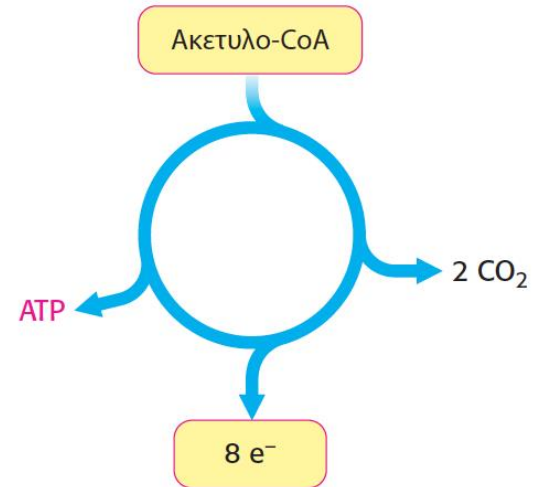


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 17

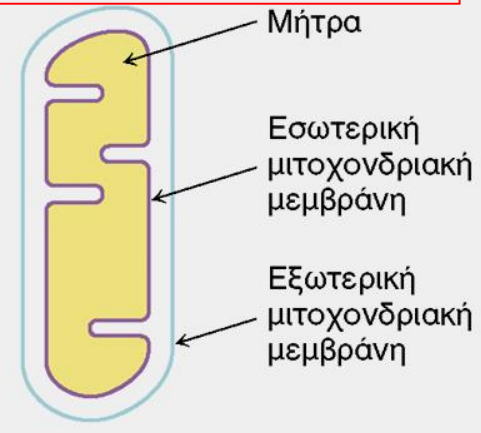
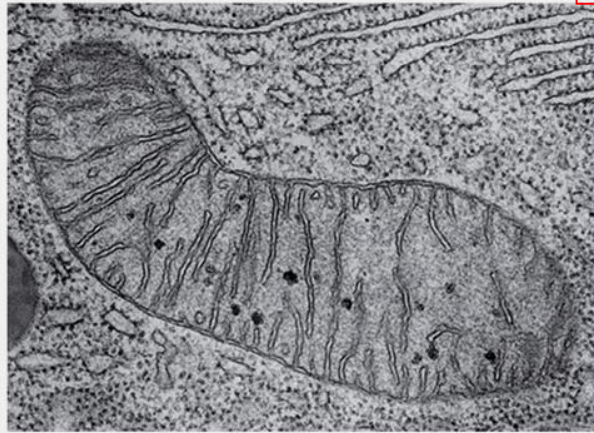
Κύκλος Κιτρικού Οξέος



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. [(Αριστερά)Lynn Saville/Getty Images.]

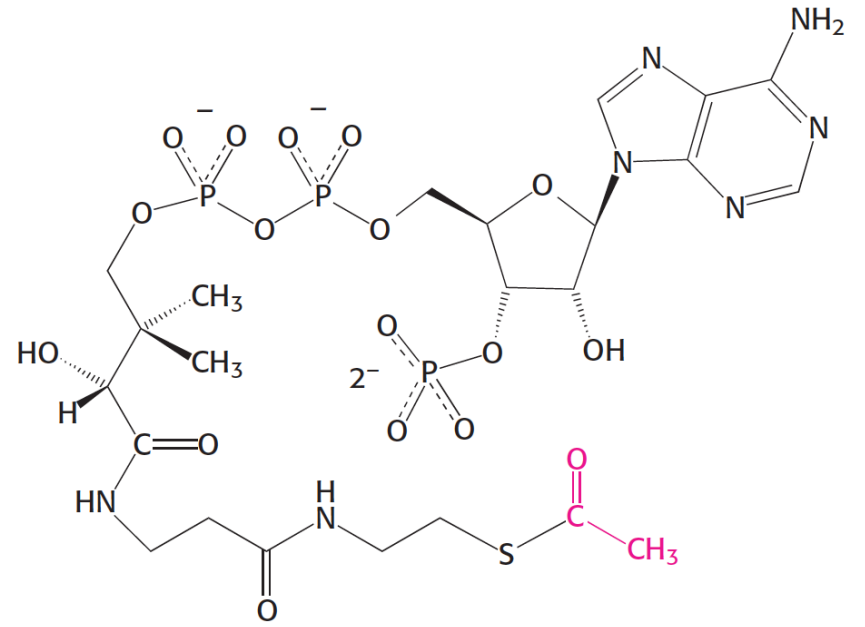
Ο κύκλος κιτρικού οξέος (ΚΚΟ) ή τρικαρβοξυλικού οξέος ή Krebs

ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ στη 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)

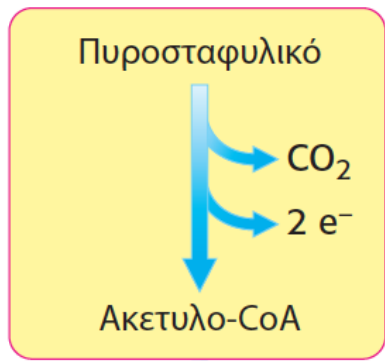
Τελική κοινή πορεία για την οξείδωση των καύσιμων οργανικών μορίων σαν ακετυλ-CoA

Ο ΚΚΟ αποτελεί την συνέχεια της γλυκόλυσης

Γλυκόζη

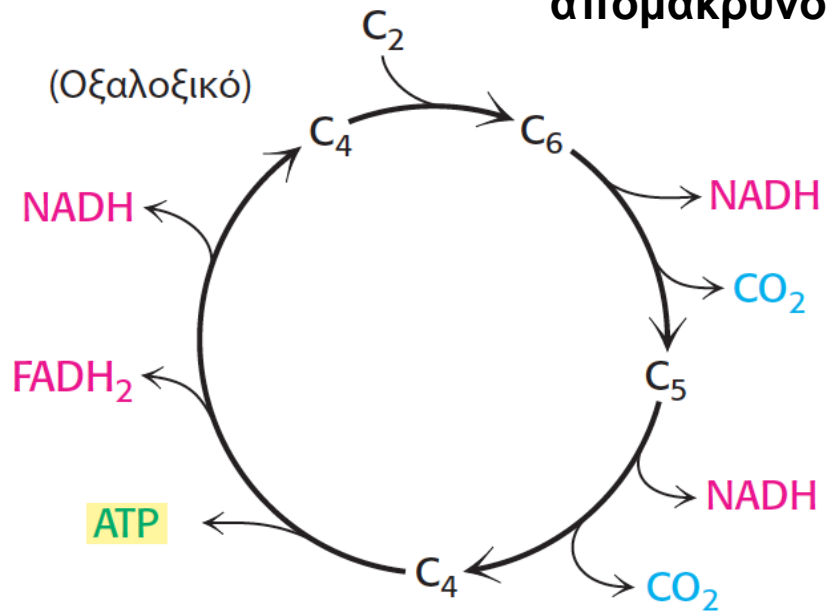


Γλυκόλυση

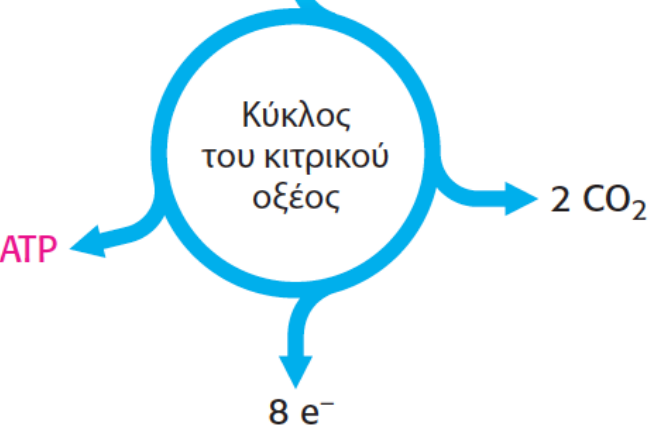


Η αντίδραση πυροσταφυλικό προς Ακέτυλο-CoA (μη αντιστρεπτή) συνδέει τη γλυκόλυση και τον ΚΚΟ (μη αντιστρεπτές αντιδράσεις επιλέγονται και σαν σημεία ελέγχου)

Η δράση του οξαλοξικού (C₄) είναι καταλυτική, δυο άτομα εισέρχονται σαν CH₃CO- και δυο μόρια CO₂ απομακρύνονται



Εικόνα 17.2 Συνοπτική παρουσίαση του κύκλου του κιτρικού οξέος. Ο κύκλος του κιτρικού οξέος οξειδώνει μονάδες δύο ατόμων άνθρακα, παράγοντας δύο μόρια CO₂, ένα μόριο GTP και ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας στη μορφή του NADH και του FADH₂.



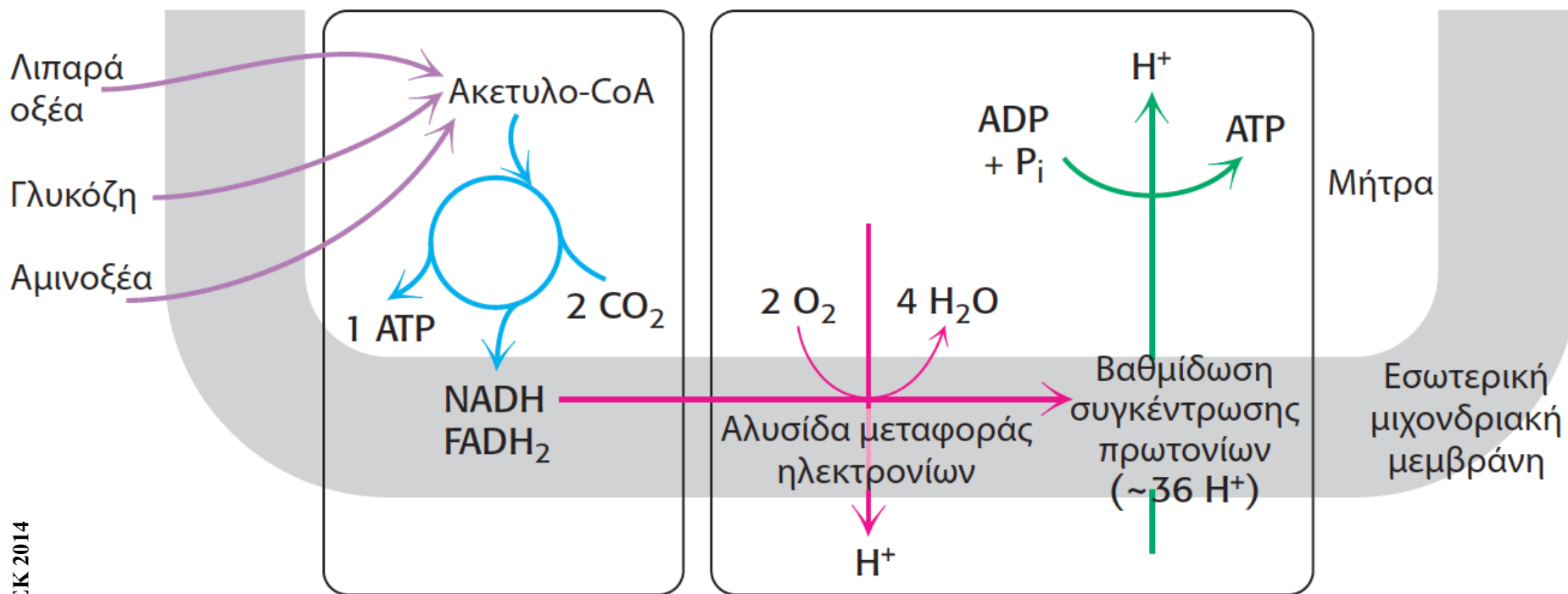
Οξείδωση = χάσιμο e (υψηλής ενέργειας) ==> οξείδωση CH₃CO προς 2CO₂ ==> 8e⁻
 3xH⁺ (NAD⁺ → NADH) + 2xH (FAD → FADH₂)

Ο ΚΚΟ πάντα συνδεδεμένος και συζευγμένος με Οξειδωτική Φωσφορυλίωση συγκομιδή ε υψηλής ενέργειας από καύσιμα οργανικά μόρια στα μόρια NADH και FADH₂

οξειδωτική φωσφορυλίωση τα μόρια NADH και FADH₂ επανοξειδώνονται
και παράγουν ιόντα H⁺ (προϊόντα) στη μια πλευρά της μεμβράνης

Λόγω της διαφοράς συγκέντρωσης πρωτονίων δημιουργείται ATP

ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ



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

Το πυροσταφυλικό υπό αερόβιες συνθήκες μεταφέρεται στα μιτοχόνδρια σε ανταλλαγή με OH^- και αποκαρβοξυλιώνεται ...



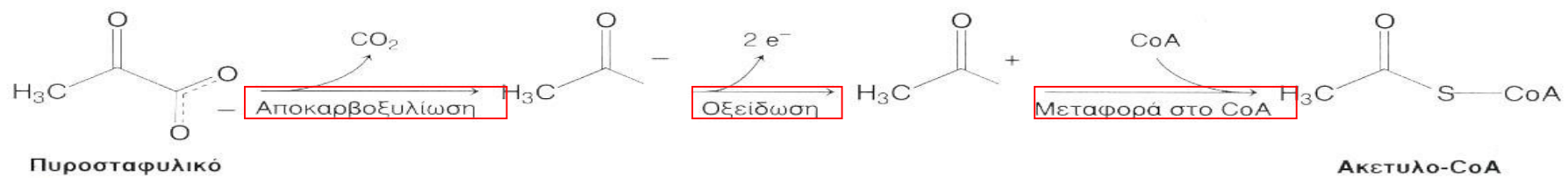
Εως εδώ 20/3/19

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

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

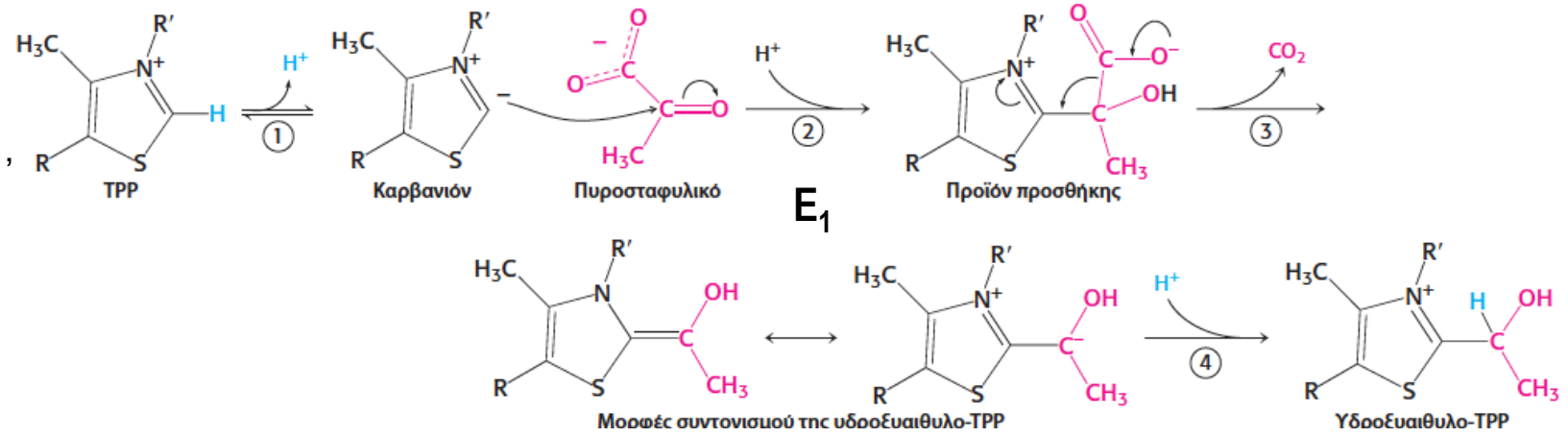
Ένζυμο	Συντομογραφία	Αριθμός αλυσίδων	Προσθετική ομάδα	Αντίδραση που καταλύεται
Συνιστώσα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης	E ₁	24	TPP	Οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού
Διυδρολιπούλο-τρανσακετυλάση	E ₂	24	Λιποαμίδιο	Μεταφορά της ακετυλικής ομάδας στο CoA
Διυδρολιπούλο-αφυδρογονάση	E ₃	12	FAD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

...σε τρία βήματα:

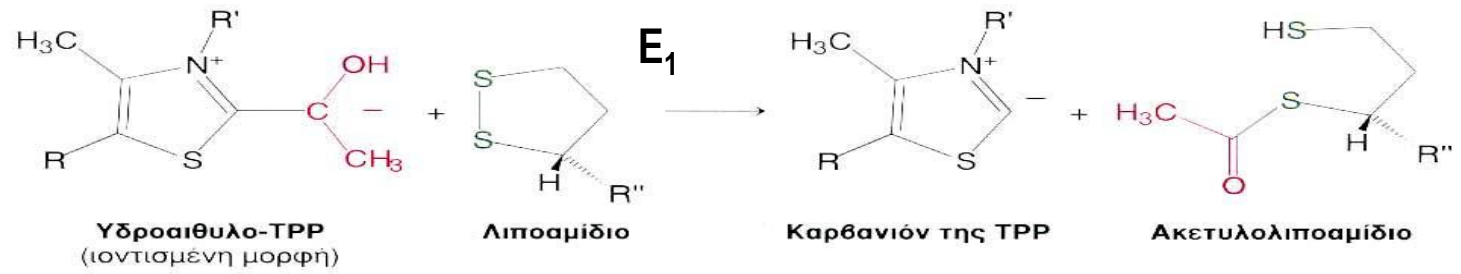


... αλλά αυτά τα βήματα πρέπει να συνενωθούν (σύζευξη) για να εκμεταλλευτούμε την ελεύθερη ενέργεια που αποκτάται στο βήμα της αποκαρβοξυλίωσης

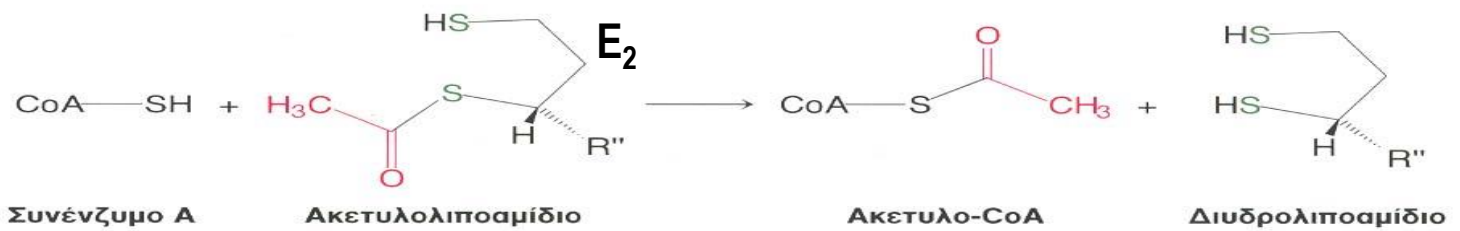
ΒΗΜΑ 1
 Νουκλεόφιλο, (+)-φιλο



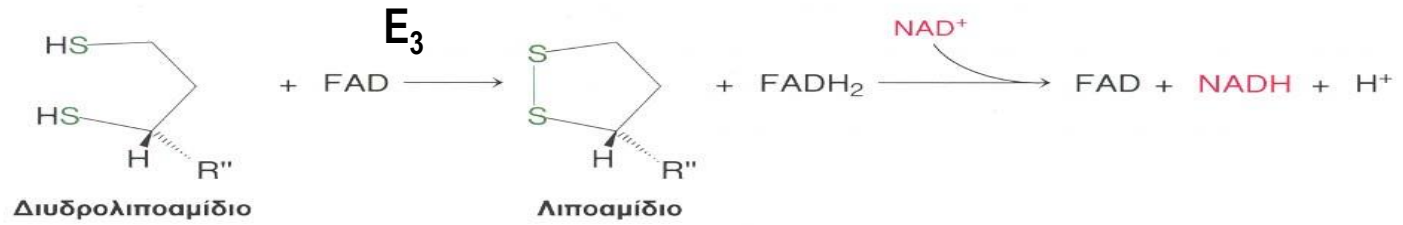
ΒΗΜΑ 2
 Προετοιμασία
 Ενεργοποίηση
 υποστρώματος

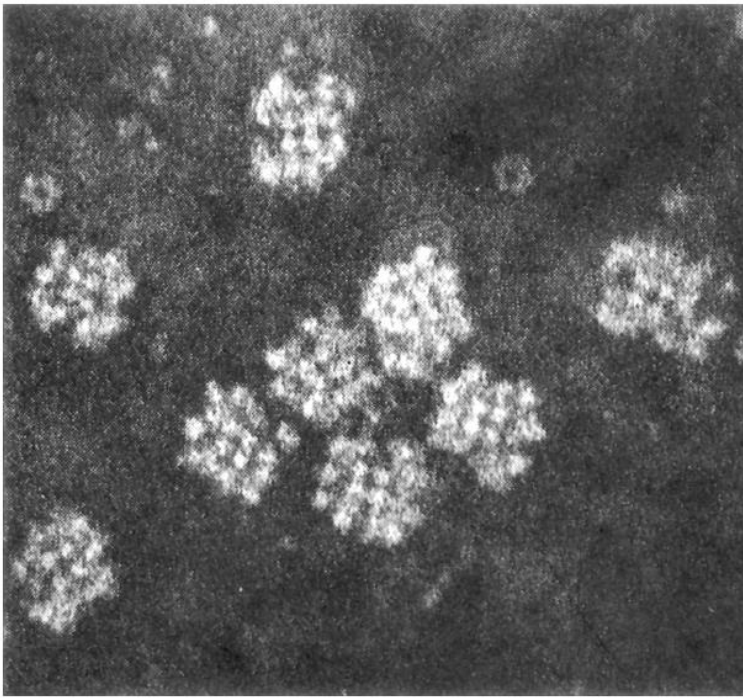


ΒΗΜΑ 3
 Μεταφορά H'
 Οξείδωση CH₃CO



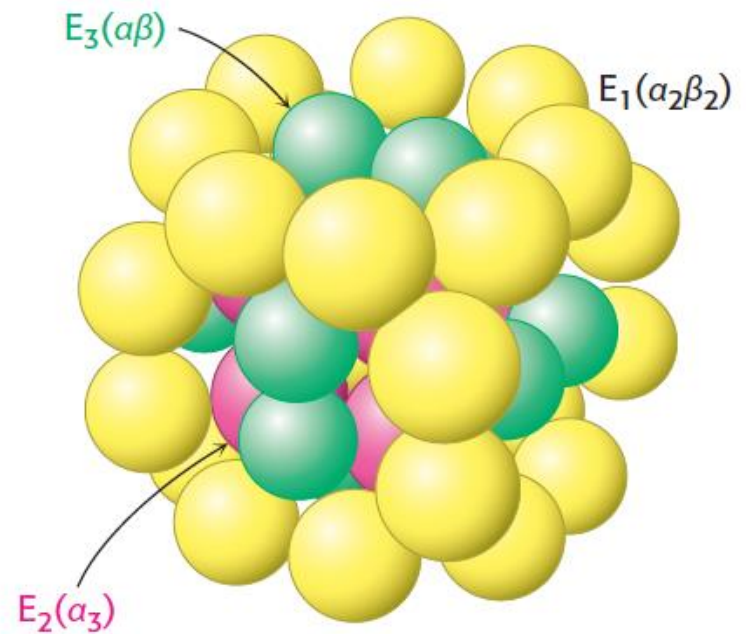
ΒΗΜΑ 4
 Μεταφορά H'
 Οξείδωση
 διυδρολιποαμίδιο





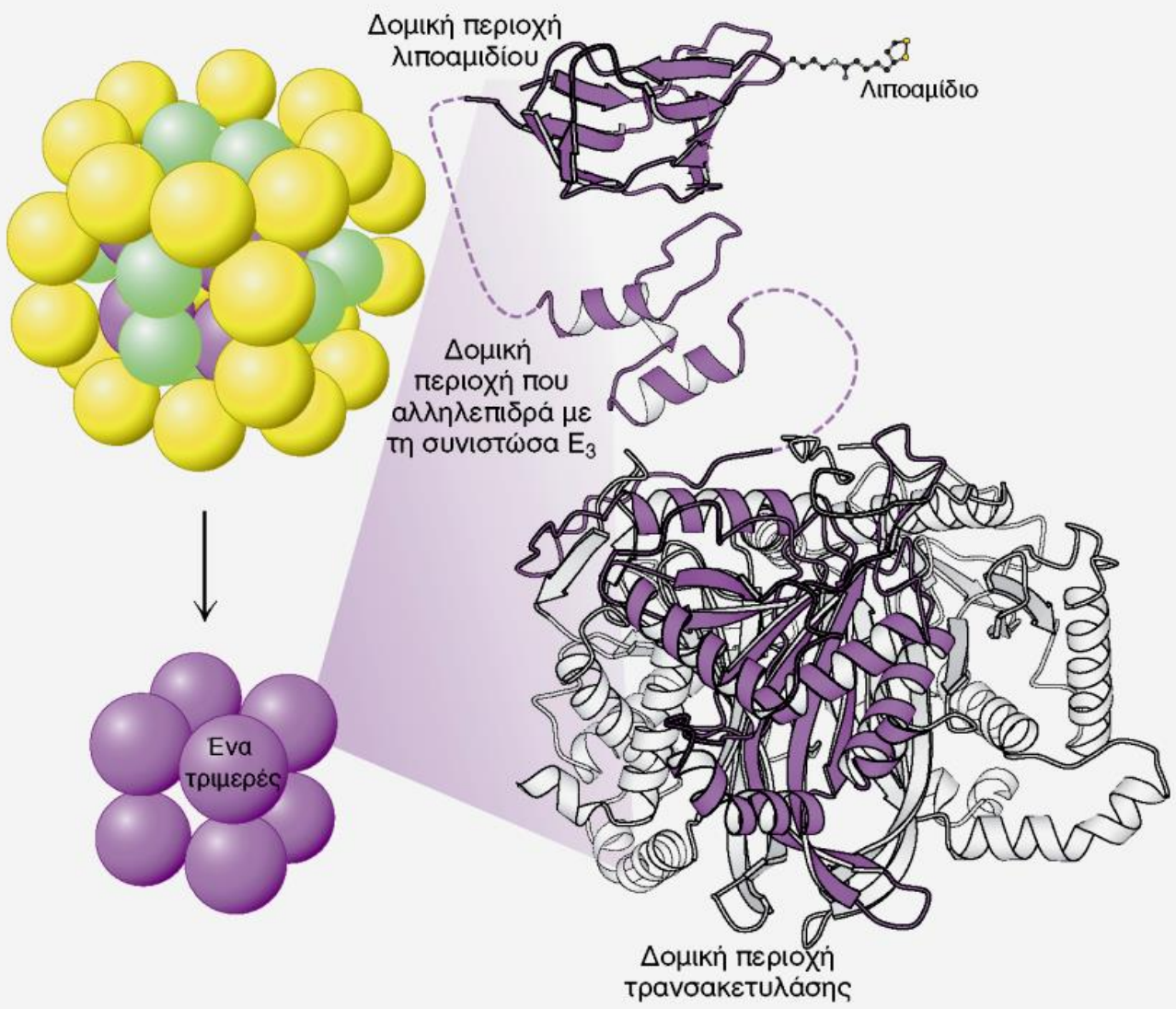
Εικόνα 17.5 Ηλεκτρονιομικρογραφία του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης από την *E. coli*. [Ευγενική προσφορά Dr. Lester Reed.]

Συντονισμένη κατάλυση από ένα σύμπλεγμα ενζύμων (4-10 εκατ. dalton) καθιστά δυνατή τη συντονισμένη κατάλυση μιας σύνθετης αντίδρασης



ΕΙΚΟΝΑ 17.7 Σχηματική αναπαράσταση του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης. Ο πυρήνας της τρανσακετυλάσης (E_2) φαίνεται με κόκκινο, η συνιστώσα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (E_1) με κίτρινο και η διυδρολιποϋλο-αφυδρογονάση (E_3) με πράσινο.

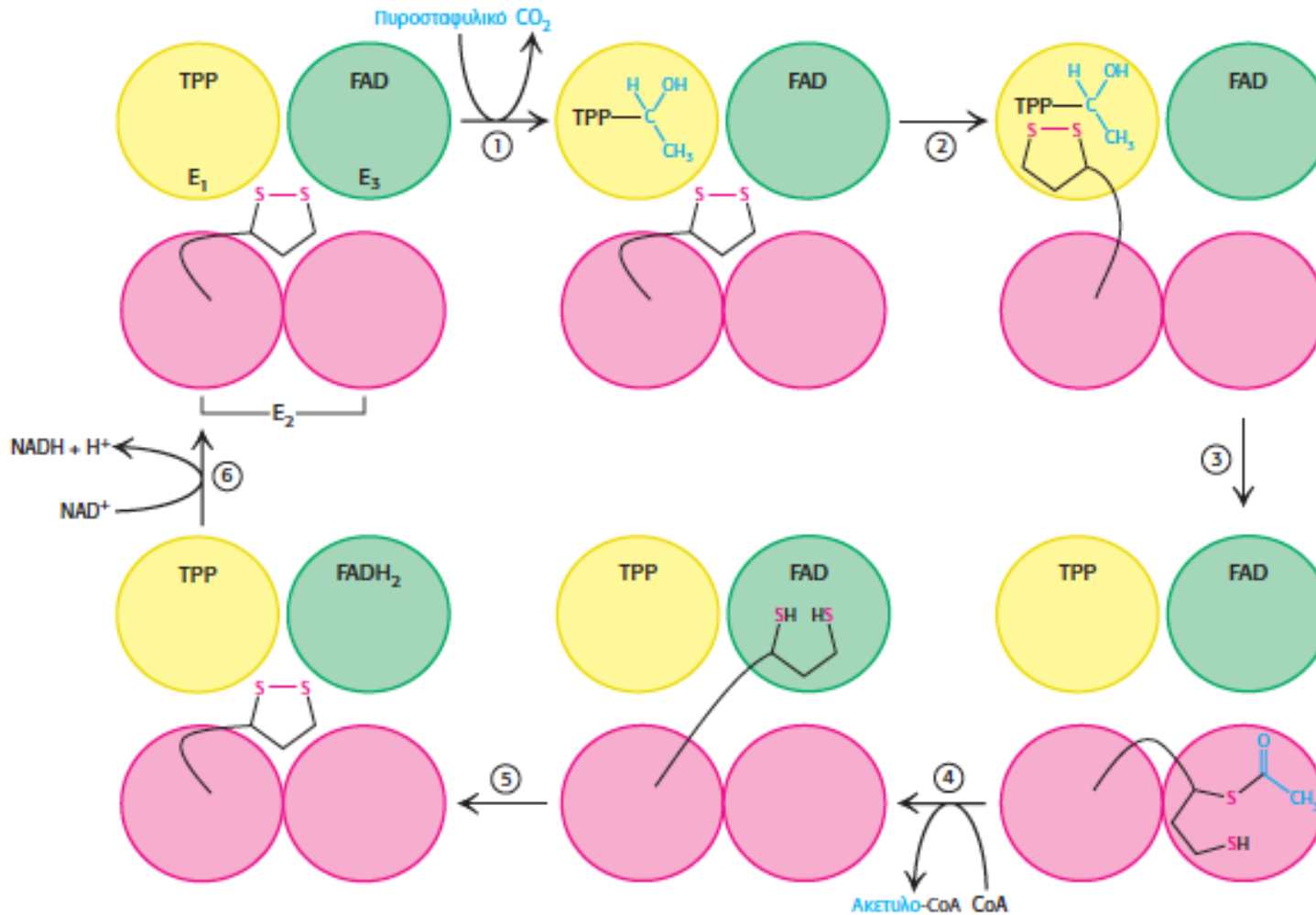
αυξάνεται η ταχύτητά της και ελαχιστοποιούνται οι παράπλευρες αντιδράσεις.



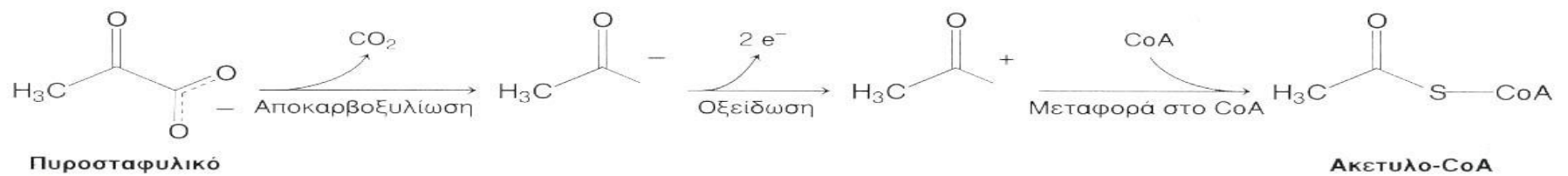
ΕΙΚΟΝΑ 17.8 Δομή του πυρήνα της τρανσακετυλάσης (E_2). Κάθε κόκκινη σφαίρα αντιπροσωπεύει ένα τριμερές από τρεις υπομονάδες E_2 . Κάθε υπομονάδα αποτελείται από τρεις δομικές περιοχές: μια περιοχή πρόσδεσης λιποαμίδιου, μια μικρή περιοχή για την αλληλεπίδραση με την E_3 και μια μεγάλη καταλυτική περιοχή 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 τρανσακετυλάσης (E_2). Κάθε σφαίρα αντιπροσωπεύει ένα τριμερές ($3 \times E_2$)

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

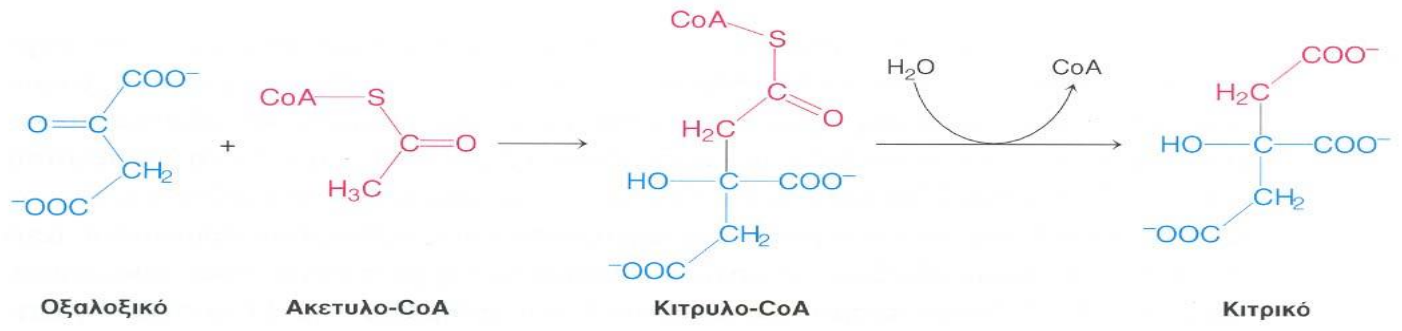


Μεταφορά της CH₃-CO- ομάδας μέσω καναλιών με διάμετρο 30 Å



Κύκλος του κιτρικού

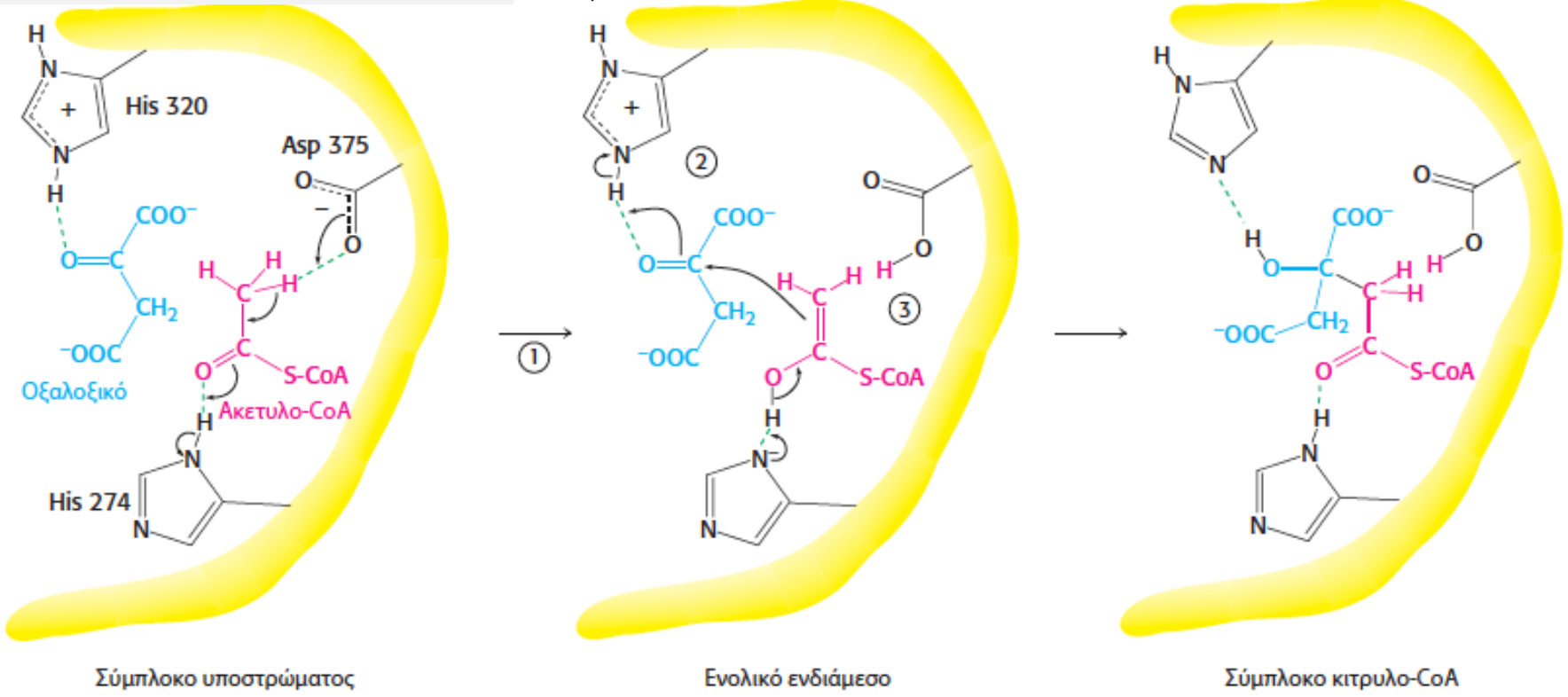
ΒΗΜΑ 1 κιτρική συνθάση > σύνθεση κιτρικού οξέος



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

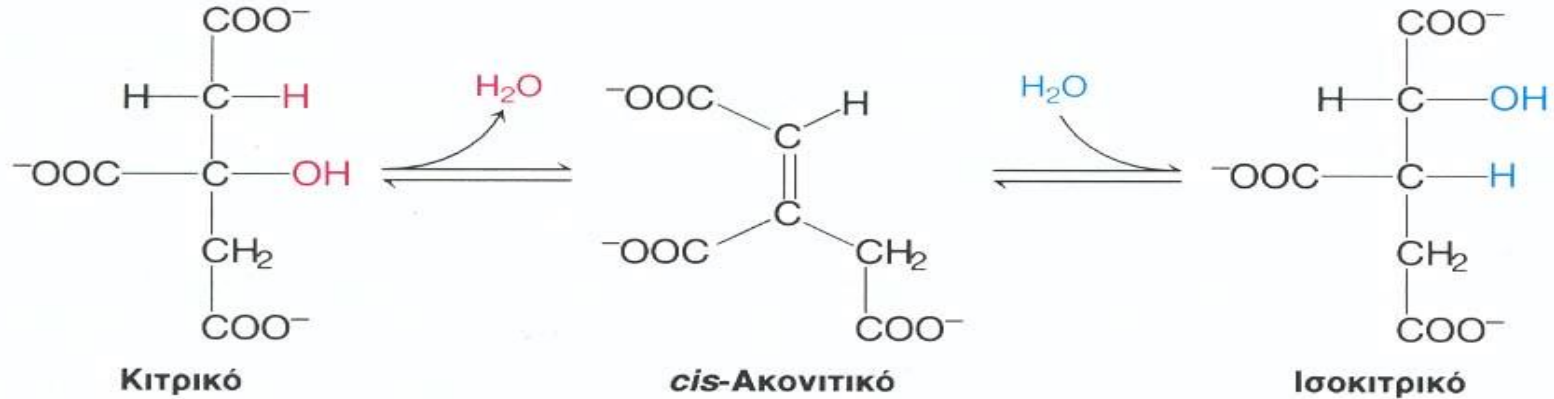
Πώς η κιτρική συνθάση **εμποδίζει** τις άχρηστες πορείες όπως η υδρόλυση του **ακετυλο-CoA**;

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

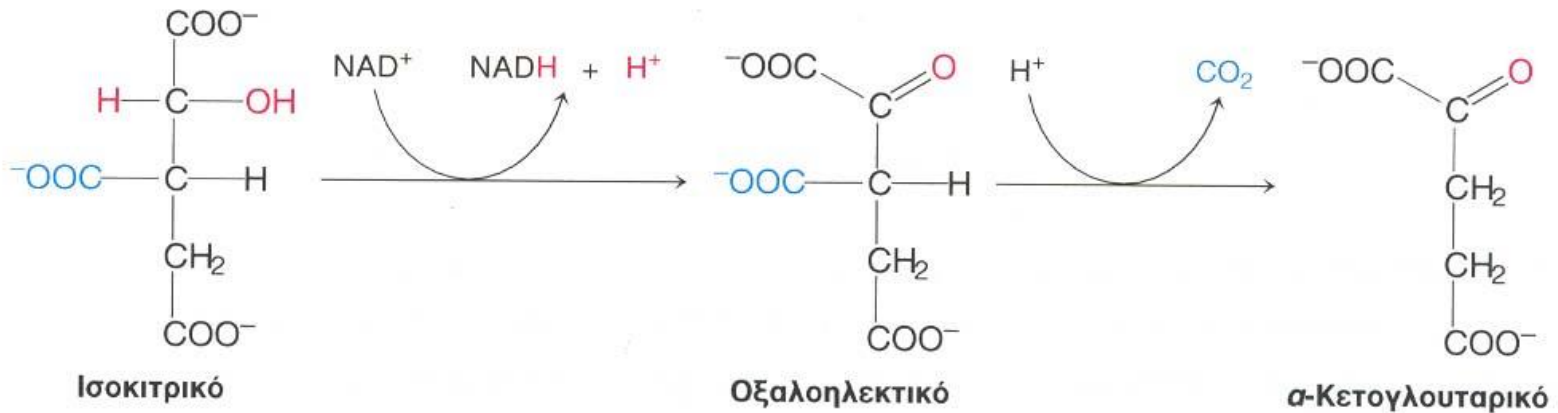


ΒΗΜΑ 2: ακονιτάση->ισομερείωση -> ισοκιτρικό οξύ

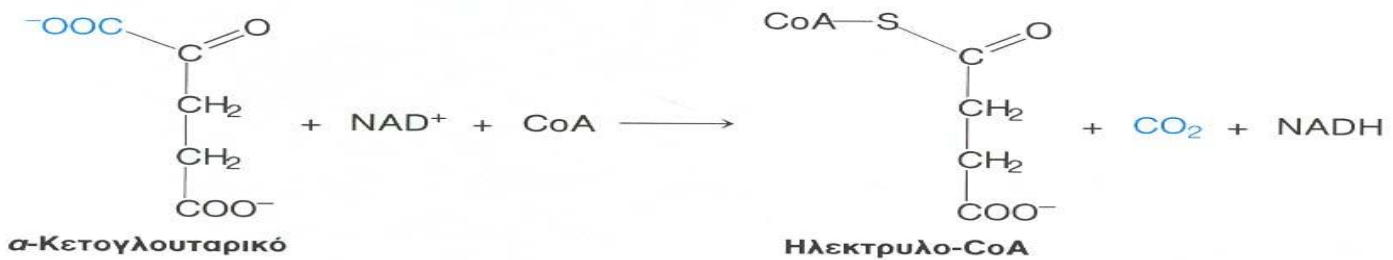
Η υδροξυλική ομάδα δεν είναι κατάλληλα τοποθετημένη για οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση



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



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



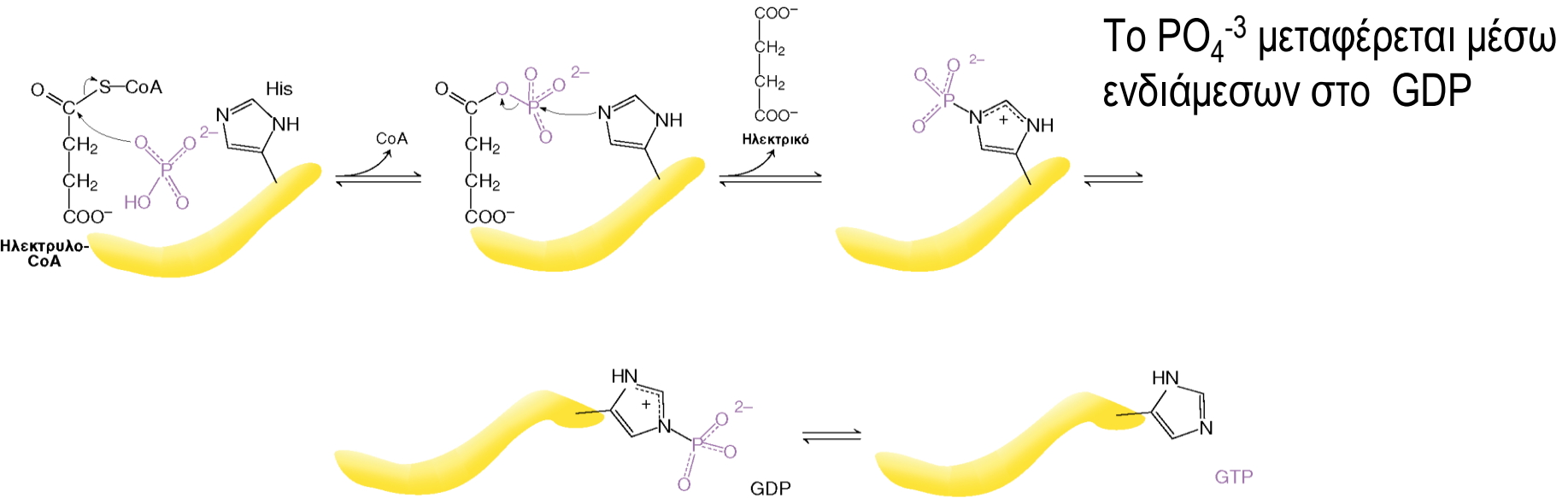
Μοιάζει με τον μηχανισμό στην αρχή του κύκλου (κοινά μοτίβα κοινά συνένζυμα Μεταβολισμός κεφαλαίο 14)



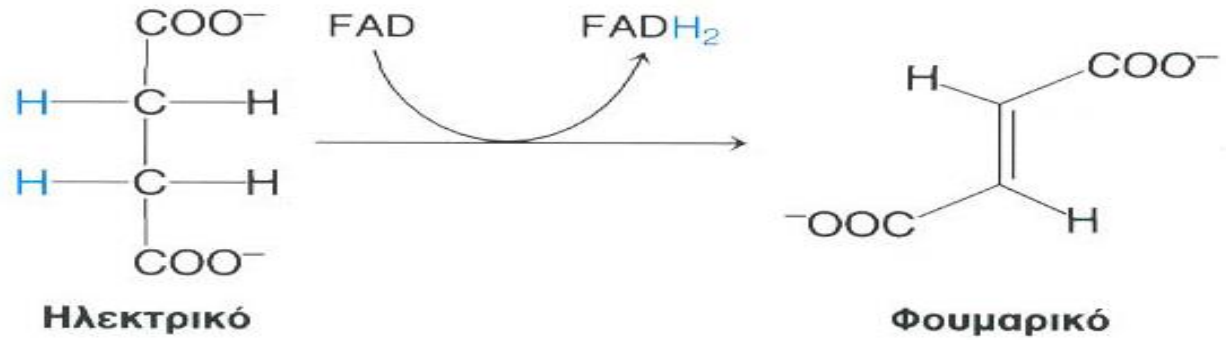
ΒΗΜΑ 5: συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA->ηλεκτρικό οξύ



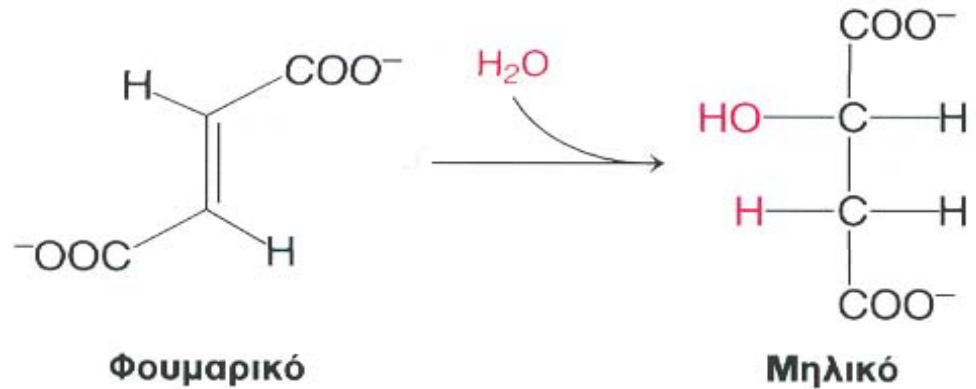
Το ηλεκτρυλο-CoA με $\Delta G^0 -8\text{Kcal}$ συγκρίνεται με το ATP ($\Delta G^0 -7,3\text{Kcal}$), παράδειγμα μετασχηματισμού ενέργειας. Στα θηλαστικά, μερικές συνθετάσες του ηλεκτρυλο-CoA είναι εξειδικευμένες για GDP ενώ άλλες για ADP. Στο βακτήριο *E. coli* το ένζυμο χρησιμοποιεί και τα δυο



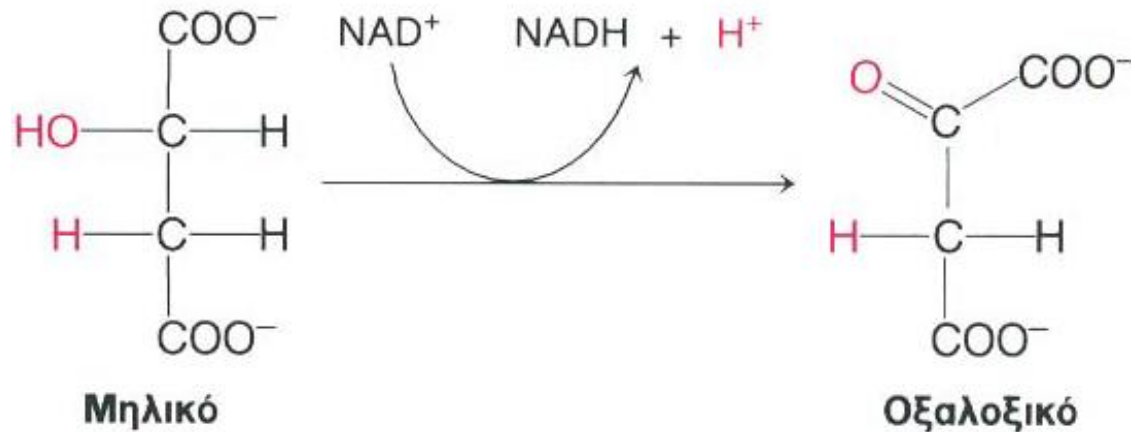
**ΒΗΜΑ 6: ηλεκτρική
αφυδρογόνωση->φουμαρικό οξύ**



**ΒΗΜΑ 7:φουμαράση->
L-μηλικό οξύ**



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



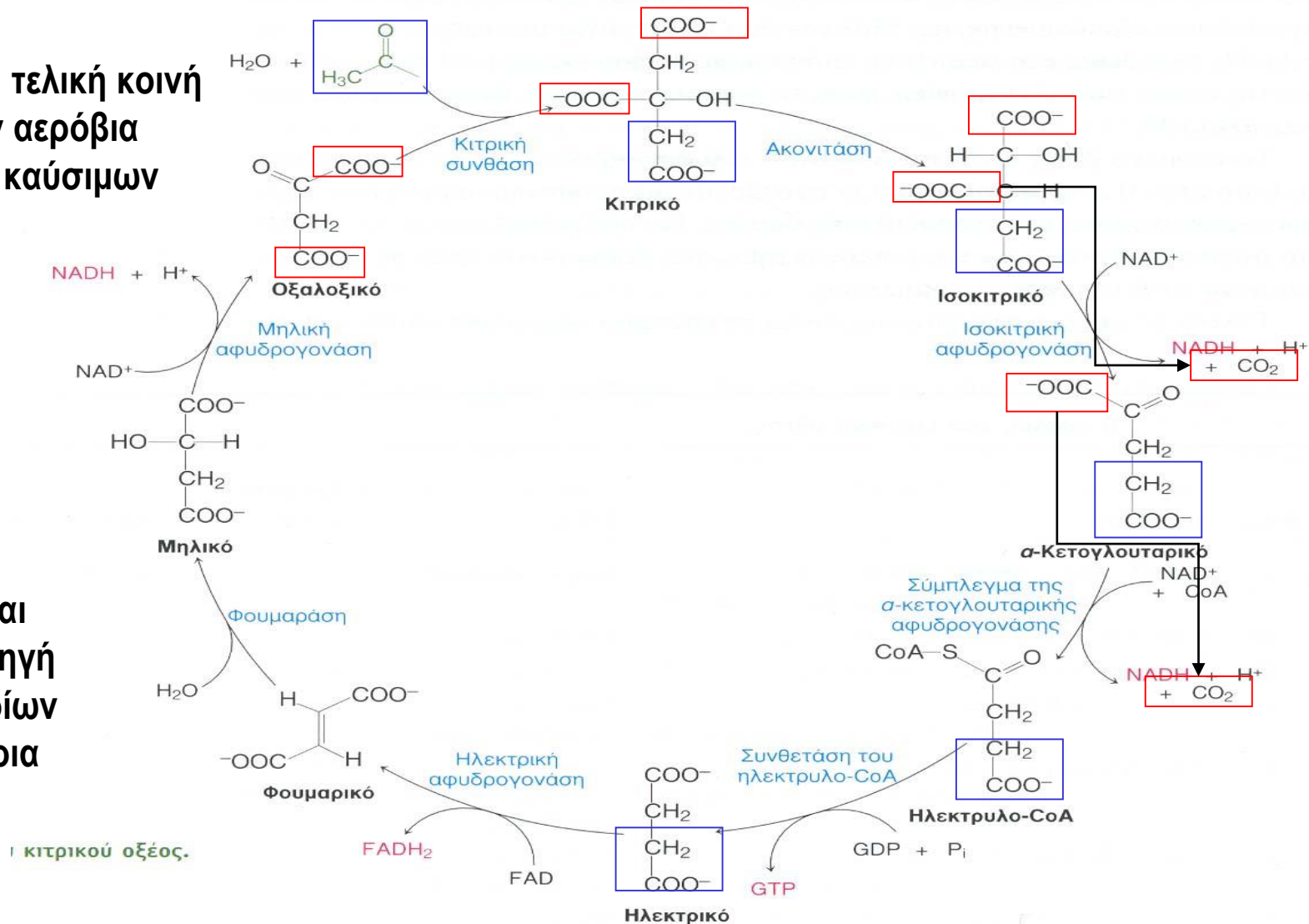
Πίνακας 17.2 Ο κύκλος του κιτρικού οξέος

Βήμα	Αντίδραση	Ένζυμο	Προσθετική ομάδα	Τύπος*	ΔG°	
					kJ mol ⁻¹	kcal mol ⁻¹
1	Ακετυλο-CoA + οξαλοξικό + H ₂ O → κιτρικό + CoA + H ⁺	Κιτρική συνθάση		α	-31,4	-7,5
2α	Κιτρικό \rightleftharpoons <i>cis</i> -ακονιτικό + H ₂ O	Ακονιτάση	Fe-S	β	+8,4	+2,0
2β	<i>cis</i> -Ακονιτικό + H ₂ O \rightleftharpoons ισοκιτρικό	Ακονιτάση	Fe-S	γ	-2,1	-0,5
3	Ισοκιτρικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons α -κετογλουταρικό + CO ₂ + NADH	Ισοκιτρική αφυδρογονάση		δ + ε	-8,4	-2,0
4	α -Κετογλουταρικό + NAD ⁺ + CoA \rightleftharpoons ηλεκτρυλο-CoA + CO ₂ + NADH	Σύμπλεγμα της α -κετογλουταρικής αφυδρογονάσης	Λιποϊκό οξύ, FAD, TPP	δ + ε	-30,1	-7,2
5	Ηλεκτρυλο-CoA + P _i + ADP \rightleftharpoons ηλεκτρικό + ATP + CoA	Συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA		στ	-3,3	-0,8
6	Ηλεκτρικό + FAD (ενωμένο με το ένζυμο) \rightleftharpoons φουμαρικό + FADH ₂ (ενωμένο με το ένζυμο)	Ηλεκτρική αφυδρογονάση	FAD, Fe-S	ε	0	0
7	Φουμαρικό + H ₂ O \rightleftharpoons L-μηλικό	Φουμαράση		γ	-3,8	-0,9
8	L-Μηλικό + NAD ⁺ \rightleftharpoons οξαλοξικό + NADH + H ⁺	Μηλική αφυδρογονάση		ε	+29,7	+7,1

*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



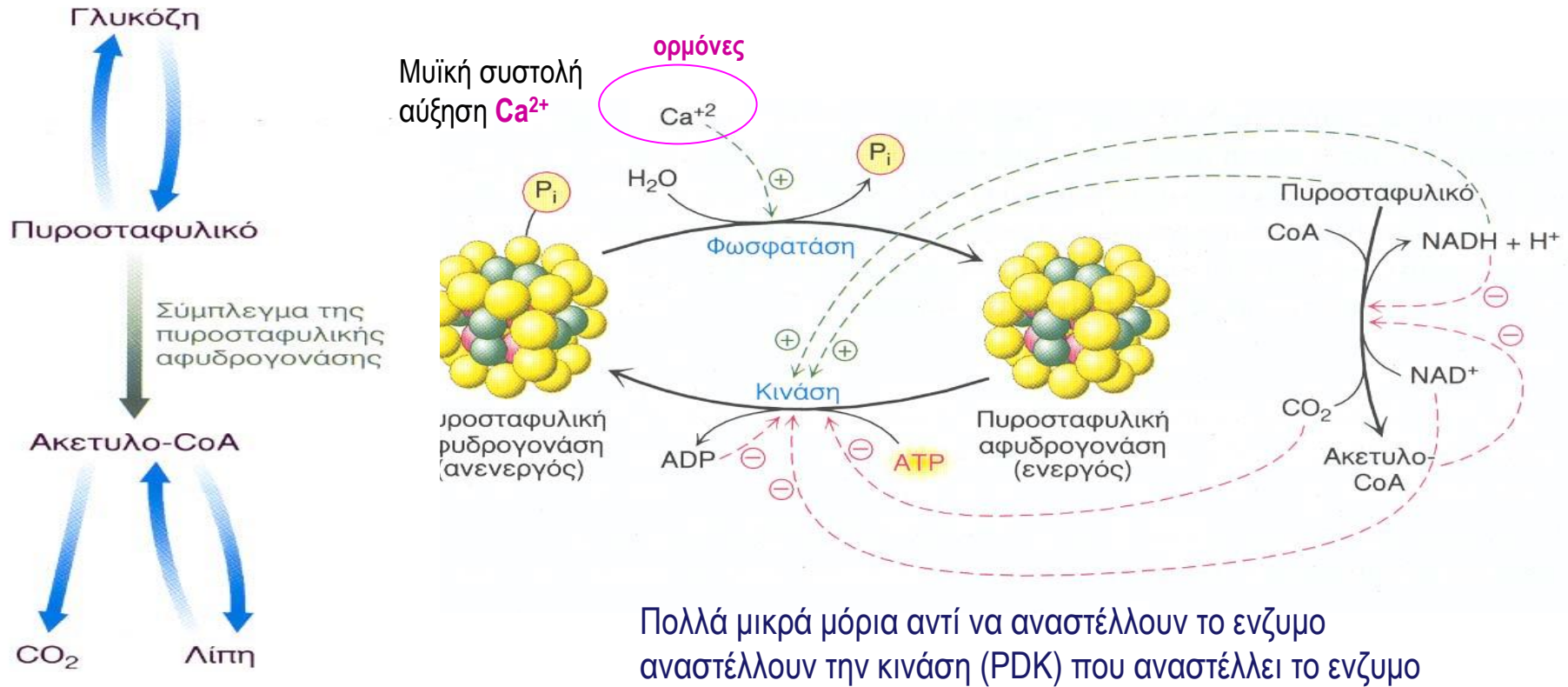
Ολικό όφελος περίπου 10 μόρια ATP

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

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 E₂ NADH αναστέλλει την E₃ και κυρίως με ομοιοπολική τροποποίηση της E₁



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

...επανενεργοποίηση από ορμόνες που οδηγούν σε αύξηση των επιπέδων Ca²⁺ του κυτοσολίου-> αύξηση στο επίπεδο του μιτοχονδριακού Ca²⁺.

Παράδειγμα:

Έναρξη άσκησης

→ ενεργοποιείται η γλυκόλυση

→ αύξηση ATP

Συνέχιση άσκησης

αύξηση ADP → μείωση ATP

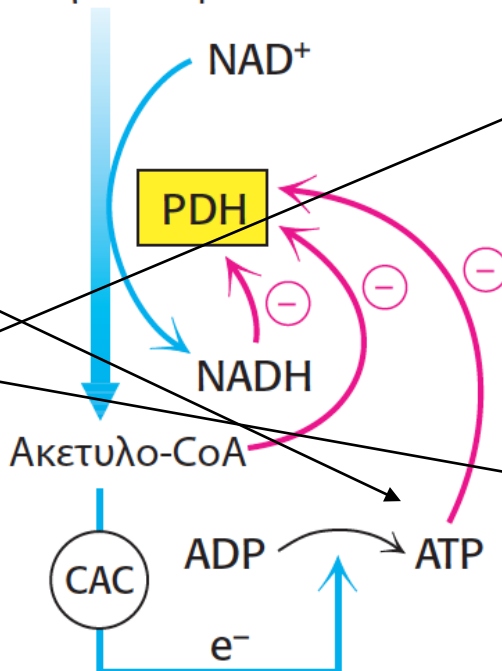
και ταυτόχρονα

Αύξηση πυροσταφυλικού

Μυς που ενεργοποιείται μετά από ανάπαυση

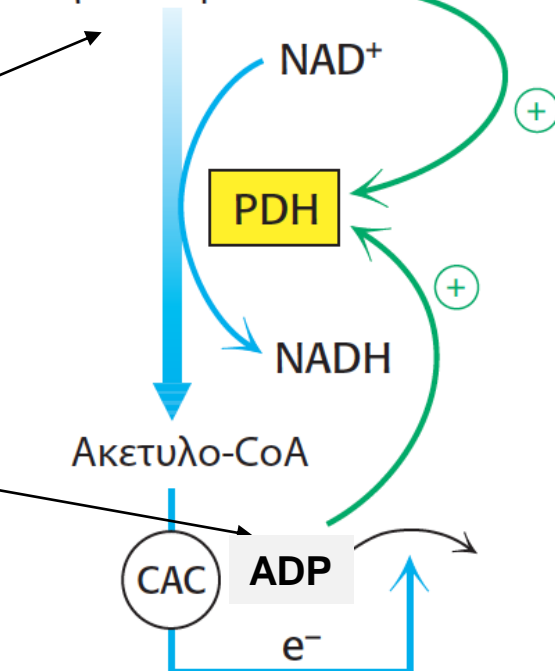
(A) ΥΨΗΛΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ

Πυροσταφυλικό



(B) ΧΑΜΗΛΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ

Πυροσταφυλικό



Εικόνα 17.18 Απόκριση του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης στο ενεργειακό φορτίο. Το σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης ρυθμίζεται για να αποκρίνεται στο ενεργειακό φορτίο του κυττάρου. (A) Το σύμπλεγμα αναστέλλεται από τα άμεσα προϊόντα του, NADH και ακετυλο-CoA, καθώς και από την ATP, το τελικό προϊόν της κυτταρικής αναπνοής. (B) Το σύμπλεγμα ενεργοποιείται από το πυροσταφυλικό και την ADP, τα οποία αναστέλλουν την κινάση που φωσφορυλιώνει την PDH.

Σημεία ελέγχου εντός του κύκλου

Πυροσταφυλική αφυδρογονάση

Κιτρική συνθάση

σε μερικά βακτήρια
οξαλοξικό → Αμινοξέα

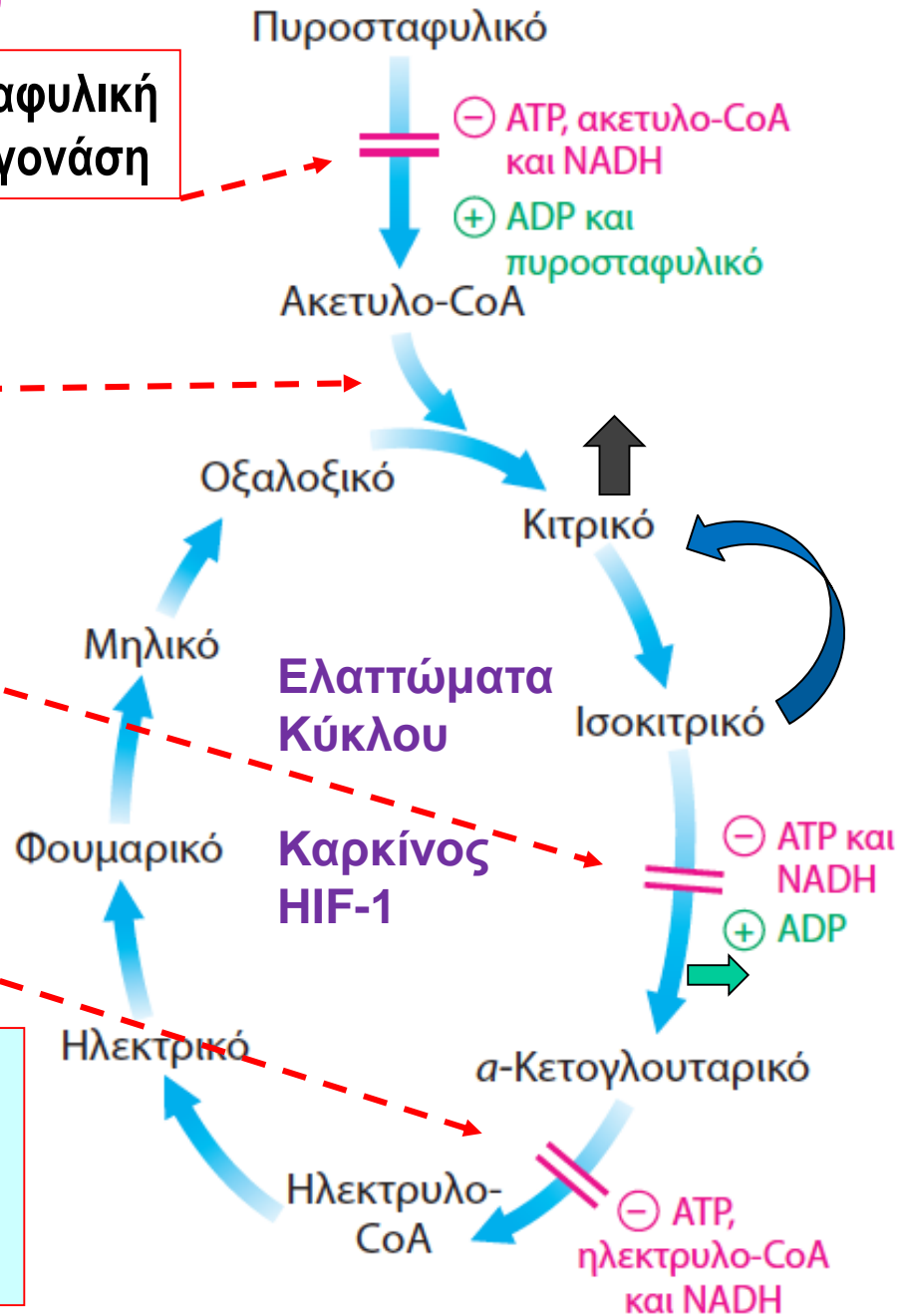
Ισοκιτρική αφυδρογονάση

Αύξηση κιτρικού μείωση γλυκόλυσης
ενεργοποίηση σύνθεση λιπαρών οξέων

α-κετογλουταρική αφυδρογονάση...

Α-κετογλουταρικό → Αμινοξέα,
βάσεις πουρίνης

Εάν χρειάζεται απαραίτητα ένα συγκεκριμένο ενδιάμεσο ο κύκλος πρέπει να ελεγχθεί σε ένα σημείο ο κύκλος μπορεί να μειώσει και ταχύτητα



χρήσιμα ενδιάμεσα για τις βιοσυνθέσεις, έτσι ο κύκλος ελέγχεται σε αρκετά στάδια



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



Αναπληρωματική αντίδραση -**Πυροσταφυλικό** --> **Οξαλοξικό** = 1^ο βήμα της πορείας της γλυκονεογένεσης
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 τη θειαμίνη που βρίσκεται κυρίως στη φλούδα.

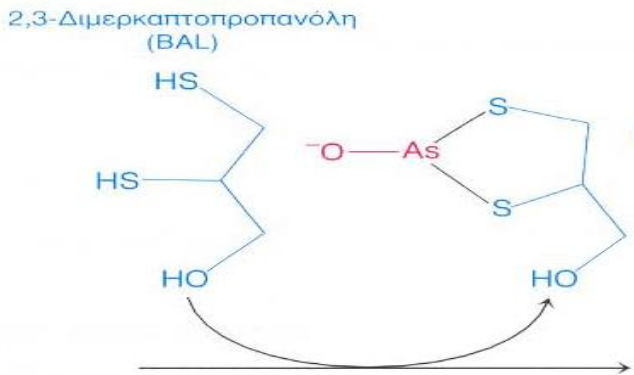
Διορθώνεται μερικώς με εμφάπτιση σε νερό πριν το άλεσμα, το οποίο επιτρέπει στη θειαμίνη που είναι μερικώς υδροδιαλυτή, να διηθηθεί μέσα στην ψίχα του ρυζιού



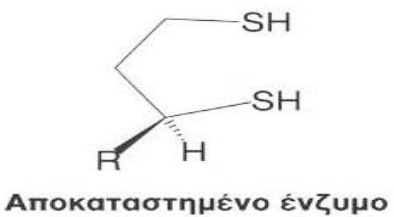
Βιοχημική εξήγηση (μηχανισμός) της νόσου μπέρι-μπέρι

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

στην πρόσδεσή τους στις διυδρολιποάμιδο ομάδες συνένζυμο της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης



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