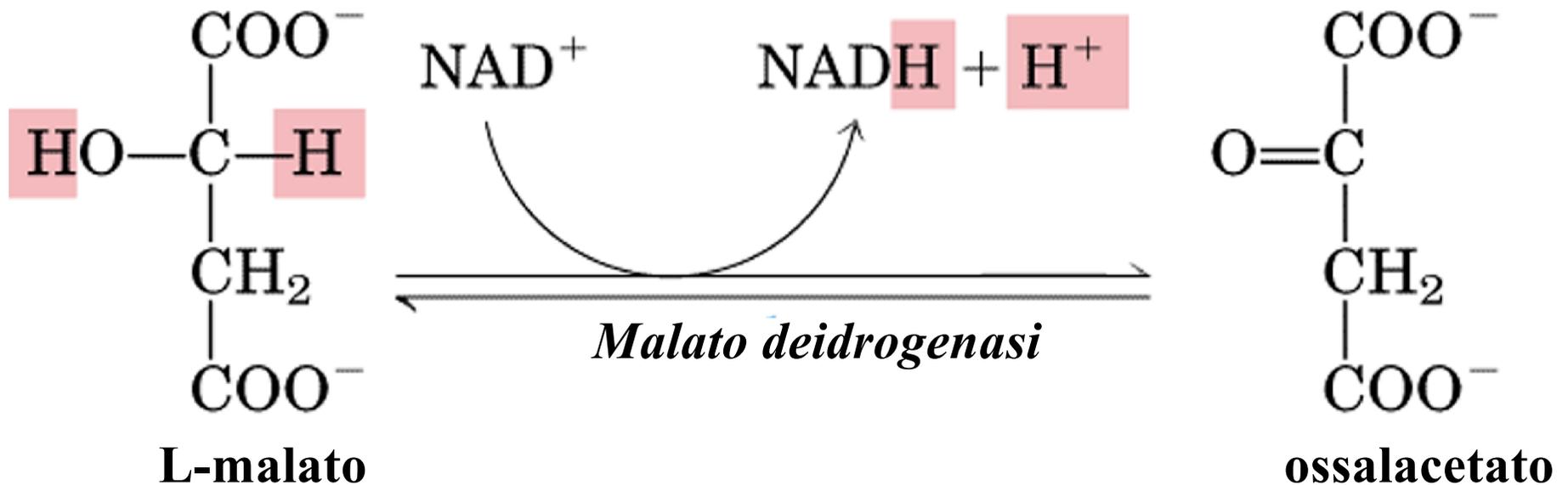
La fumarasi (fumarato idratasi) catalizza l'idratazione del fumarato con produzione di L-malato.



Anche in questo caso la reazione avviene in maniera stereospecifica.

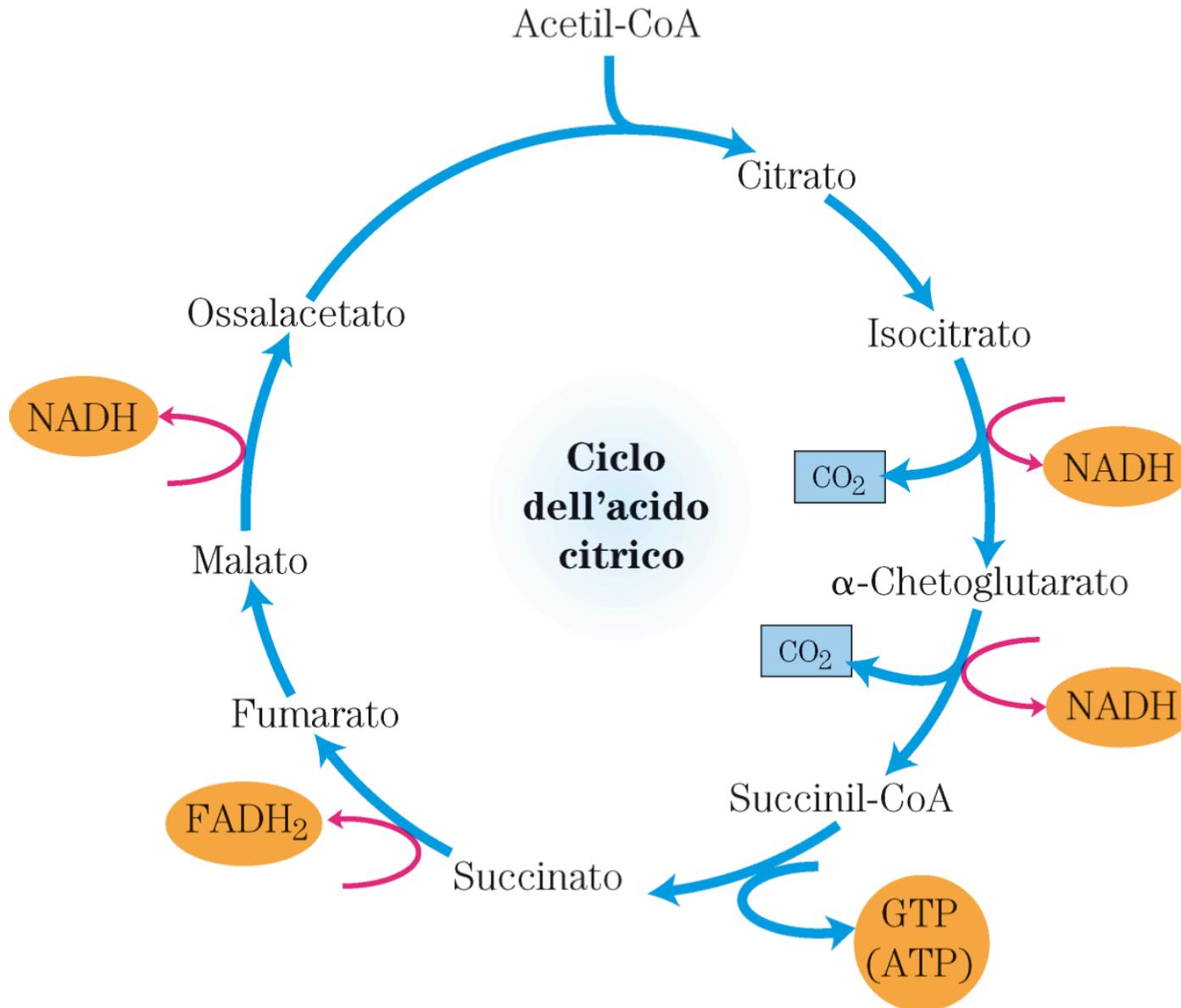
La reazione 8: malato deidrogenasi

Questo enzima catalizza l'ultima reazione del ciclo dell'acido citrico: l'ossidazione NAD^+ dipendente dell'ossidrile secondario del malato con produzione di ossalacetato e NADH .

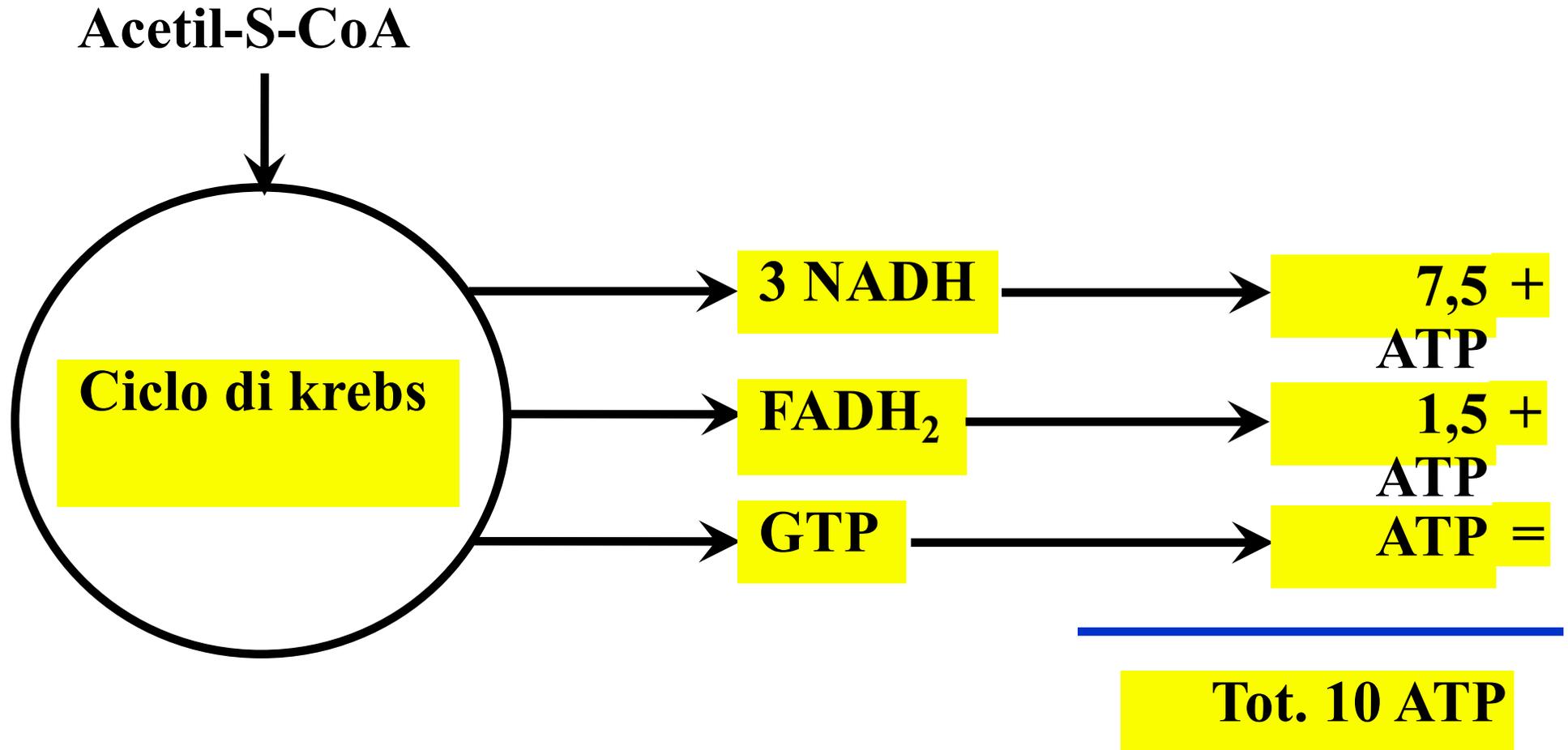


E' una reazione altamente endoergonica ($\Delta G^{\circ} = + 29,7 \text{ kJ/mol}$) ma essa è accoppiata alla successiva condensazione dell'ossalacetato con l'acetil-CoA, una reazione altamente esoergonica ($\Delta G^{\circ} = -31,5 \text{ kJ/mol}$)

I prodotti di un giro del ciclo dell'acido citrico



Bilancio complessivo del ciclo dell'acido citrico



Bilancio energetico dell'ossidazione del glucosio in condizioni aerobiche

- Sintesi di **ATP** mediante le reazioni fosforilazione a livello del substrato;
- Sintesi di ATP nella fosforilazione ossidativa accoppiata alla riossidazione del NADH e FADH₂

Citosol

Glicolisi: Glucosio \rightarrow 2 Piruvato + **2 ATP** + 2 NADH

Mitocondri

Piruvato deidrogenasi: 2 Piruvato \rightarrow 2 AcetilCoA + 2 NADH

Ciclo di Krebs: 2 AcetilCoA \rightarrow **2 GTP** + 6 NADH + 2 FADH₂

Bilancio energetico dell'ossidazione del glucosio

Nella catena respiratoria, la riossidazione del NADH* produce 2,5 ATP e la riossidazione del FADH₂ produce 1,5 ATP.

Glicolisi *	2 NADH	1,5 [°] * 2 = 3 ATP
Piruvato deidrogenasi (2 Piruvato)	2 NADH	2,5 * 2 = 5 ATP
Ciclo di Krebs (2 AcetilCoA)	6 NADH 2 FADH ₂	2,5 * 6 = 15 ATP 1,5 * 2 = 3 ATP
		26 ATP

Sintesi di ATP *mediante fosforilazione a livello del substrato* (2 ATP nella glicolisi, 2 GTP da 2 cicli di Krebs) **4 ATP**

Il bilancio energetico totale: 30 ATP

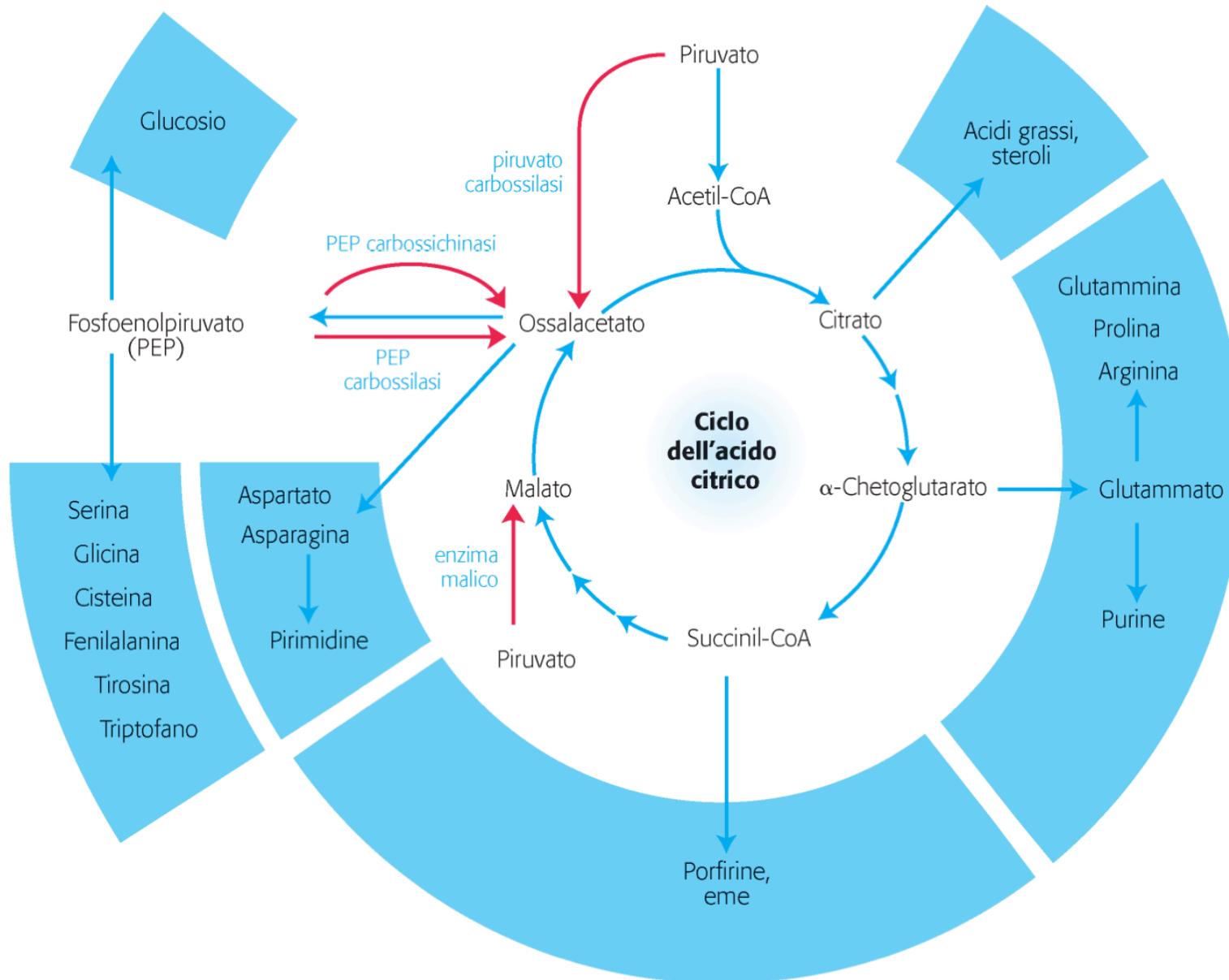
[°] La riossidazione del NADH della glicolisi produce 1,5 ATP (navetta del glicerofosfato) nel muscolo e cervello; nel fegato, rene e cuore la riossidazione del NADH produce 2,5 ATP.

Via anfibolica

Una via anfibolica ha una doppia natura: serve sia ai processi catabolici sia ai processi anabolici.

Il ciclo di Krebs agisce sia nel catabolismo ossidativo dei carboidrati, degli acidi grassi e degli amminoacidi sia produce precursori per molte vie biosintetiche

Componenti del ciclo di Krebs come intermedi metabolici



In rosso sono indicate le reazioni anaplerotiche

Reazioni anaplerotiche

Gli intermedi sottratti dal ciclo (perché utilizzati come precursori in altre vie) possono essere rimpiazzati attraverso reazioni di riempimento o anaplerotiche.

Fegato, Rene



Cuore, muscolo scheletrico



Piante superiori, lievito, batteri



Procarioti ed eucarioti

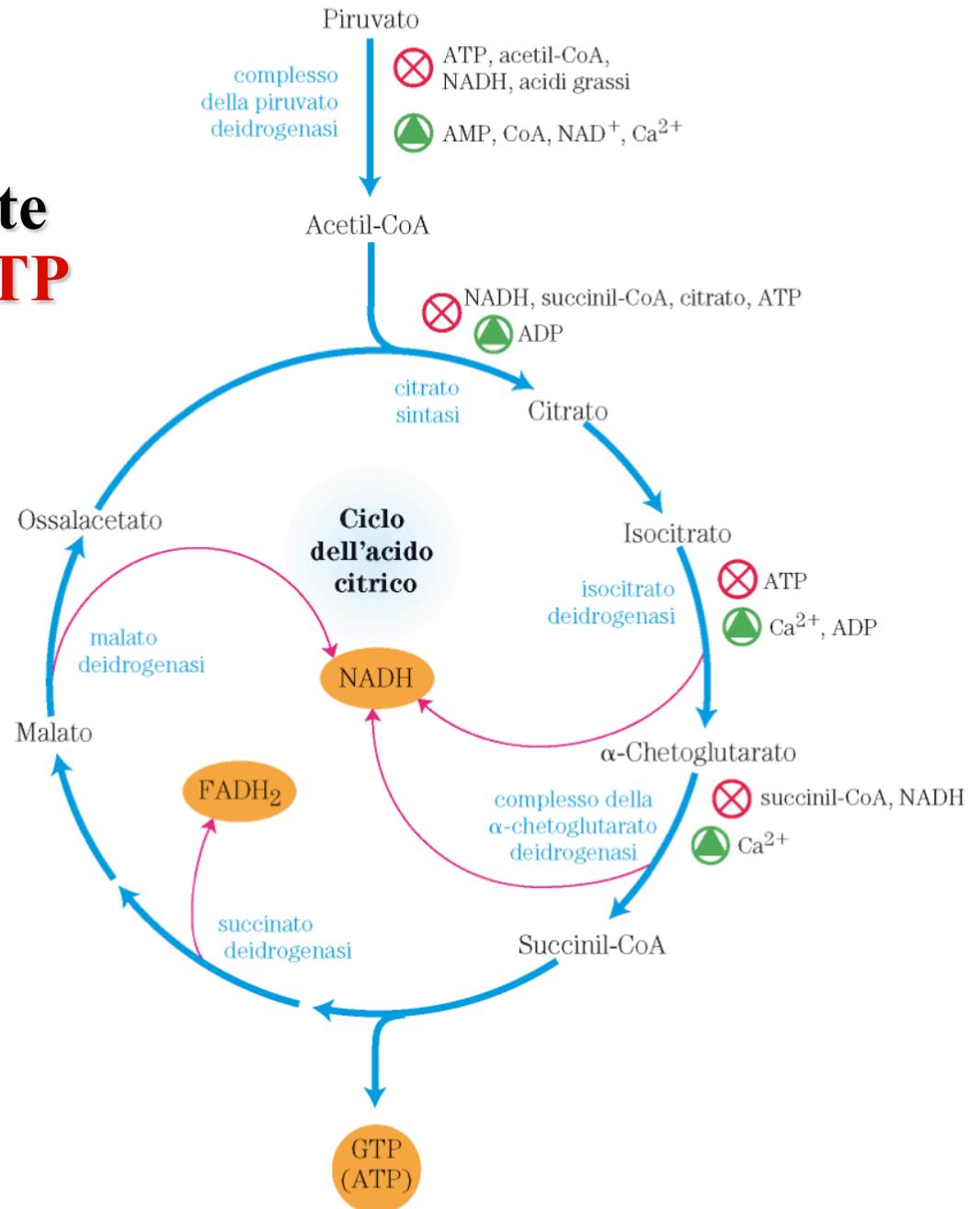


Regolazione del ciclo di Krebs

E' regolato principalmente
dalla concentrazione di **ATP**
e di **NADH**.

I punti di regolazione
essenziali sono:

- **piruvato deidrogenasi**
- **isocitrato deidrogenasi**
- **α -chetoglutarato deidrogenasi.**



Regolazione del ciclo di Krebs

Regolazione allosterica del complesso multienzimatico piruvato deidrogenasi

Inibitori: Acetil-CoA, NADH, ATP (i prodotti della reazione)

Attivatori: CoASH, NAD⁺, AMP.

Regolazione covalente reversibile del complesso multienzimatico piruvato deidrogenasi:

- inibizione mediante fosforilazione di alcuni residui di Ser.

Una fosfatasi Mg²⁺-dipendente lo può riattivare.

Altri tre siti di regolazione sono le reazioni fortemente esoergoniche (irreversibili) catalizzate dalla:

- citrato sintasi (NADH, succinil-CoA, citrato, ATP sono inibitori; ADP è un attivatore)

- isocitrato deidrogenasi (ATP è un inibitore; calcio ed ADP sono attivatori)

- α -chetoglutarato deidrogenasi (succinil-CoA e NADH sono inibitori; il calcio è un attivatore)