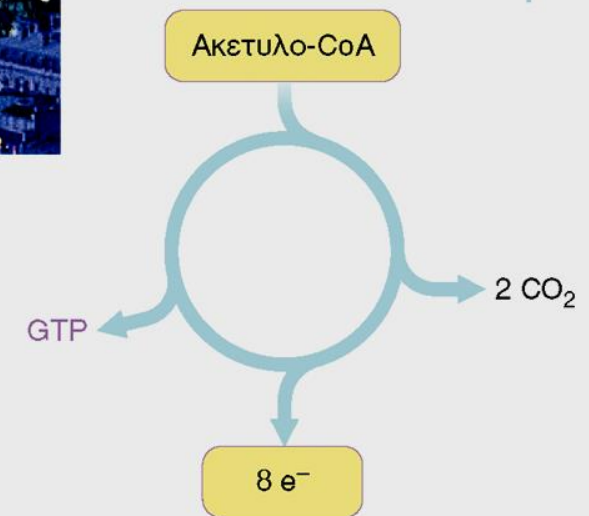
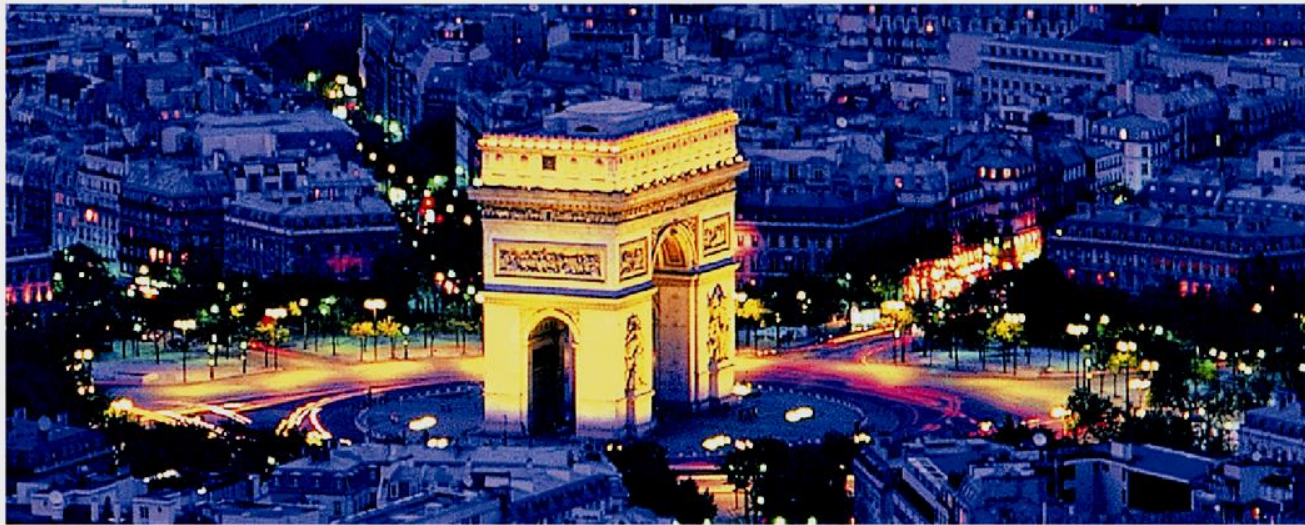


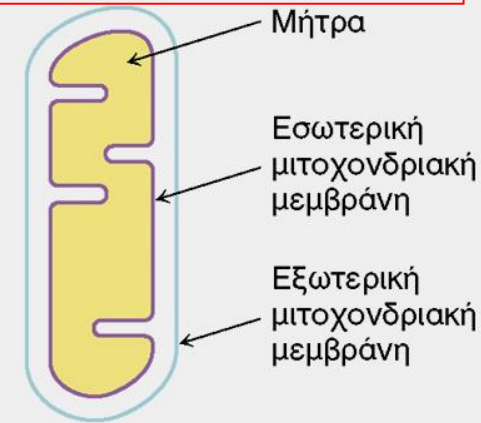
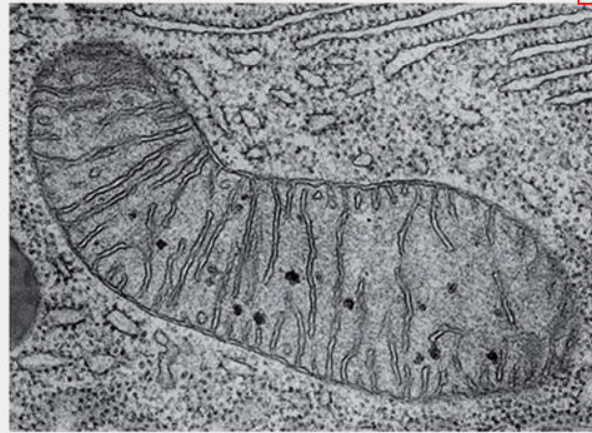
# Ο κύκλος του κιτρικού οξέος



Οι υποχρεωτικές κυκλικές πορείες λειτουργούν ως κομβικά σημεία για να διευκολύνουν τη ροή της κυκλοφορίας. Ο κύκλος του κιτρικού οξέος είναι το βιοχημικό κομβικό σημείο του κυττάρου, που οξειδώνει τα καύσιμα οργανικά μόρια, συνήθως στη μορφή του ακετυλο-CoA. Επίσης, χρησιμεύει ως πηγή πρόδρομων μορίων για βιοσύνθεση. [(Επάνω) Chris Warren/International Stock.]

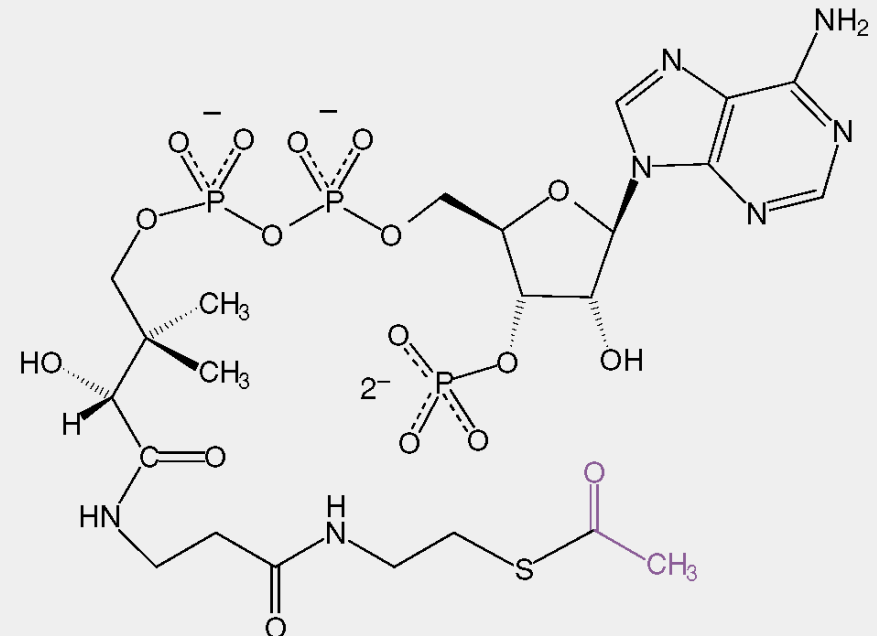
# Ο κύκλος κιτρικού οξέος (ΚΚΟ) ή τρικαρβοξυλικου οξέος ή Krebs

## ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ στην Μήτρα



**ΕΙΚΟΝΑ 17.1 Μιτοχόνδριο.** Στην ηλεκτρονιομικρογραφία αυτή διακρίνεται η διπλή μεμβράνη του μιτοχονδρίου. Οι πολλές εγκολπώσεις της εσωτερικής μεμβράνης ονομάζονται ακρολοφίες (cristae). Η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού και η αλληλουχία των αντιδράσεων στον κύκλο του κιτρικού οξέος λαμβάνουν χώρα μέσα στη μήτρα. [(Αριστερά) Omikron/Photo Researchers.]

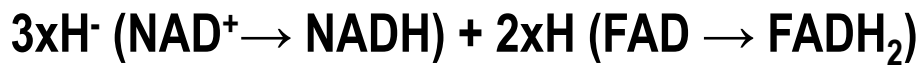
Τα περισσότερα μόρια εισέρχονται στον κύκλο ως ακετυλοσυνένζυμο Α (ενεργοποιημένο μόριο)



Ακετυλο-συνένζυμο Α (Ακετυλο-CoA)

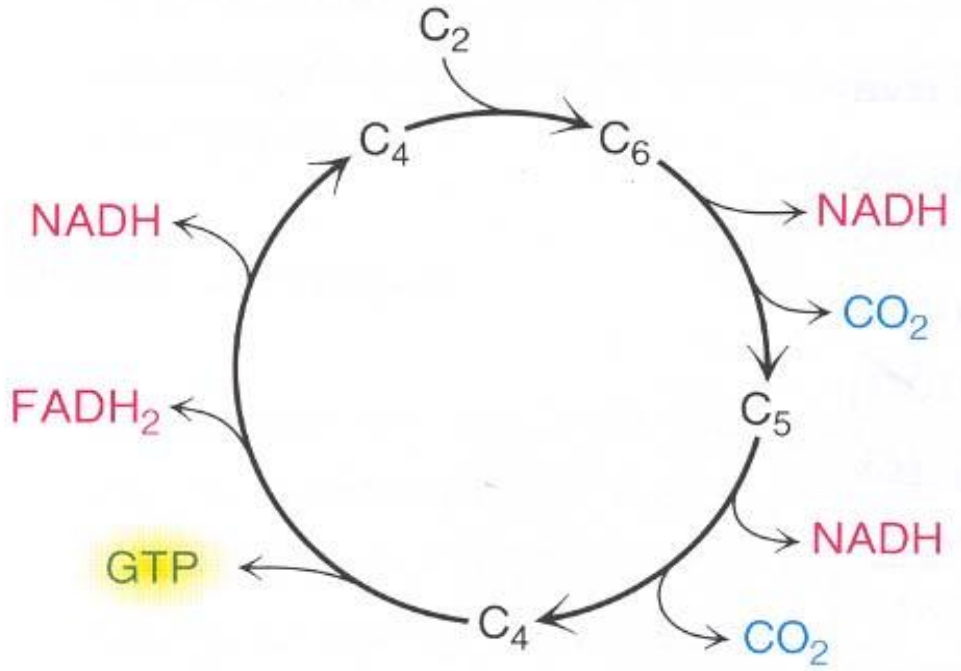
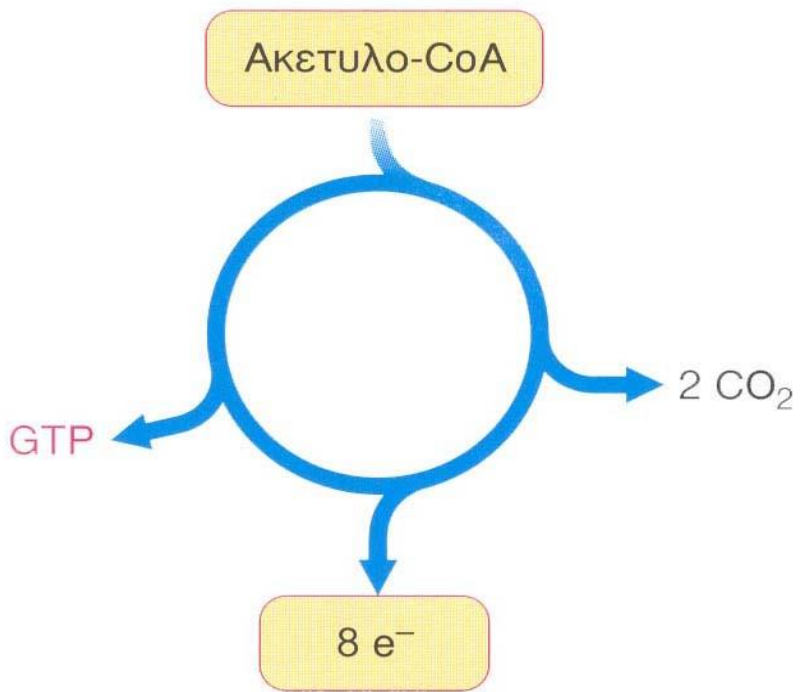
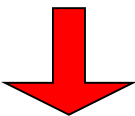
τελική κοινή πορεία για την οξείδωση των καύσιμων οργανικών μορίων σαν ακετυλ-CoA

Οξείδωση = χάσιμο e (υψηλής ενέργειας) ==> οξείδωση CH<sub>3</sub>CO- προς 2CO<sub>2</sub> ==> 8e<sup>-</sup>



Αμινοξέα- Λιπαρά  
οξέα- Υδατάνθρακες

Η δράση του οξαλοξικού (C<sub>4</sub>) είναι καταλυτική δυο άτομα εισέρχονται σαν CH<sub>3</sub>CO- και δυο μόρια CO<sub>2</sub> απομακρύνονται



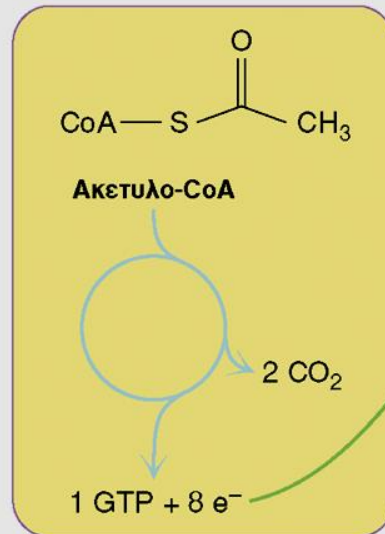
# συγκομιδή e υψηλής ενέργειας από καύσιμα οργανικά μόρια στα μόρια NADH και FADH<sub>2</sub>

οξειδωτική φωσφορυλίωση τα μόρια NADH και FADH<sub>2</sub> επανοξειδώνονται και παράγουν ιόντα H<sup>+</sup> (προϊόντα) στην μια πλευρά της μεμβράνης

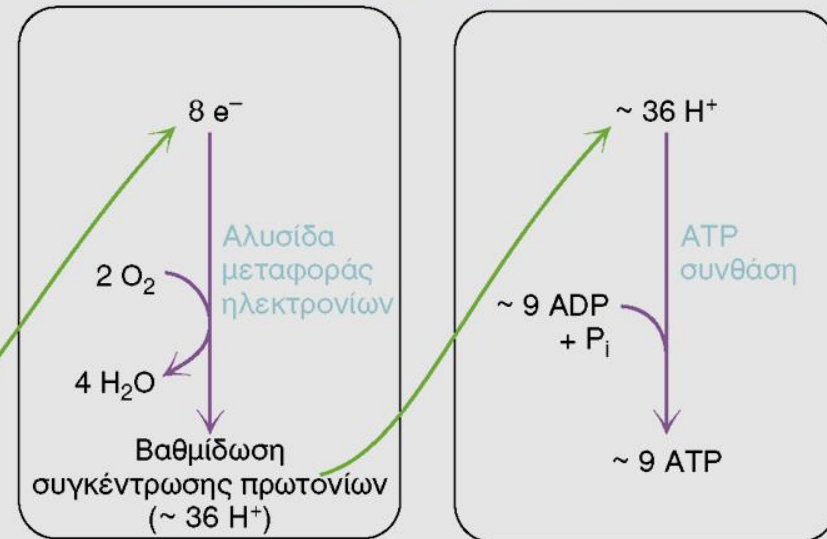
Λόγω της διαφοράς συγκέντρωσης πρωτονίων δημιουργείται ATP

Ο ΚΚΟ μαζί με την οξειδωτική Φωσφορυλίωση προμηθεύει τη μεγάλη πλειονότητα της ενέργειας (95%)

## ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ



## ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ



**ΕΙΚΟΝΑ 17.3 Κυτταρική αναπνοή.** Ο κύκλος του κιτρικού οξέος αποτελεί το πρώτο στάδιο στην κυτταρική αναπνοή, την αφαίρεση ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας από τις πηγές καύσιμων οργανικών μορίων (αριστερά). Αυτά τα ηλεκτρόνια ανάγουν το O<sub>2</sub> για να δημιουργηθεί μια βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων (μέσον), που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ATP (δεξιά). Η αναγωγή του O<sub>2</sub> και η σύνθεση της ATP απαρτίζουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση.



Γιατί τα ηλεκτρόνια πηγαίνουν από ένα άτομο σε ένα άλλο;

Λόγο ηλεκτραρνητικότητας (C, S, N, O, F) - - - ->

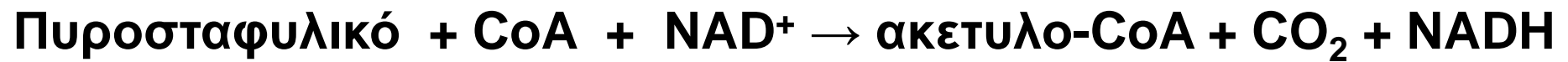
η φύση χρησιμοποιεί όλα τα παραπάνω,  
η ζωή όμως χρησιμοποιεί μέχρι το O

H 2.1							He 0
Li 0.98	Be 1.57	B 2.04	C 2.55	N 3.04	O 3.44	F 3.98	Ne 0
Na 0.93	Mg 1.31	Al 1.61	Si 1.9	P 2.19	S 2.58	Cl 3.16	Ar 0

Το ίδιο ισχύει και για το ίδιο άτομο (C) αλλά σε διαφορετικές ομάδες άτομα π.χ. για το C

Amide > Acid > Alcohol > Ketone ~ Aldehyde > Amine > Ester > Ether > Alkane

Έτσι τα ηλεκτρόνια (ή τα άτομα H) από τον ΚΚΟ μεταφέρονται από μια ένωση σε μια άλλη με μεγαλύτερη ηλεκτροαρνητικότητας (ή μεγαλύτερο δυναμικό αναγωγής)

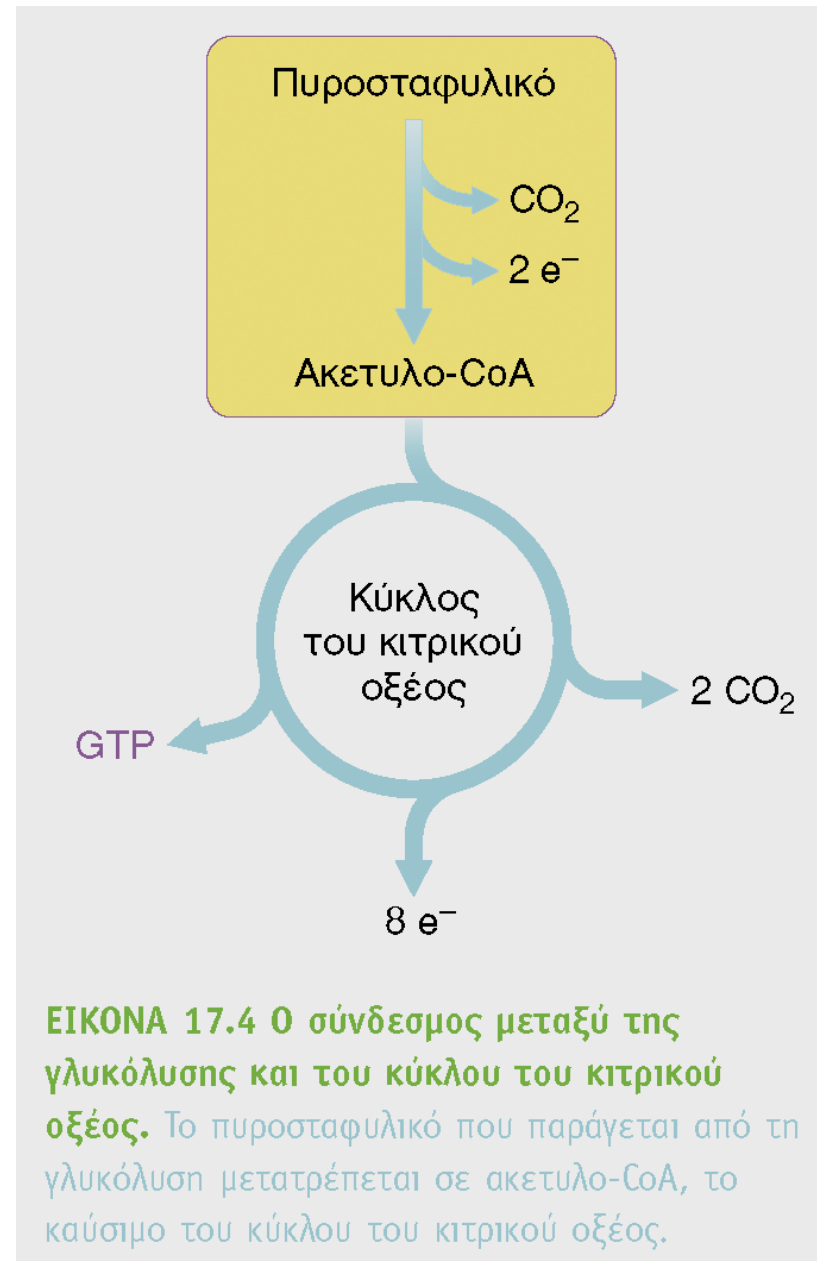


Ο κύκλος του **ΚΚΟ** οξειδώνει μονάδες  
2 ατόμων άνθρακα

Το ακετυλο-CoA είναι το καύσιμο του ΚΚΟ

Το πυροσταφυλικό μεταφέρεται με έναν  
αντιμεταφορέα μέσα στο μιτοχόνδριο σε  
ανταλλαγή με  $\text{OH}^-$   
(αντιμεταφορέας και διατήρηση φορτίου)

Η αντίδραση (μη αντιστρεπτή) συνδέει την  
γλυκόλυση και τον ΚΚΟ  
(μη αντιστρεπτές αντιδράσεις επιλέγονται και  
σαν σημεία ελέγχου)



Το πυροσταφυλικό υπό αερόβιες συνθήκες μεταφέρεται στα μιτοχόνδρια σε ανταλλαγή με  $\text{OH}^-$  και αποκαρβοξυλιώνεται ...

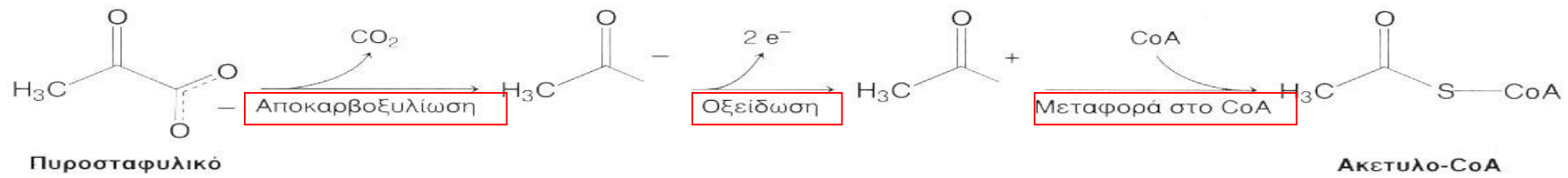


...οξειδωτικά από το σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης...

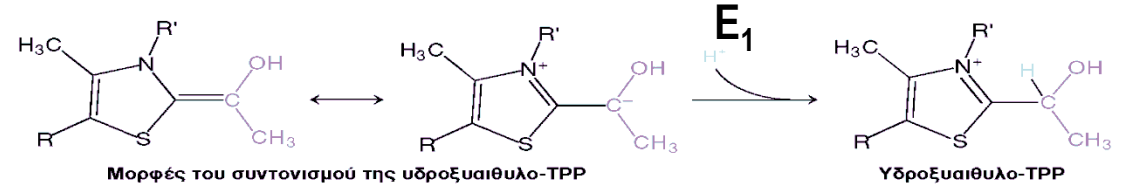
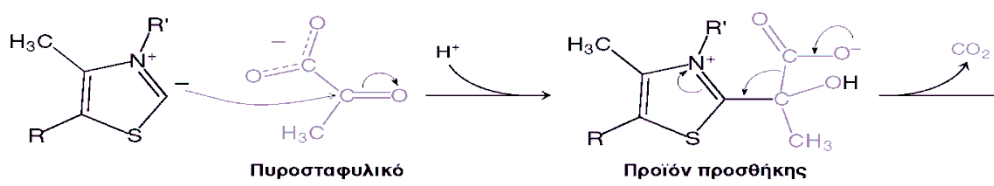
**ΠΙΝΑΚΑΣ 17.1** Σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης της *E. coli*.

Ένζυμο	Συντομογραφία	Αριθμός αλυσίδων	Προσθετική ομάδα	Αντίδραση που καταλύεται
Συνιστώσα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης	E <sub>1</sub>	24	TPP	Οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού
Διυδρολιπούλο-τρανσακετυλάση	E <sub>2</sub>	24	Λιποαμίδιο	Μεταφορά της ακετυλικής ομάδας στο CoA
Διυδρολιπούλο-αφυδρογονάση	E <sub>3</sub>	12	FAD	Αναγέννηση της οξειδωμένης μορφής του λιποαμιδίου

...σε τρία βήματα:



... αλλά αυτά τα βήματα πρέπει να συνενωθούν (σύζευξη) για να εκμεταλλευτούμε την ελεύθερη ενέργεια που αποκτάται στο βήμα της αποκαρβοξυλίωσης



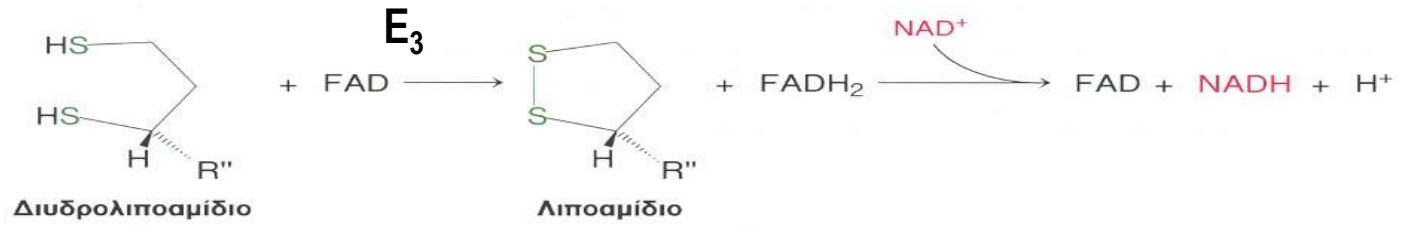
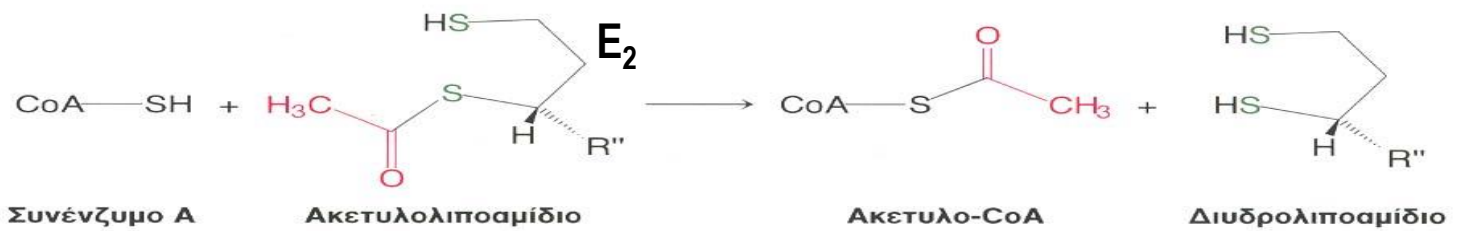
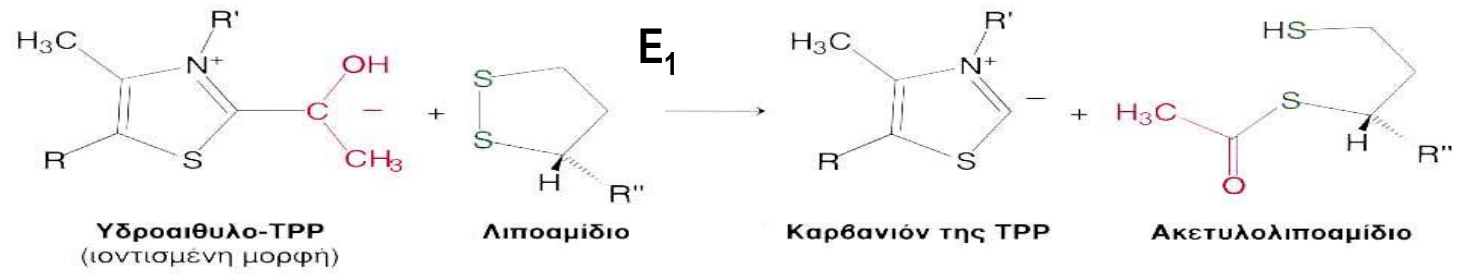
ΕΙΚΟΝΑ 17.6 Μηχανισμός αποκαρβοξυλίωσης της αντίδρασης της E<sub>1</sub>, της συνίστασης της πυροσταφυλικής αφυδρογόνωσης του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογόνωσης.

**ΒΗΜΑ 1**  
 Νουκλεοφιλο ,  
 (+)-φιλο

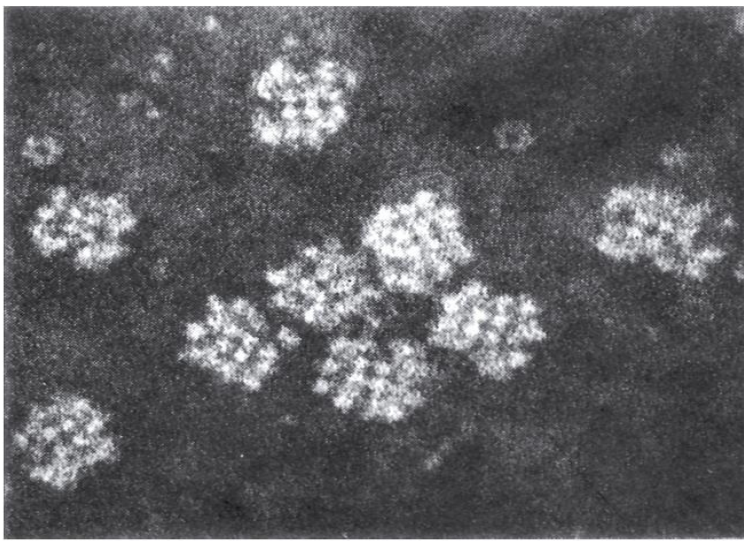
**ΒΗΜΑ 2**  
 Προετοιμασία  
 Ενεργοποίηση  
 υποστρώματος

**ΒΗΜΑ 3**  
 Μεταφορά H<sup>+</sup>  
 Οξείδωση CH<sub>3</sub>CO

**ΒΗΜΑ 4**  
 Μεταφορά H<sup>+</sup>  
 Οξείδωση  
 διυδρολιποαμίδιο

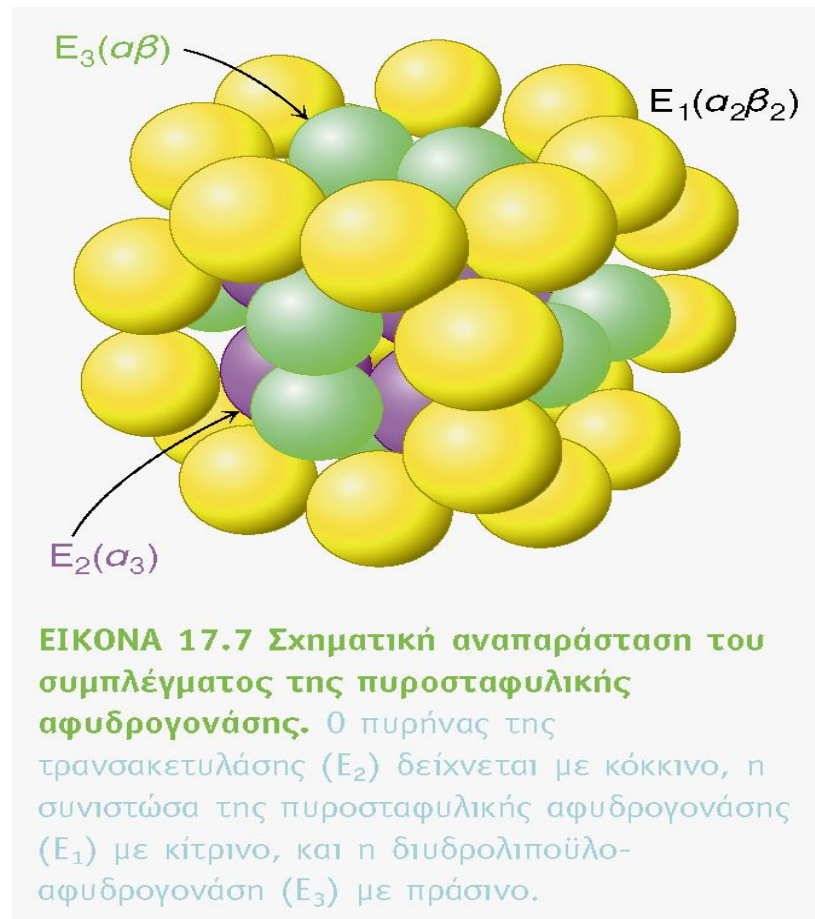




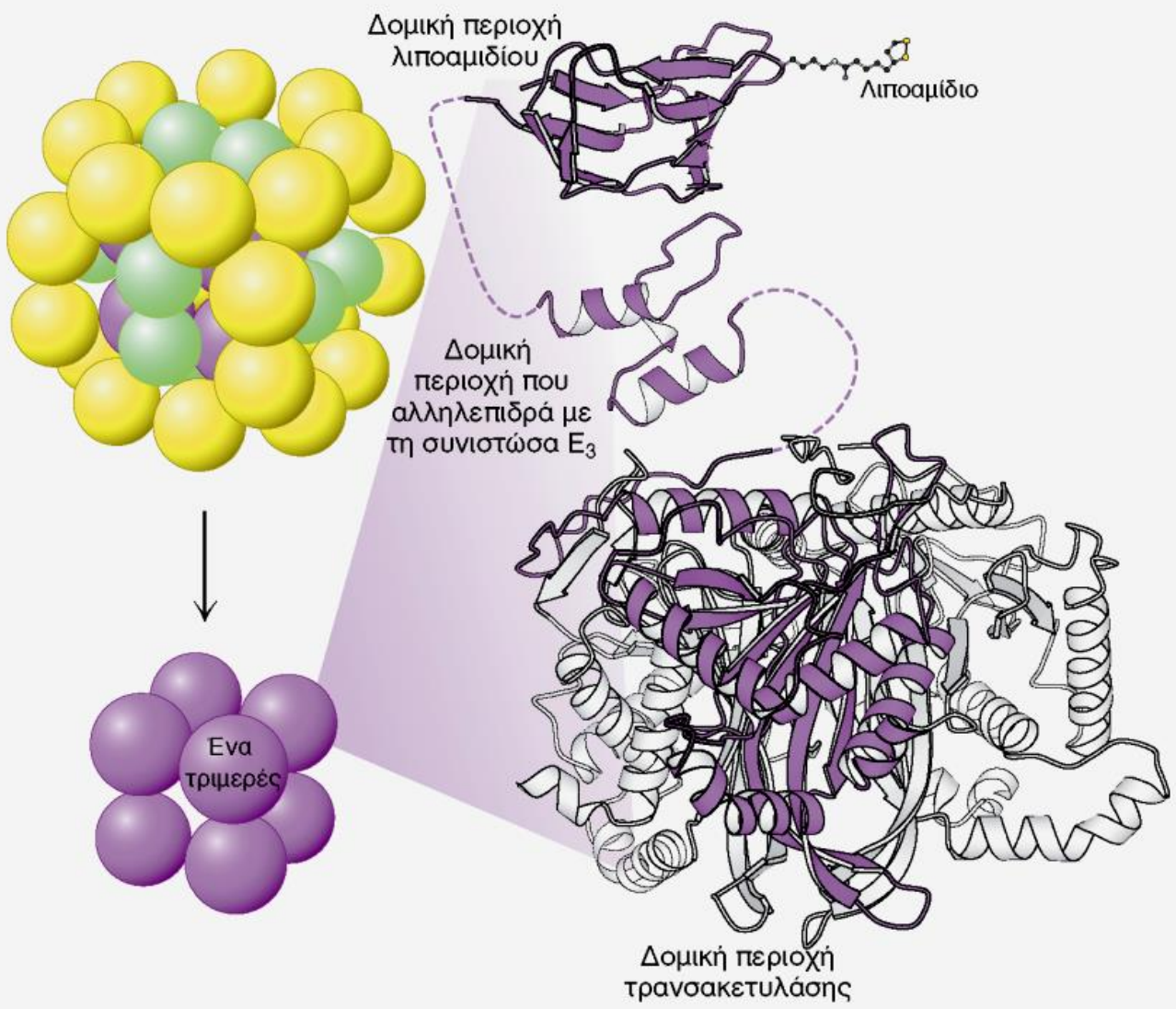


**ΕΙΚΟΝΑ 17.5** Ηλεκτρονιομικρογραφία του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης από το Βακτήριο *E. coli*.  
[Ευγενική προσφορά Dr. Lester Reed.]

**Συντονισμένη κατάλυση από ένα σύμπλεγμα ενζύμων (4-10 εκατ. dalton) καθίστα δυνατή την συντονισμένη κατάλυση μιας σύνθετης αντίδρασης**



**αυξάνεται η ταχύτητα της και ελαχιστοποιούνται οι παράπλευρες αντιδράσεις.**

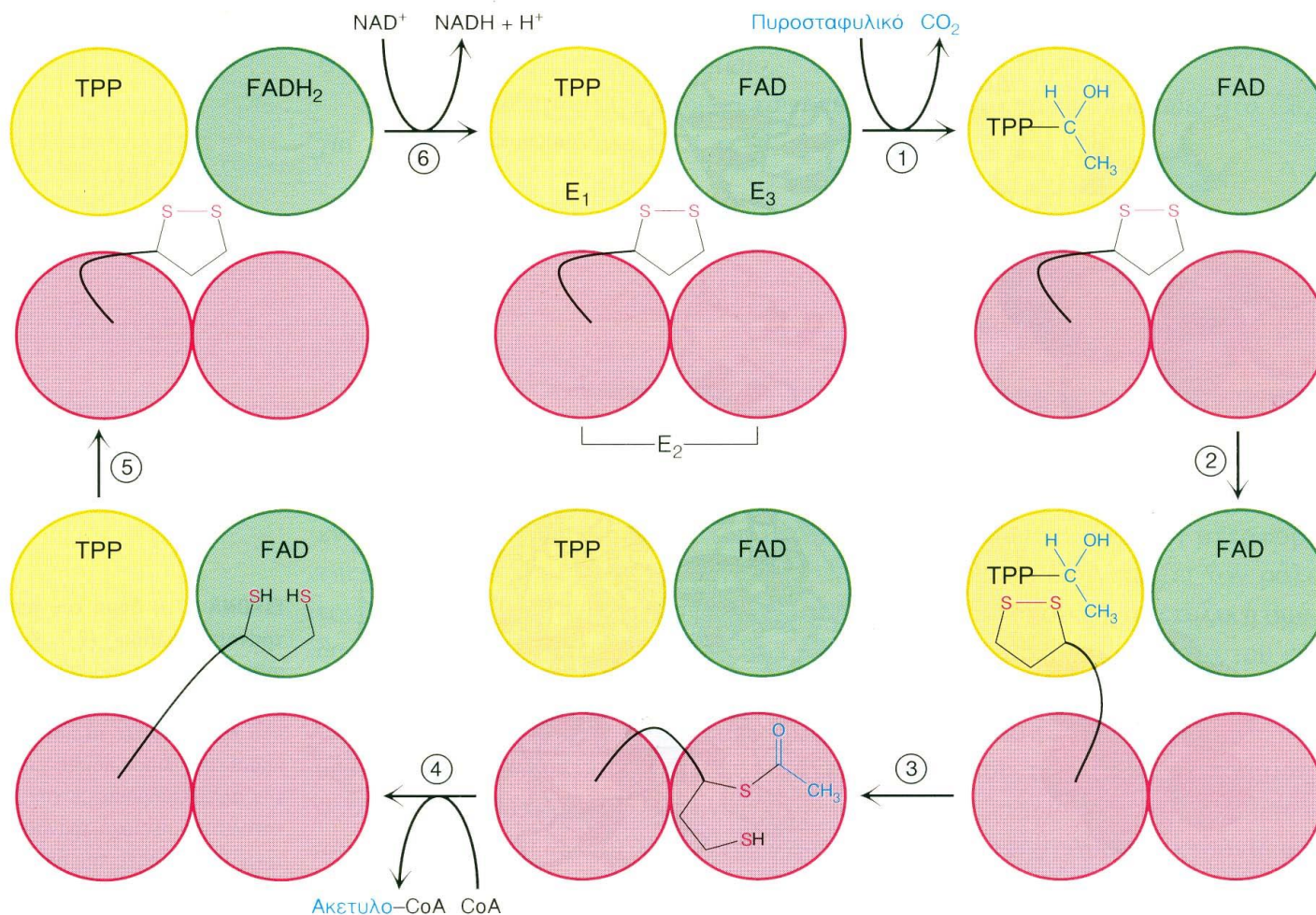


**ΕΙΚΟΝΑ 17.8** Δομή του πυρήνα της τρανσακετυλάσης ( $E_2$ ). Κάθε κόκκινη σφαίρα αντιπροσωπεύει ένα τριμερές από τρεις υπομονάδες  $E_2$ . Κάθε υπομονάδα αποτελείται από τρεις δομικές περιοχές: μια περιοχή πρόσδεσης λιποαμιδίου, μια μικρή περιοχή για την αλληλεπίδραση με την  $E_3$  και μια μεγάλη καταλυτική περιοχή τρανσακετυλάσης. Και οι τρεις υπομονάδες της δομικής περιοχής τρανσακετυλάσης δείχνονται στην αναπαράσταση, με τη μία να απεικονίζεται με κόκκινο.

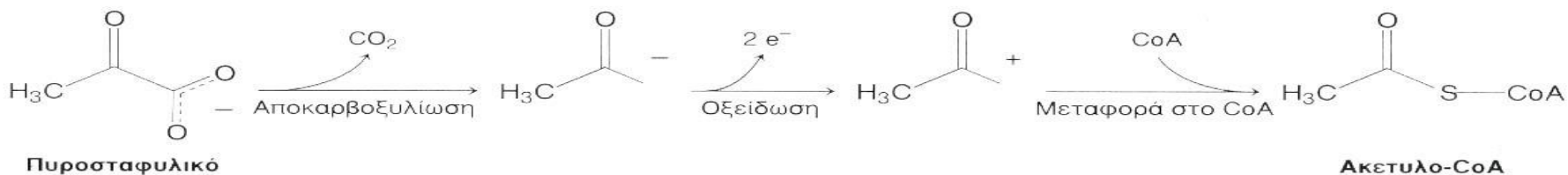
Ο πυρήνας του συμπλέγματος σχηματίζεται από οκταμερές της τρανσακετυλάση ( $E_2$ ). Κάθε σφαίρα αντιπροσωπεύει ένα τριμερές ( $3 \times E_2$ )



Όταν τα ενζυμα είναι κοντά (το προϊόν και αντιδρόν δεν διαχέονται) αυξάνεται η ταχύτητα της και ελαχιστοποιούνται οι παράπλευρες αντιδράσεις.

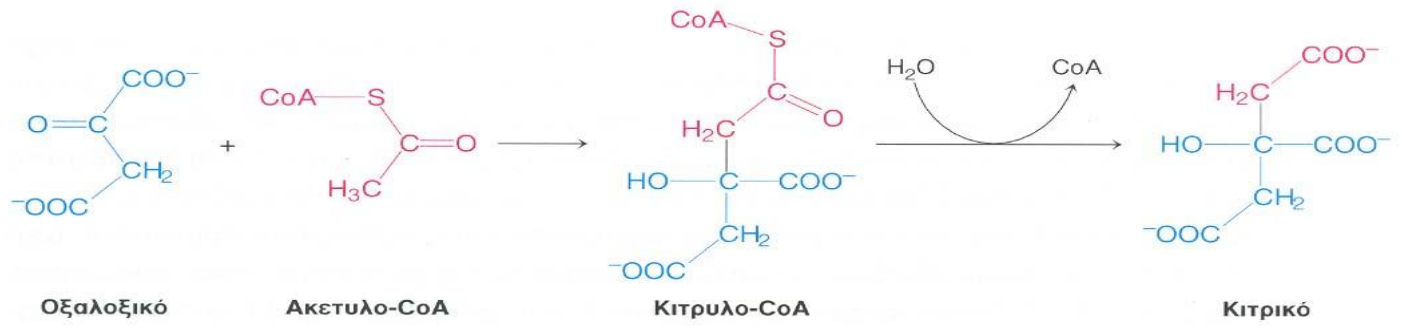


Μεταφορά της CH<sub>3</sub>-CO- ομάδας μέσω καναλιών με διάμετρο 30 Å



# Κύκλος του κιτρικού

## ΒΗΜΑ 1 κιτρική συνθάση > σύνθεση κιτρικού οξέος

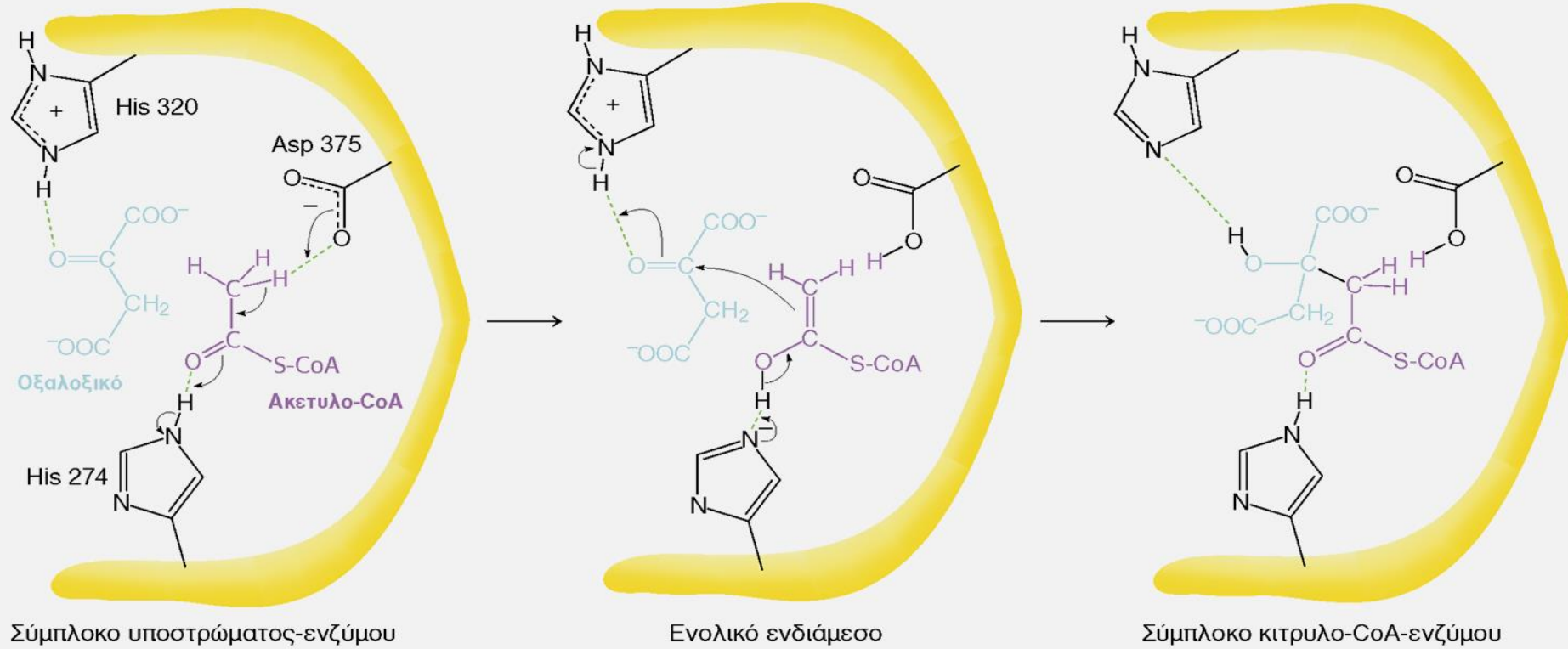


ΕΙΚΟΝΑ 17.11 Μηχανισμός σύνθεσης

Πρώτα ενώνεται το οξαλικό και δημιουργεί μια θέση πρόσδεσης για το **ακέτυλο-CoA** (πλαστικότητα ενζύμων)

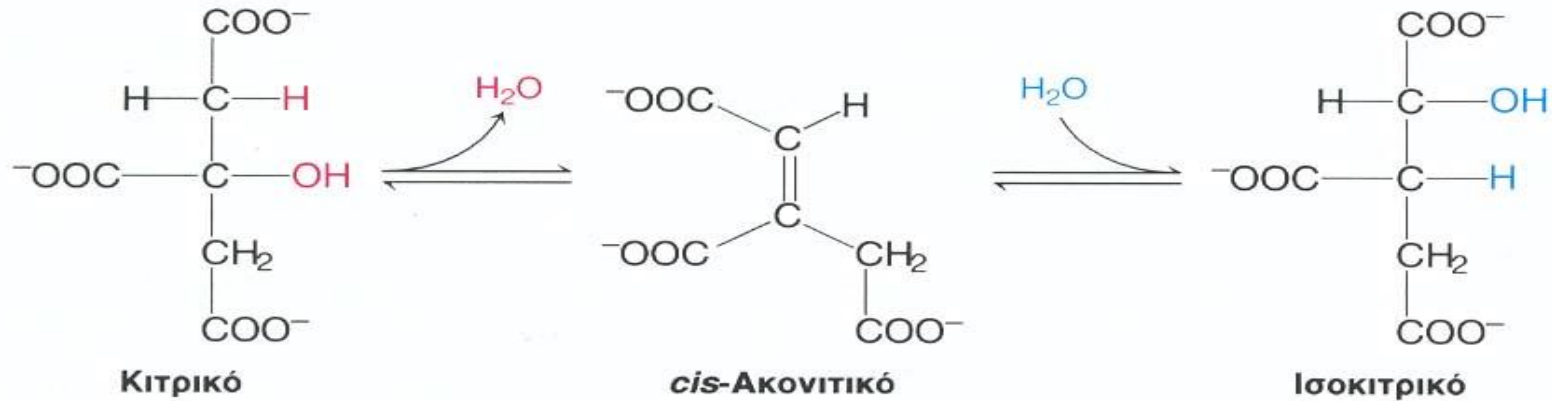
Πώς η κιτρική συνθάση **εμποδίζει** τις άχρηστες πορείες όπως η υδρόλυση του **ακετυλο-CoA**;

Η κιτρική συνθάση είναι προσαρμοσμένη να υδρολύει το **κίτρυλο-CoA** αλλά όχι το **ακετυλο-CoA**

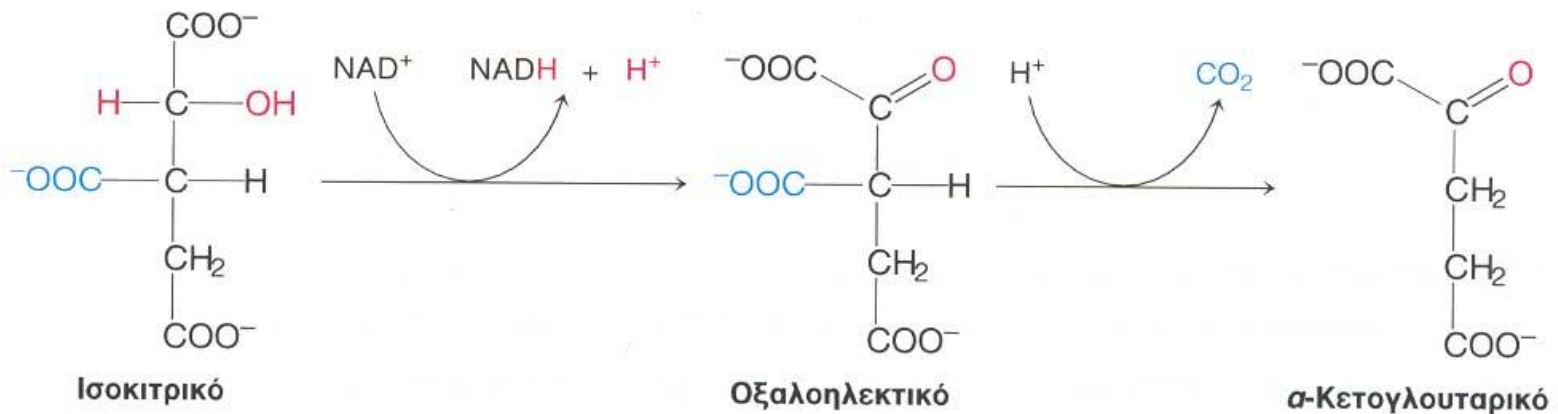


## ΒΗΜΑ 2: ακονιτάση -> ισομερείωση -> ισοκιτρικό οξύ

Η υδροξυλική ομάδα δεν είναι κατάλληλα τοποθετημένη για οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση

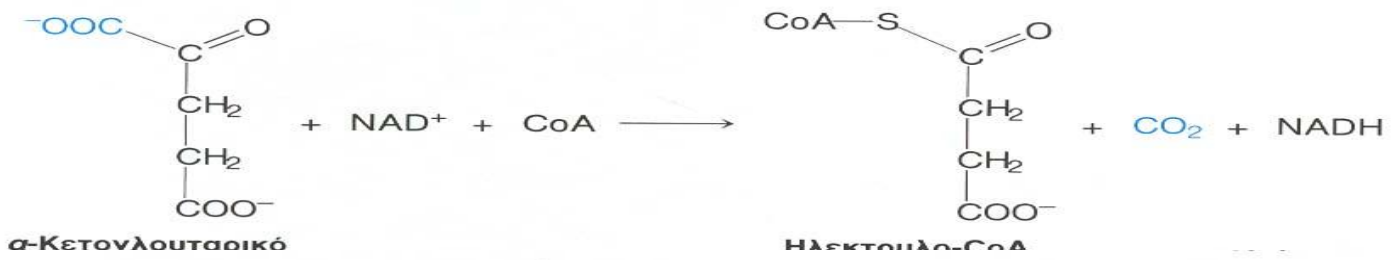


## ΒΗΜΑ 3: ισοκιτρική αφυδρογόνωση -> αποκαρβοξυλίωση -> α-κετο-γλουταρικό





**ΒΗΜΑ 4: σύμπλεγμα α-κετογλουταρικής αφυδρογονάσης-> ηλεκτρυλο-CoA**



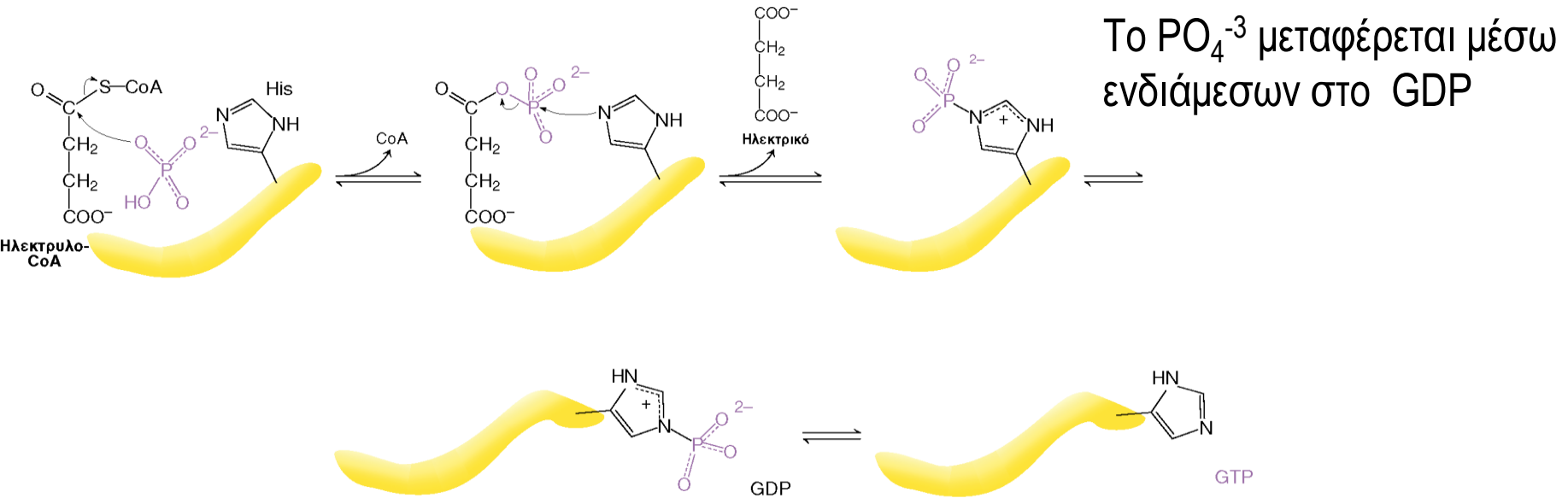
Μοιάζει με τον μηχανισμό στην αρχή του κύκλου (κοινά μοτίβα κοινά συνένζυμα Μεταβολισμός κεφαλαίο 14)



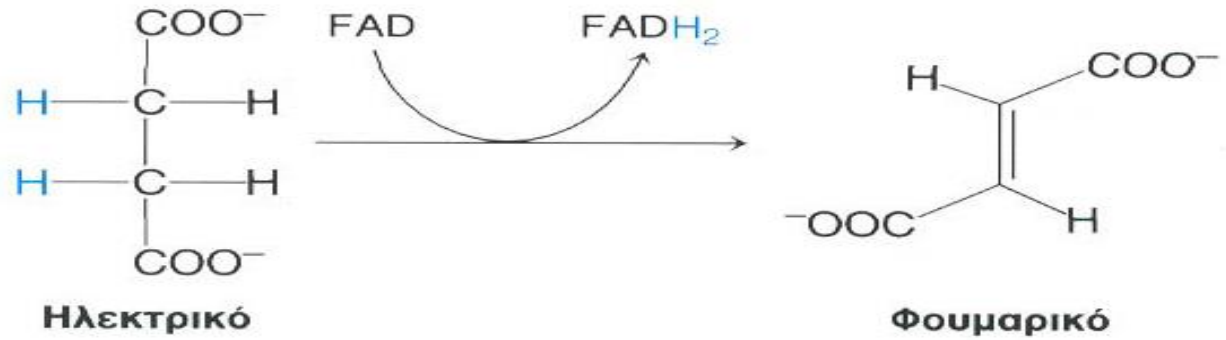
**ΒΗΜΑ 5: συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA->ηλεκτρικό οξύ**



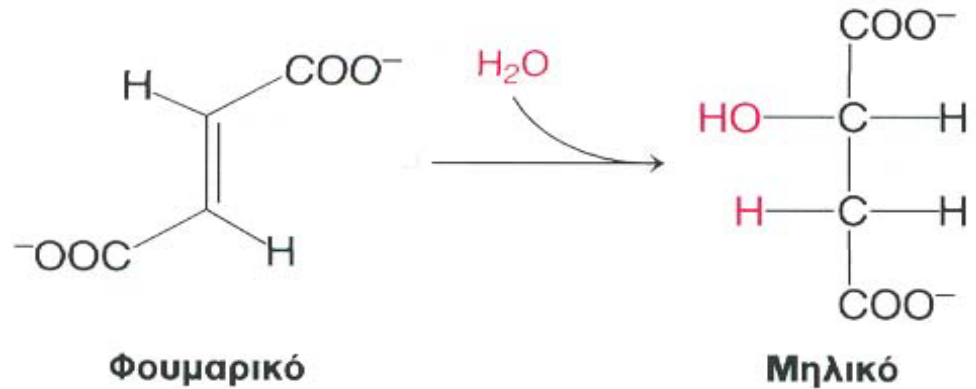
Το ηλεκτρυλο-CoA με  $\Delta G^0$  -8Kcal συγκρίνεται με το ATP ( $\Delta G^0$  -7,3 Kcal), παράδειγμα μετασχηματισμού ενέργειας. Στα θηλαστικά, μερικές συνθετάσες του ηλεκτρυλο-CoA είναι εξειδικευμένες για GDP ενώ άλλες για ADP. Στο βακτήριο *E. coli* το ένζυμο χρησιμοποιεί και τα δυο



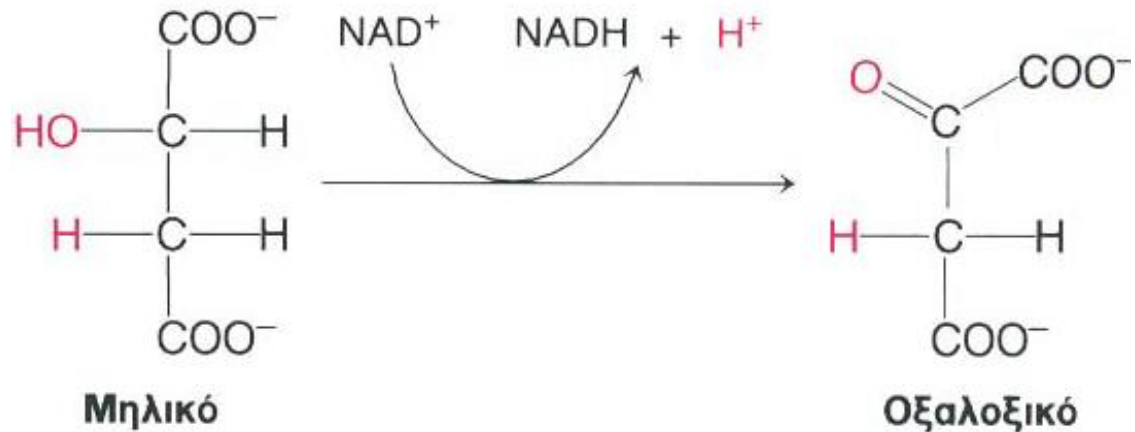
**ΒΗΜΑ 6: ηλεκτρική  
αφυδρογόνωση->φουμαρικό οξύ**



**ΒΗΜΑ 7:φουμαράση->  
L-μηλικό οξύ**



**ΒΗΜΑ 8:μηλική  
αφυδρογόνωση->  
οξαλικό οξύ**



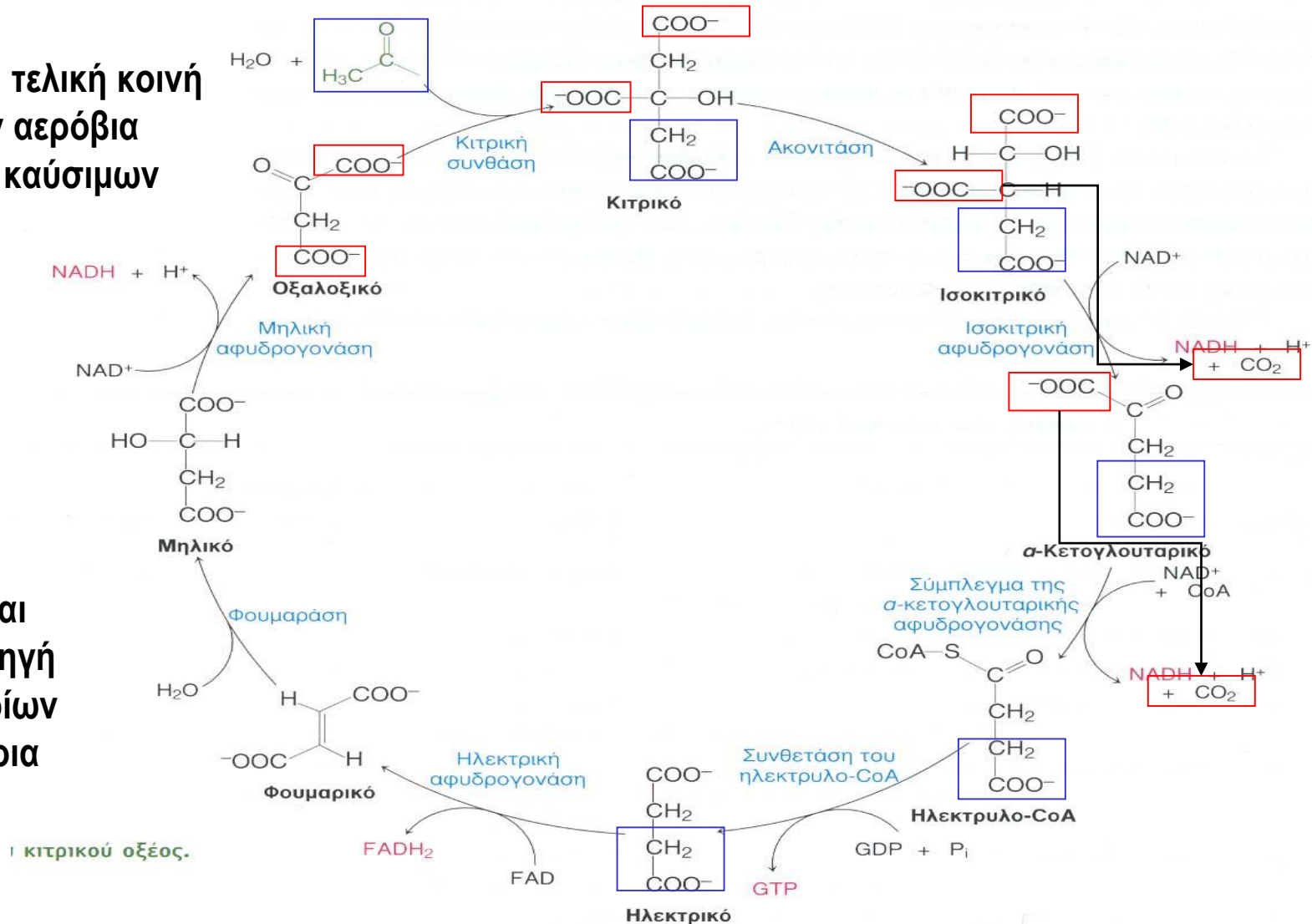
**ΠΙΝΑΚΑΣ 17.2** Ο κύκλος του κιτρικού οξέος.

Βήμα	Αντίδραση	Ένζυμο	Προσθετική ομάδα	Τύπος*	$\Delta G^{\circ}$	
					$\text{kcal mol}^{-1}$	$\text{kJ mol}^{-1}$
1	$\text{Ακετυλο-CoA} + \text{οξαλικό} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{κιτρικό} + \text{CoA} + \text{H}^+$	Κιτρική συνθάση		α	-7,5	-31,4
2α	$\text{Κιτρικό} \rightleftharpoons \text{cis-ακονιτικό} + \text{H}_2\text{O}$	Ακοτινάση	Fe-S	β	+2,0	+8,4
2β	$\text{cis-Ακονιτικό} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ισοκιτρικό}$	Ακοτινάση	Fe-S	γ	-0,5	-2,1
3	$\text{Ισοκιτρικό} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \alpha\text{-κετογλουταρικό} + \text{CO}_2 + \text{NADH}$	Ισοκιτρική αφυδρογονάση		δ + ε	-2,0	-8,4
4	$\alpha\text{-Κετογλουταρικό} + \text{NAD}^+ + \text{CoA} \rightleftharpoons \text{ηλεκτρυλο-CoA} + \text{CO}_2 + \text{NADH}$	Σύμπλεγμα της $\alpha$ -κετογλουταρικής αφυδρογονάσης	Λιποϊκό οξύ, FAD, TPP	δ + ε	-7,2	-30,1
5	$\text{Ηλεκτρυλο-CoA} + \text{P}_i + \text{GDP} \rightleftharpoons \text{ηλεκτρικό} + \text{GTP} + \text{CoA}$	Συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA		στ	-0,8	-3,3
6	$\text{Ηλεκτρικό} + \text{FAD} \text{ (ενωμένο με το ένζυμο)} \rightleftharpoons \text{φουμαρικό} + \text{FADH}_2 \text{ (ενωμένο με το ένζυμο)}$	Ηλεκτρική αφυδρογονάση	FAD, Fe-S	ε	~0	0
7	$\text{Φουμαρικό} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{L-μηλικό}$	Φουμαράση		γ	-0,9	-3,8
8	$\text{L-Μηλικό} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{οξαλικό} + \text{NADH} + \text{H}^+$	Μηλική αφυδρογονάση		ε	+7,1	+29,7

\*Τύπος αντίδρασης: (α) συμπύκνωση· (β) αφυδάτωση· (γ) ενυδάτωση· (δ) αποκαρβοξυλίωση· (ε) οξείδωση· (στ) φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος.

Ο κύκλος είναι τελική κοινή πορεία για την αερόβια οξείδωση των καύσιμων μορίων

Ο κύκλος είναι σημαντική πηγή δομικών μορίων για τα βιομόρια



↑ κιτρικού οξέος.



Ολικό όφελος περίπου 10 μόρια ATP

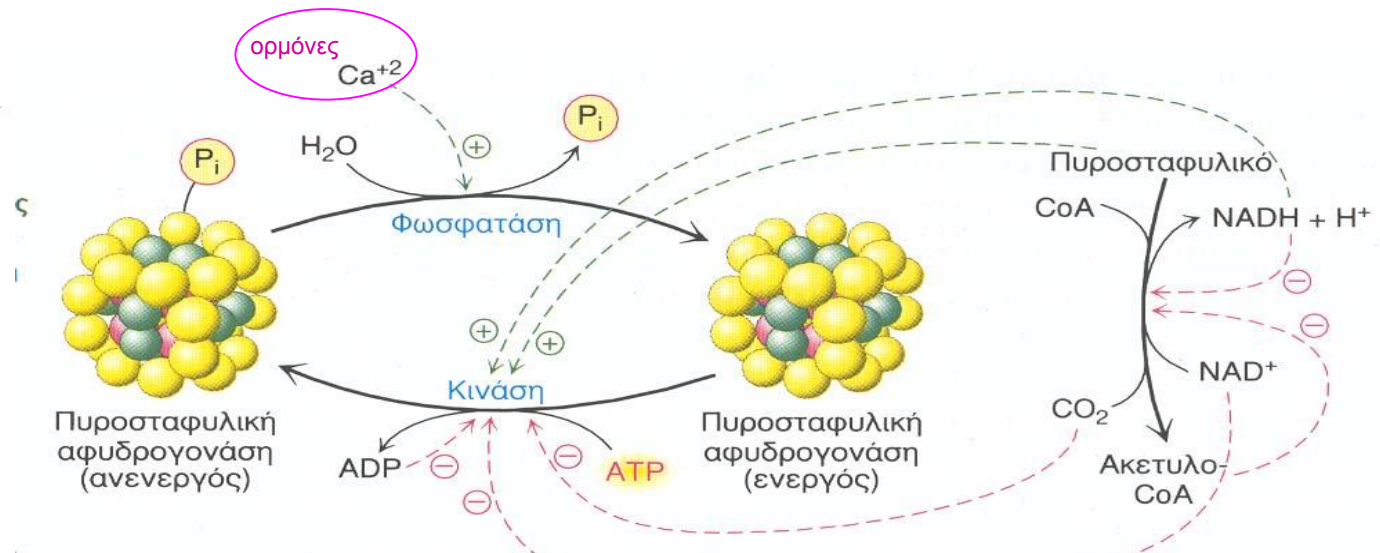
NADH~2,5 μόρια ATP FADH ~2,5 μόρια ATP

# Πολλά χρήσιμα ενδιάμεσα έτσι, ο κύκλος ελέγχεται σε αρκετά στάδια

Σύμπλεγμα πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης αλλοστερικά (πρώτο βήμα ενεργοποίηση του κύκλου αντιδρώντα) σχηματισμός του ακετυλο-CoA είναι ένα μη αντιστρεπτό βήμα και τα ζώα δεν μπορούν να μετατρέψουν το ακετυλο-CoA ξανά σε γλυκόζη

## Ελέγχεται με αρκετούς τρόπους (μόρια)

**Ac-CoA** αναστέλλει την E<sub>2</sub> **NADH** αναστέλλει την E<sub>3</sub> και κυρίως με ομοιοπολική τροποποίηση της E<sub>1</sub>



Πολλά μικρά μόρια αντί να αναστέλλουν το ένζυμο αναστέλλουν την κινάση που αν αναστέλλει το ένζυμο

... αναστολή όταν έχουμε υψηλό ενεργειακό φορτίο και άφθονα βιοσυνθετικά ενδιάμεσα και

...επανενεργοποίηση από **ορμόνες** που οδηγούν σε αύξηση των επιπέδων Ca<sup>2+</sup> του κυτοσολίου-> αύξηση στο επίπεδο του μιτοχονδριακού Ca<sup>2+</sup>.



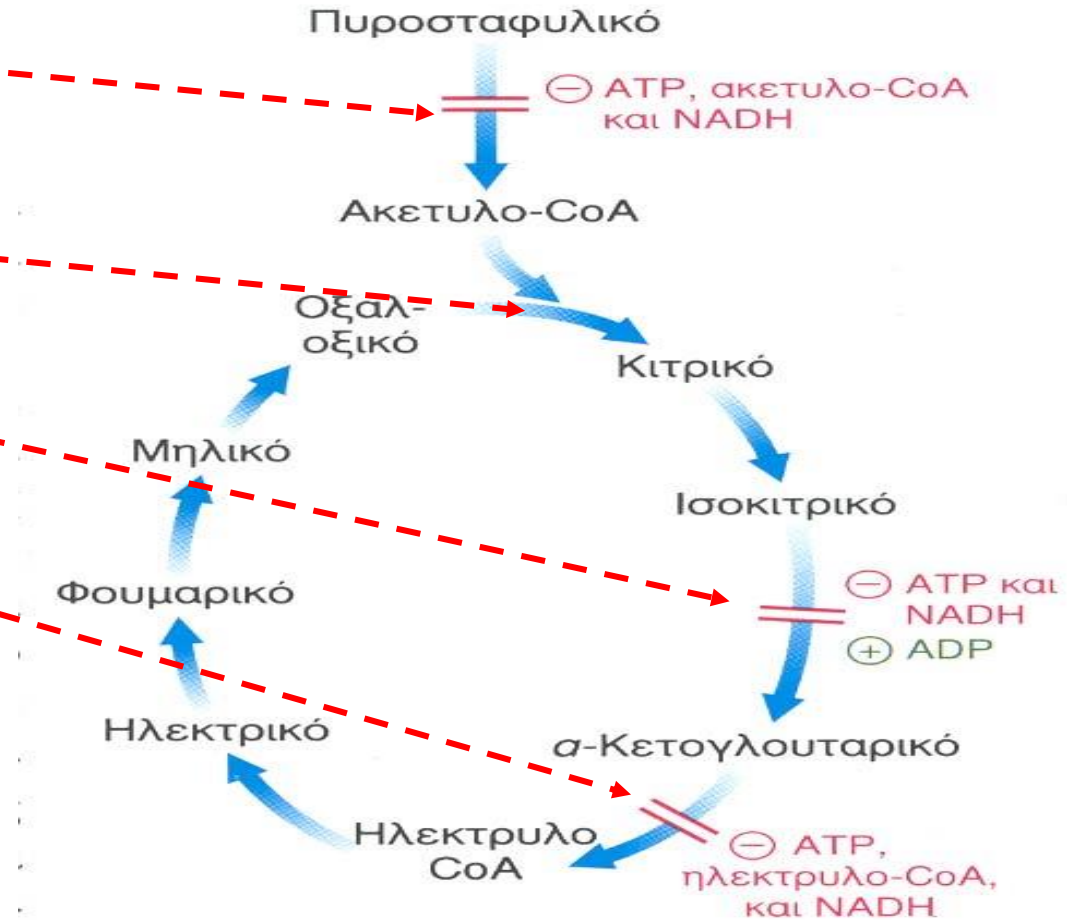
Σημεία ελέγχου εντός του κύκλου είναι

Πυροσταφυλική αφυδρογονάση

Κιτρική συνθάση

Ισοκιτρική αφυδρογονάση

$\alpha$ -κετογλουταρική αφυδρογονάση...



πάνω από ένα και ελέγχονται με τον ίδιο τρόπο (ATP, NADH), γιατί; υπάρχουν πολλά σημεία εισόδου τα οποία δεν φαίνονται στο σχήμα Ο κύκλος μπορεί να μειώσει και ταχύτητα

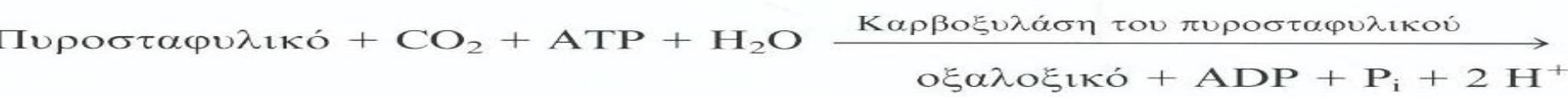
Ο κύκλος προμηθεύει ενδιάμεσες ενώσεις για τις βιοσυνθέσεις

Πορφυρίνες από ηλεκτρυλο-CoA

Αμινοξέα από  $\alpha$ -κετογλουταρικό και οξαλοξικό



Τι συμβαίνει αν κάποιιο ενδιάμεσο του κύκλου υπάρχει σε περίσσια σε σχέση με κάποιιο άλλο π.χ. οξαλοξικό (ένα οξαλοξικό + ένα Ac-CoA για να γίνει το πρώτο βήμα); Πώς αναπληρώνεται (μάλλον);



Αναπληρωματική αντίδραση -Πυροσταφυλικό --> Οξαλοξικό = 1<sup>ο</sup> βήμα της πορείας της γλυκονεογένεση  
 Ενεργό μόνο παρουσία Ac-CoA που δηλώνει ανάγκη για περισσότερο οξαλοξικό



## Νόσος μπέρι-μπέρι (παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με τον ΚΚΟ)

οφείλεται στη διαιτητική έλλειψη θειαμίνης  
(βιταμίνη  $B_1$  ή TTP ενδιάμεσο στο πρωτο βημα του ΚΚΟ)  
συνένζυμο της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (χαμηλές ποσότητες στο ρύζι)

Παρατηρείται σε λαούς της Άπω Ανατολής εξαιτίας της στίλβωσης (άλεσμα) του ρυζιού, το οποίο αφαιρεί την θειαμίνη που βρίσκεται κυρίως στην φλούδα.

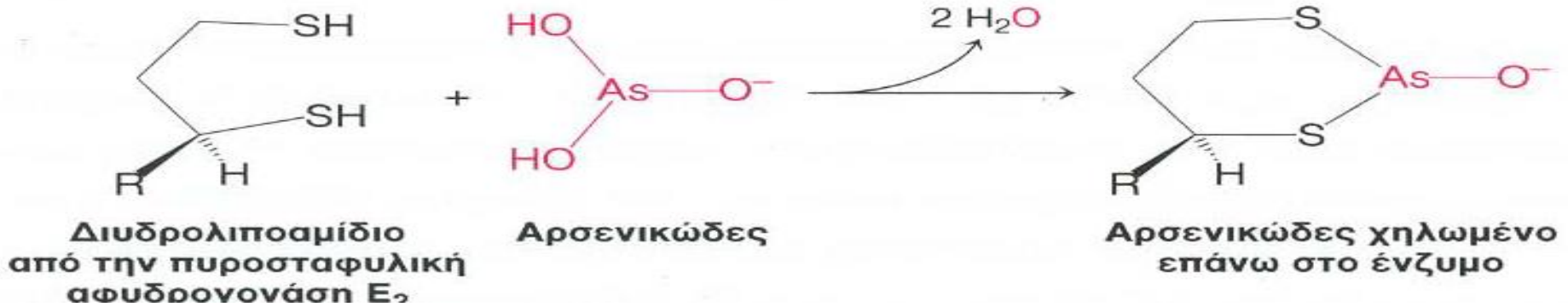
διορθώνεται μερικώς με εμφάπτιση σε νερό πριν το άλεσμα, το οποίο επιτρέπει στην θειαμίνη που είναι μερικώς υδροδιαλυτή, να διηθηθεί μέσα στην ψίχα του ρυζιού



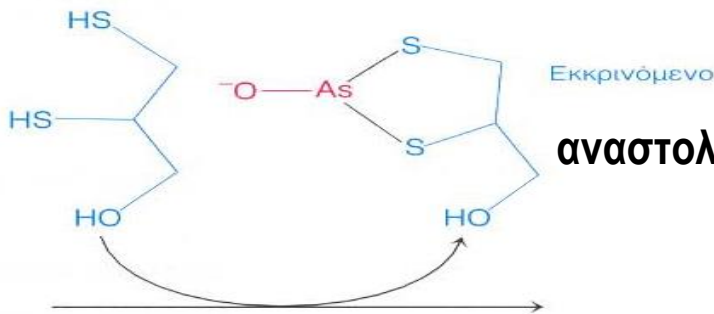
# Βιοχημική εξήγηση (μηχανισμός) της νόσου μπέρι-μπέρι

Συμπτώματα παρόμοια με την νόσο μπέρι-μπέρι, δηλητηριάσεις από υδράργυρο και αρσενικό οφείλονται

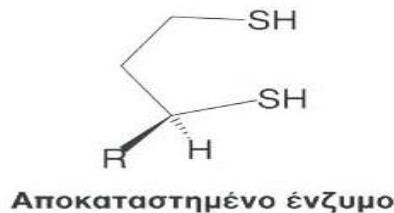
στην πρόσδεσή τους στις διυδρολιποάμιδο ομάδες συνένζυμο της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης



2,3-Διμερκαπτοπροπανόλη (BAL)



αναστολή της δράσης τους ==> **διαταραχές νευρικού συστήματος**



νευρικές διαταραχές (εξήγηση;) γλυκόλυση γίνεται το κύριο καύσιμο (παραγωγή γαλακτικού) Χαμηλή καρδιακή απόδοση (εξήγηση;) κύριο καύσιμο το κιτρικό