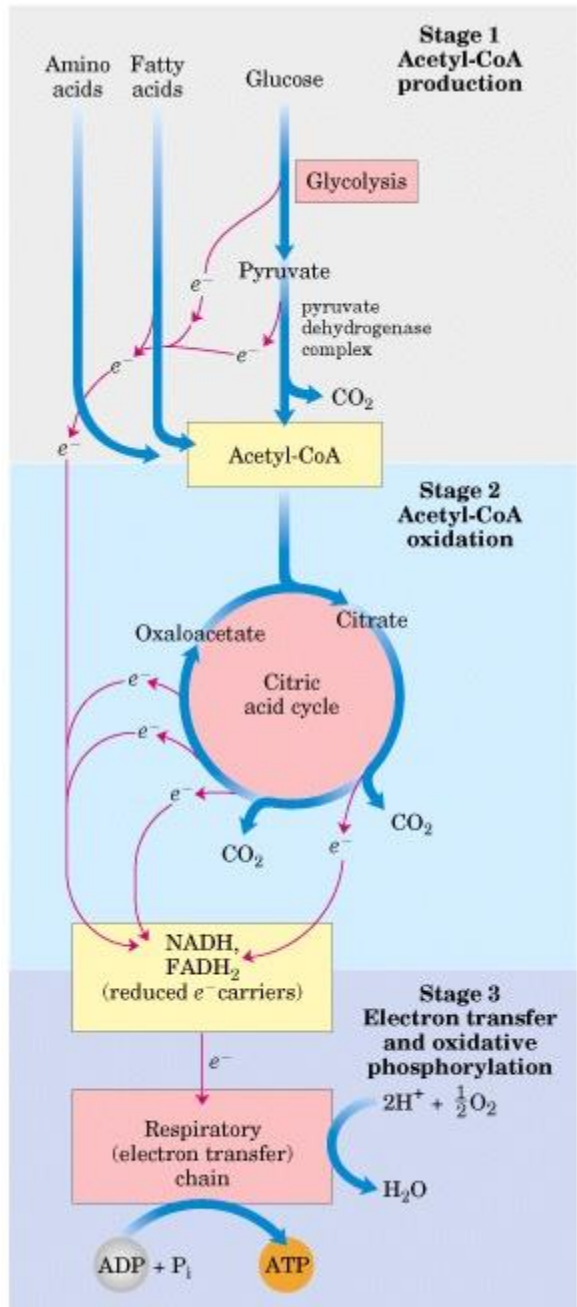


Acetil CoA e Ciclo de Krebs

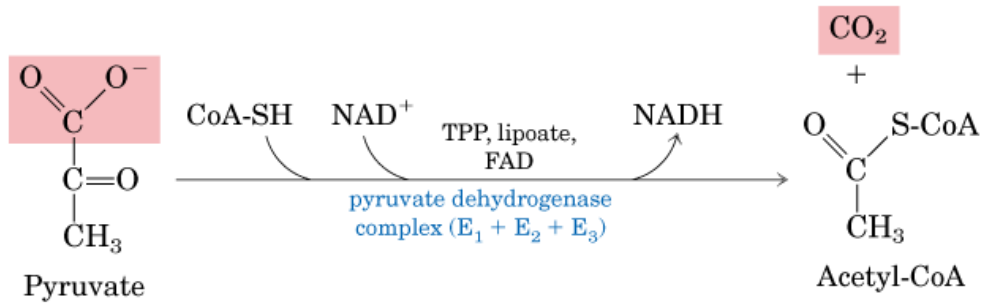
Prof. Henning Ulrich



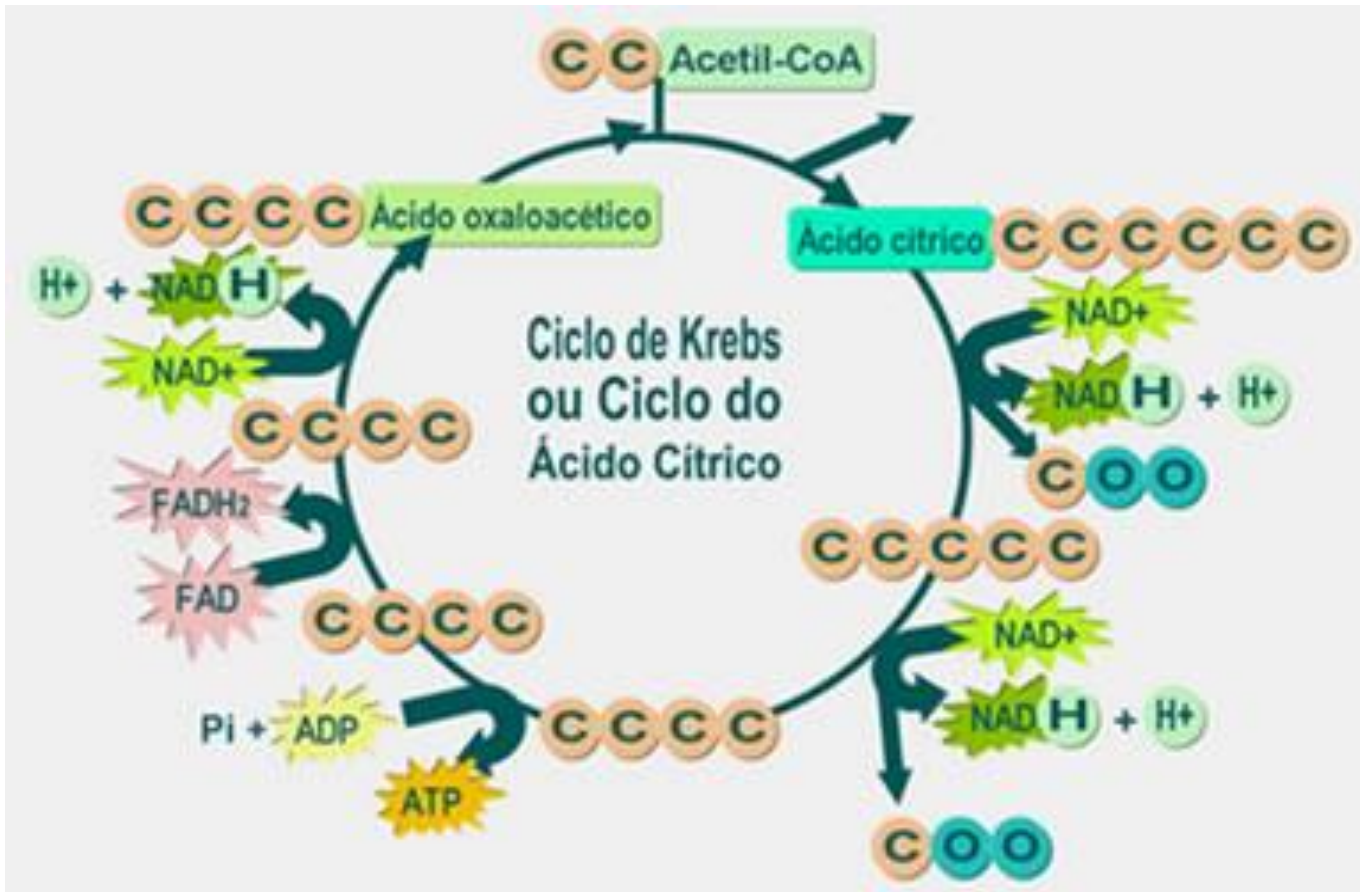
No citosol



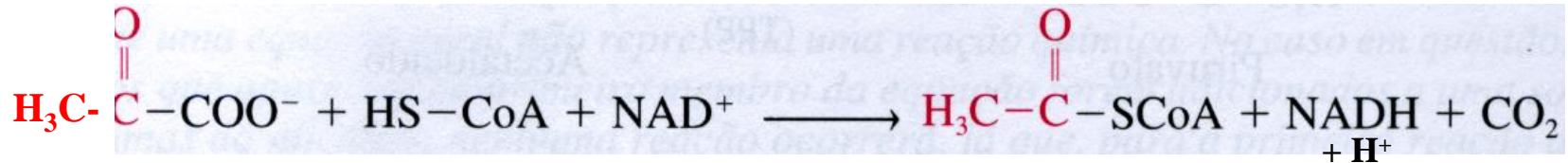
Na mitocôndria



$$\Delta G'^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$$



Descarboxilação do piruvato:



Piruvato

Coenzima A

Acetil CoA

Redução de 1 NAD⁺

Formação de acetil CoA (rica em energia)

Ciclo de Krebs:

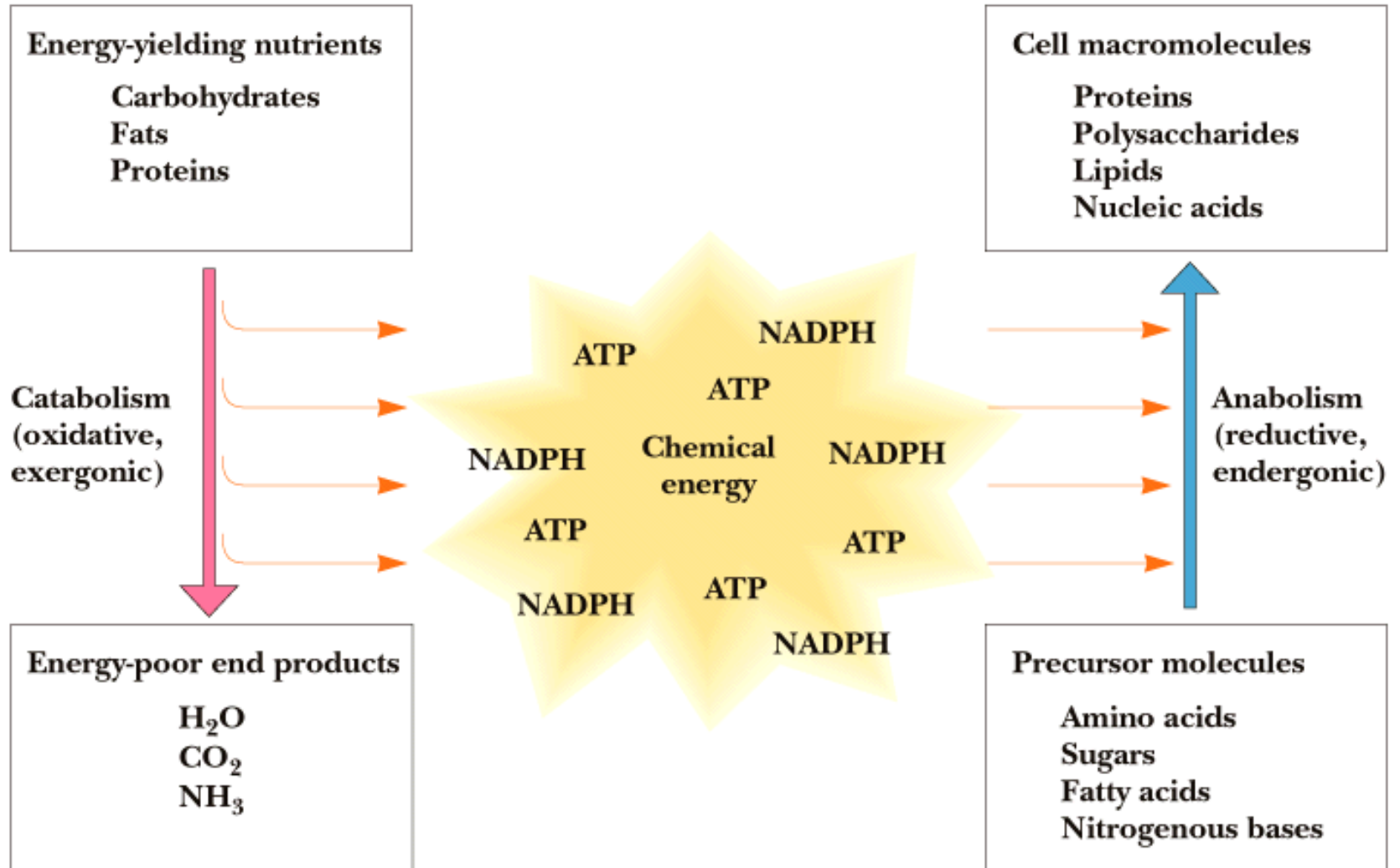
A oxidação da acetil CoA fornece 8 elétrons para a redução de 3 NAD⁺ e de 1 FAD



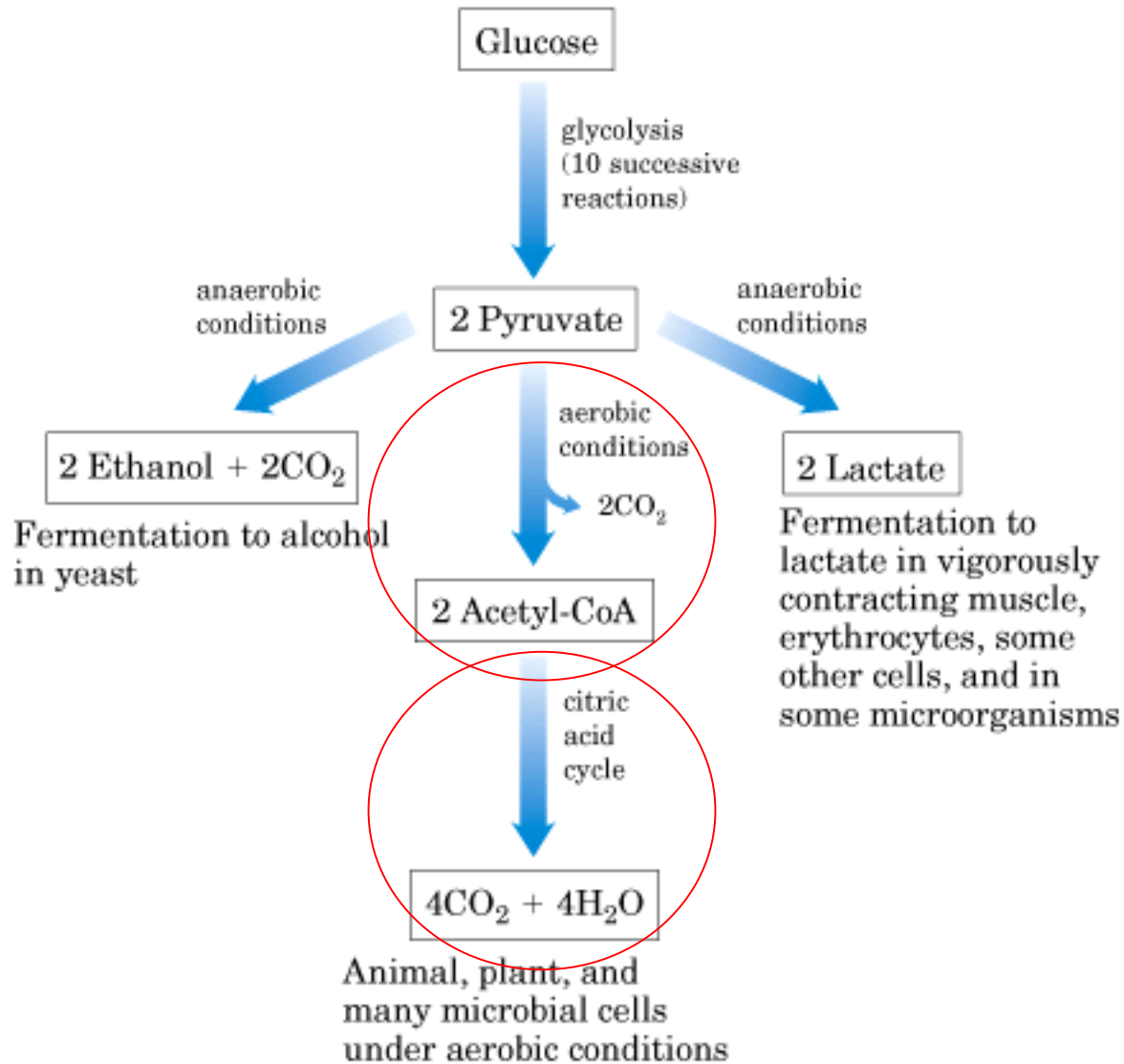
O poder redutor será usado para gerar um gradiente eletroquímico através da membrana da mitocôndria

A energia química ganha na oxidação da glicose é utilizada para reações endergônicas de síntese de moléculas estruturais da célula

Figure 18.4



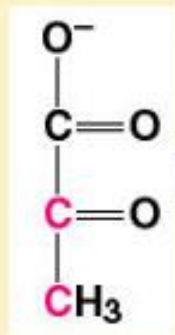
Oxidação de glicose



CYTOSOL

MITOCHONDRION MITOPLASM

Transport protein



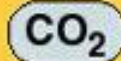
PYRUVATE

oxidation-reduction



PDH

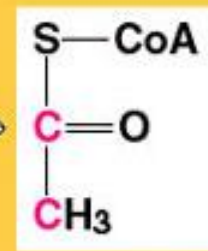
1



decarboxylation

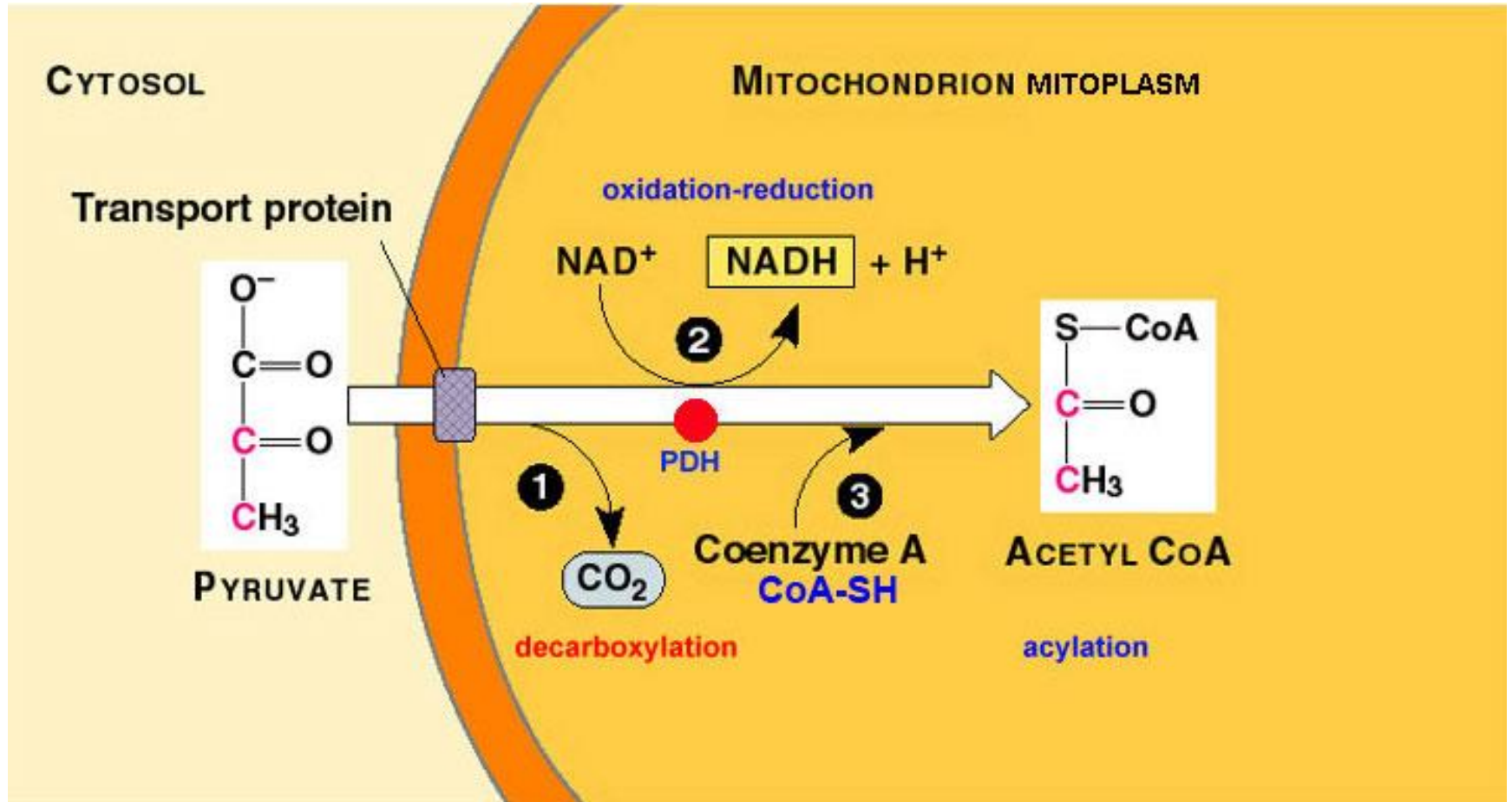
Coenzyme A
CoA-SH

3

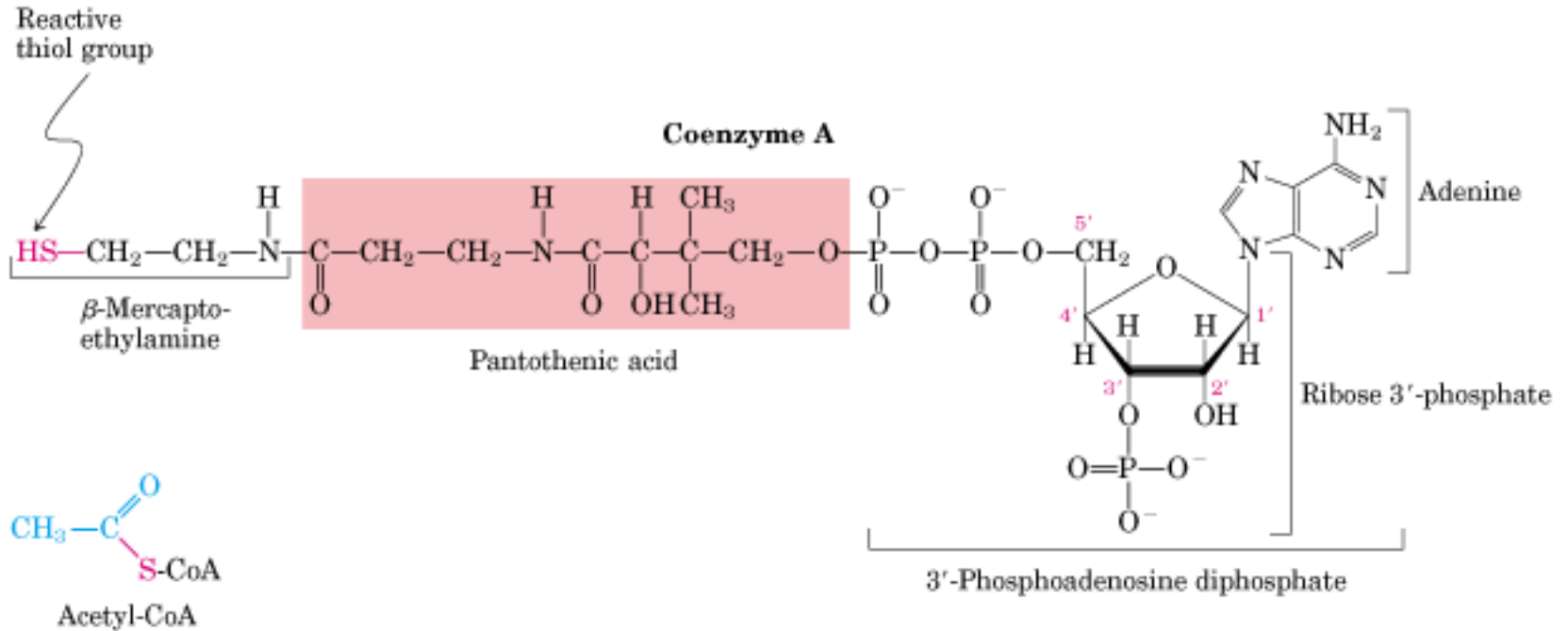


ACETYL CoA

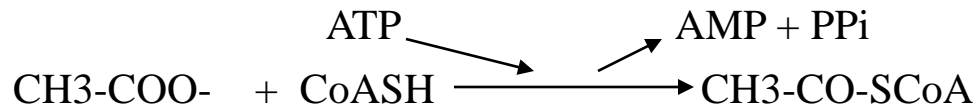
acylation



Acetil-CoA (acetil-coenzima A)



A hidrólise da ligação de tioéster (rico em energia; $\Delta G^{\circ} = -34 \text{ KJ/mol}$)



Dois complexos multi-enzimáticos

- Piruvato desidrogenase

(Piruvato \longrightarrow acetil CoA)

- α -cetoglutatarato desidrogenase

(α -cetoglutatarato \longrightarrow succinil CoA)

Os dois são membros da família de 2-cetoácido desidrogenases

Síntese de Acetil-CoA: 1-D Descarboxilação oxidativa do piruvato

→ A acetil-CoA é formada a partir da descarboxilação oxidativa do piruvato, realizada sequencialmente pela piruvato desidrogenase –PDH (complexo multienzimático de 3 enzimas), na matriz mitocondrial:

↙ **Desidrogenase pirúvica** (grupo prostético TPP)

Dihidrolipoiltranscetilase (grupo prostético Lipoamida)

Dihidrolipoildesidrogenase (grupo prostético FAD)

– ...e 5 coenzimas:

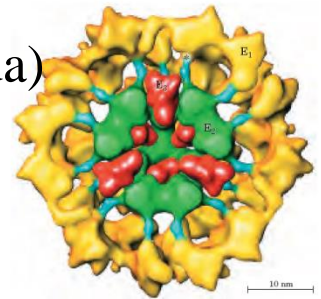
Tiamina pirofosfato (TPP) – reage com o piruvato

Lipoamida – aceita grupo acetil e transfere-o para o CoA

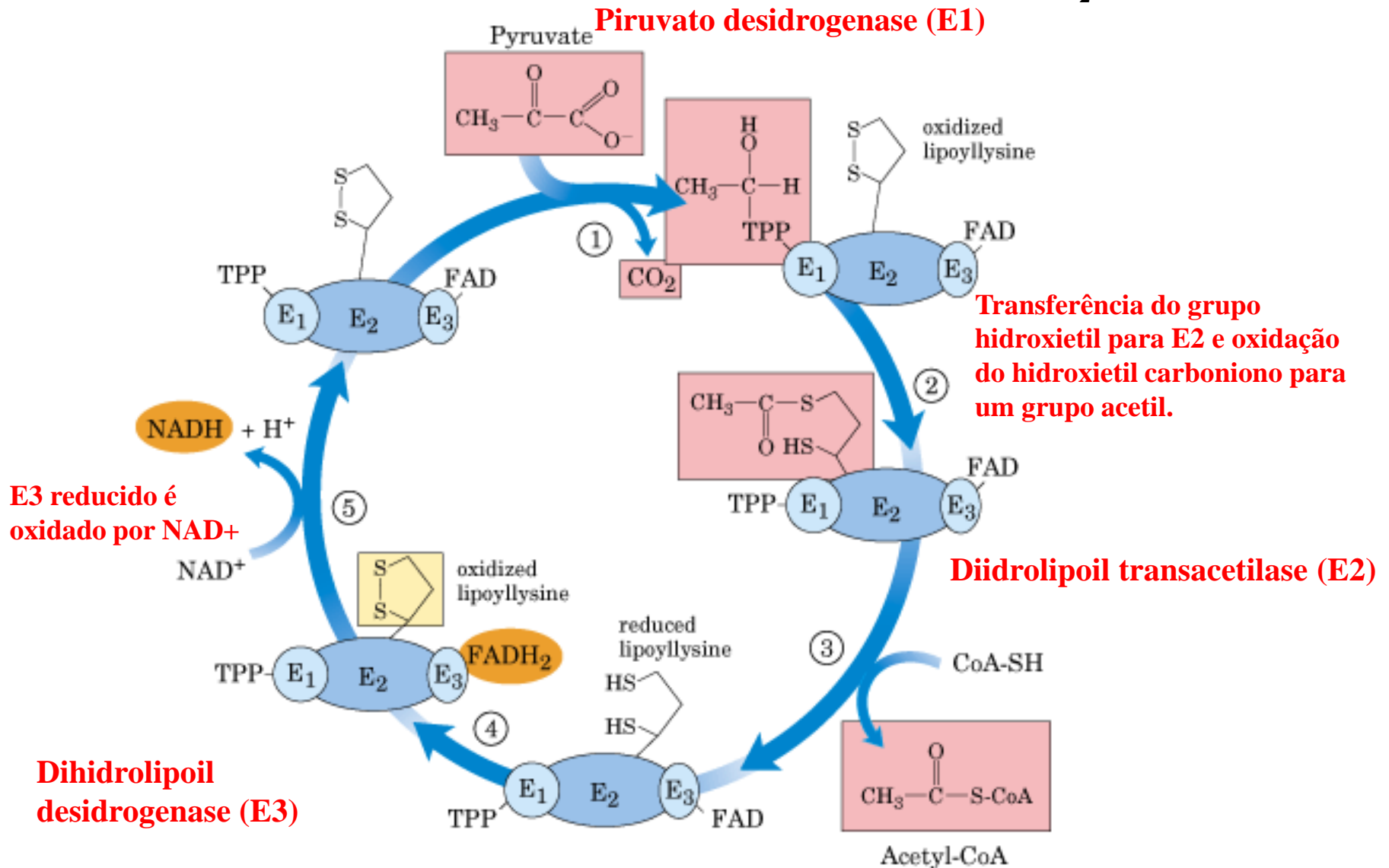
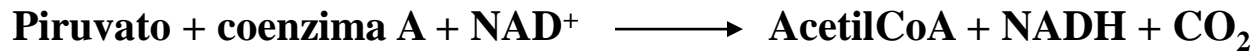
CoA – aceita grupo acetil

FAD – aceita equivalentes redutores

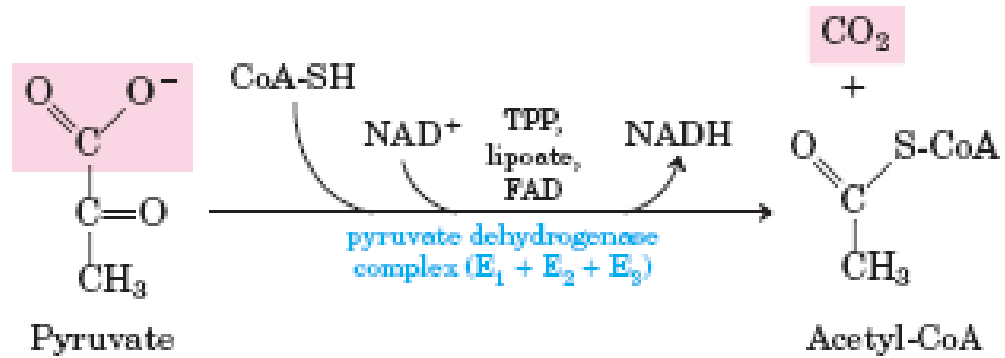
NAD⁺ – aceita equivalentes redutores



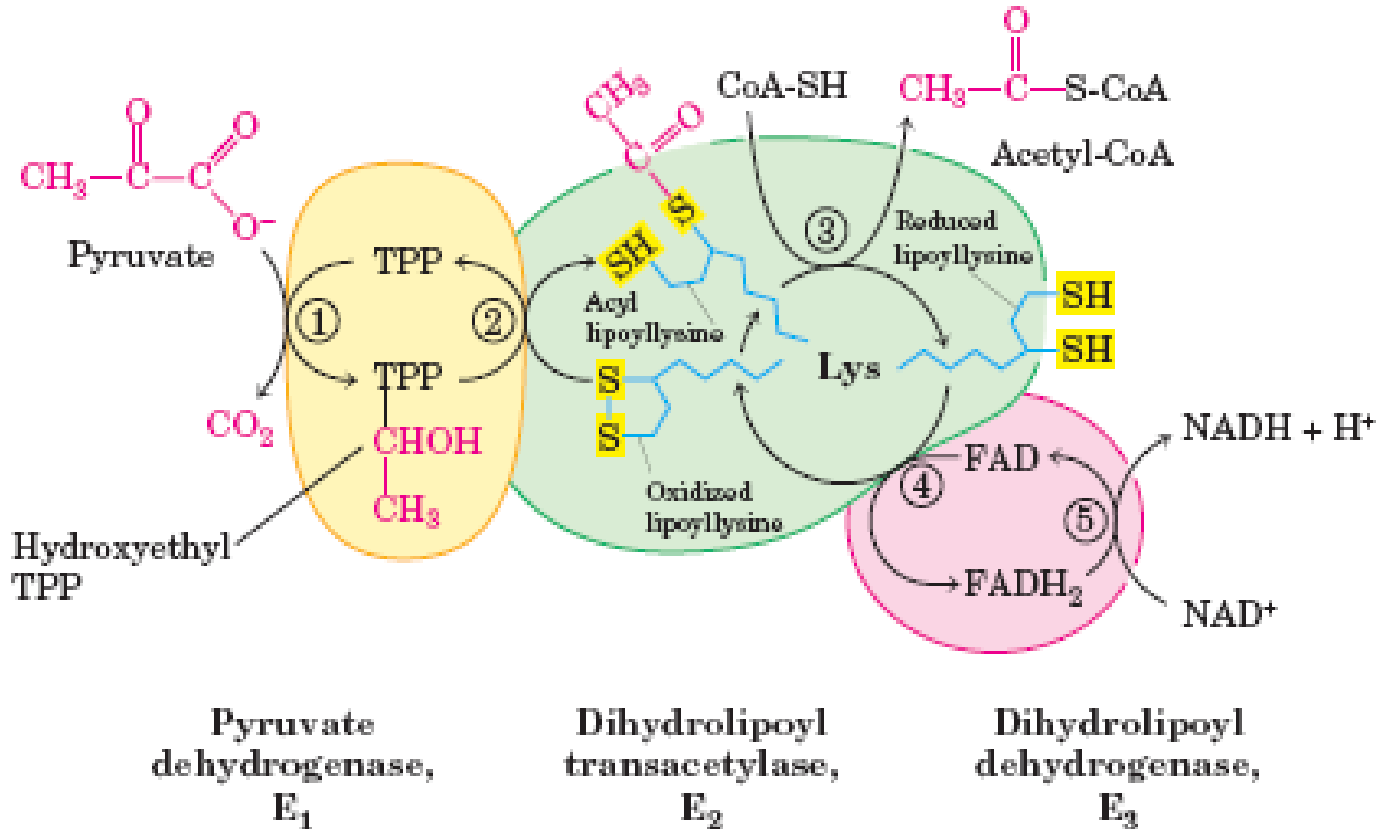
O complexo multi-enzimático de piruvato desidrogenase: Formação de acetil-CoA



Reação global:



$\Delta G'^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$



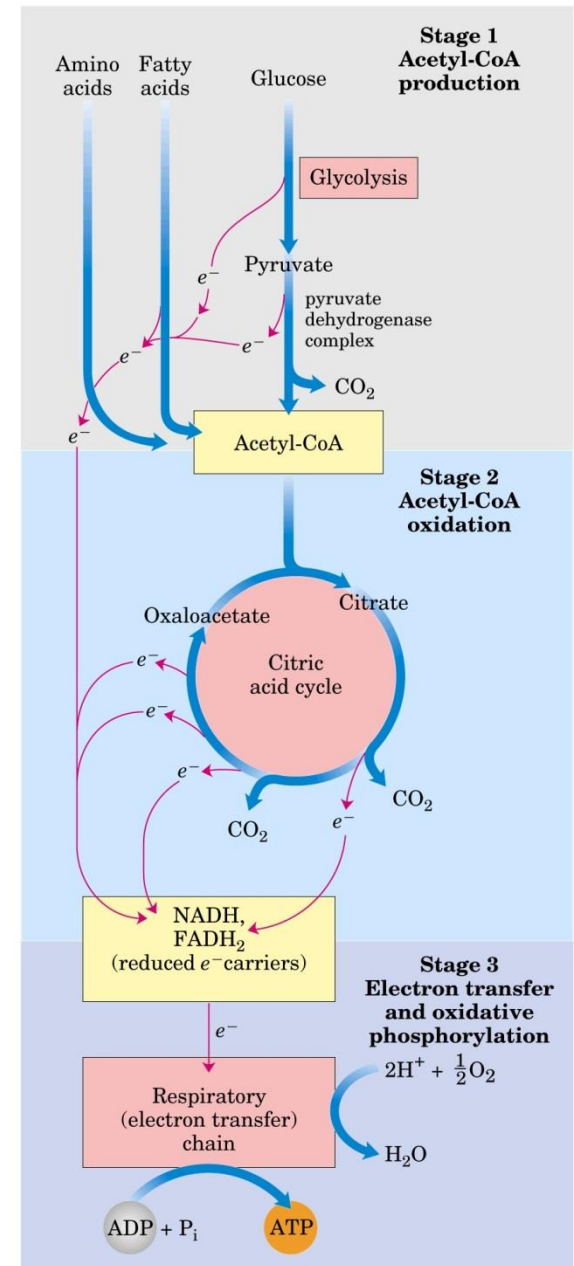
Ciclo de Krebs (Ácido Cítrico)

O acetil CoA produzido através de piruvato, aminoácidos e ácidos graxos é oxidado no ciclo de Krebs em CO_2 , obtendo-se como produtos NADH, FADH_2 e GTP (ATP).

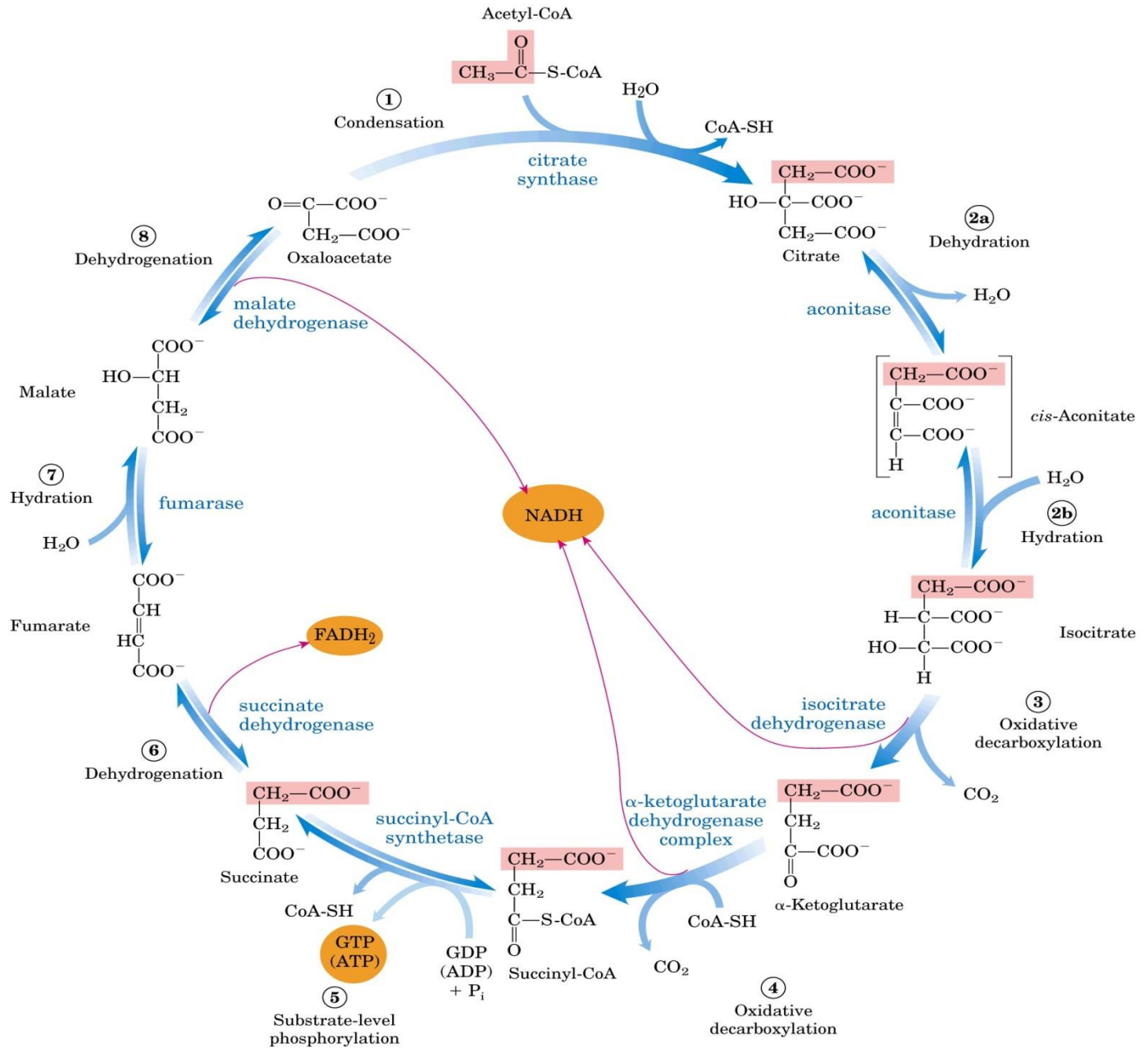
Paralelamente a esta oxidação, o ciclo de Krebs produz compostos utilizados como precursores para biossíntese.

Como é um ciclo, uma molécula de oxaloacetato poderia, em princípio, oxidar uma quantidade indefinida de CO_2 .

1. Complexo multi-enzimático piruvato desidrogenase
2. Ciclo de Krebs
3. Regulação do ciclo de Krebs
4. Reações anabólicas e transporte de metabólitos



Os passos do ciclo de Krebs



Os reagentes que iniciam o ciclo de Krebs são acetyl-CoA e oxalacetato.
 O ciclo renova o oxaloacetato. A concentração de oxaloacetato determina a velocidade do ciclo.

8 reações enzimáticas:

1. **Citrato sintase:** Acetil CoA + oxalo-acetato + H₂O \longrightarrow Citrato + CoA-SH
(Condensação)
 2. **Aconitase:** Citrato \longleftrightarrow Isocitrato
(Isomerização)
 3. **Isocitrato desidrogenase:** Isocitrato + NAD⁺ \longrightarrow α-Cetogluturato + CO₂ + NADH + H⁺ (descarboxilação oxidativa)
 4. **Complexo de α-Cetogluturato desidrogenase:** α-Cetogluturato + CoA-SH + NAD⁺ \longrightarrow Succinil CoA + CO₂ + NADH + H⁺ (descarboxilação oxidativa)
 5. **Succinil CoA + GDP** \longleftrightarrow Succinato + GTP + CoA-SH (Fosforilação ao nível de substrato)
(**succinil CoA sintase**)
 6. **Succinato + FAD** \longleftrightarrow Fumarato + FADH₂
(**succinato desidrogenase**)
 7. **Fumarato + H₂O** \longleftrightarrow Malato (Hidratação) **fumarase**
 8. **Malato + NAD⁺** \longleftrightarrow Oxalacetato + NADH + H⁺ **malato desidrogenase**
- 3 NAD⁺ + FAD + GDP + Pi + acetil CoA + 2 H₂O \longrightarrow 3 NADH + H⁺ + FADH₂ + GTP + CoA + 2CO₂

α -cetogluturato desidrogenase complexo multi-enzimático funciona como piruvato desidrogenase

α -cetogluturato desidrogenase (E1)

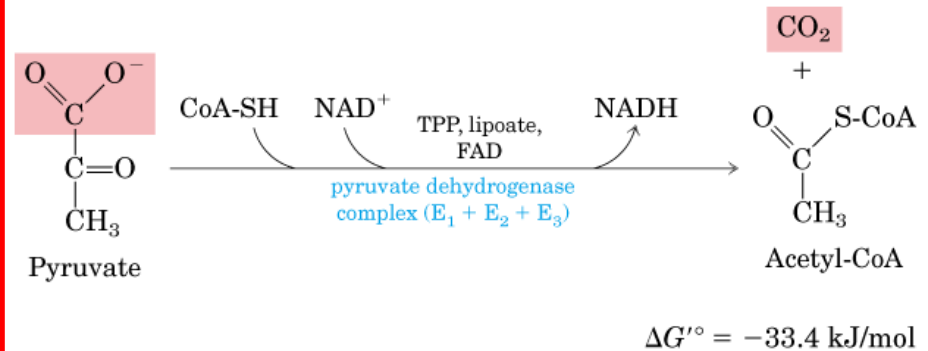
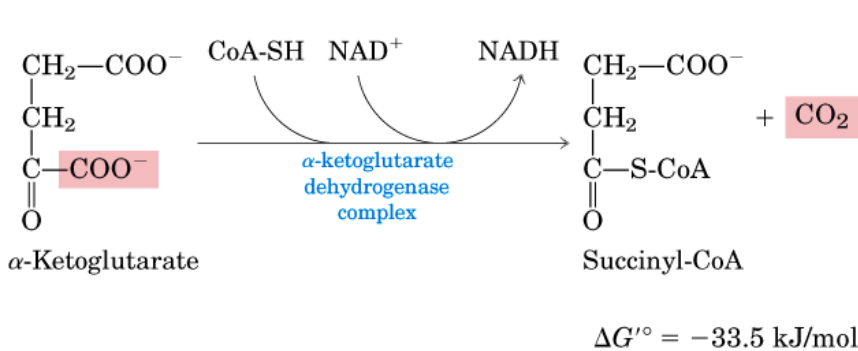
•Diidrolipoil transuccinilase (E2)

•Diidrolipoil desidrogenase (E3)

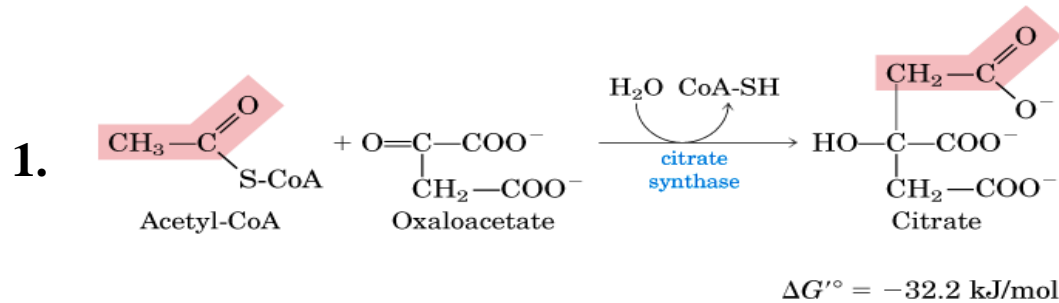
Piruvato desidrogenase (E1)

Diidrolipoil transacetilase (E2)

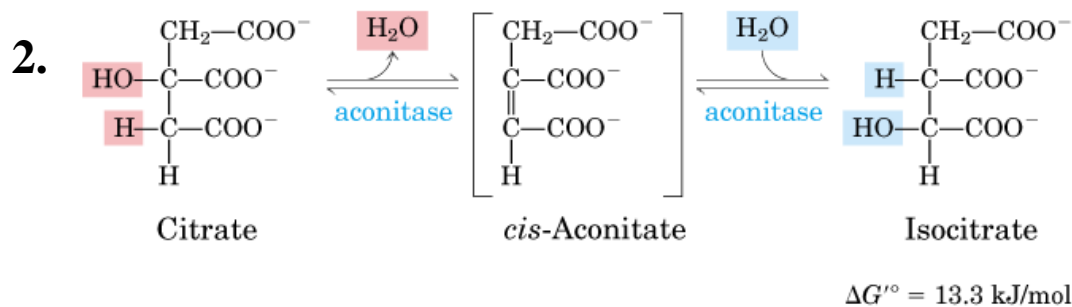
Diidrolipoil desidrogenase (E3)



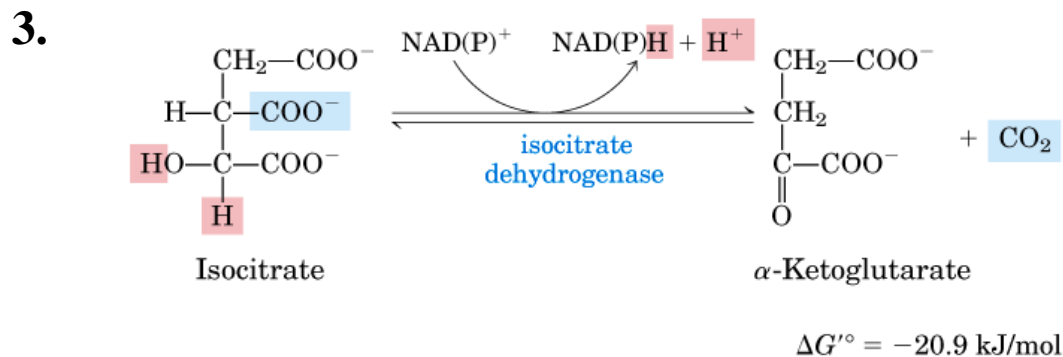
As reações exergônicas ajudam a catalisar reações endergônicas



Aumento da concentração de citrato



K ([produto/reagente]) longe do equilíbrio e reação acontece



Diminuição da concentração de isocitrato (formação de α -cetoglutarato)

Regulação da velocidade do ciclo de ácido cítrico

Por quê ?

**Ciclo é acoplado a reoxidação do $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2 ,
consumo de oxigênio e a produção de ATP.**

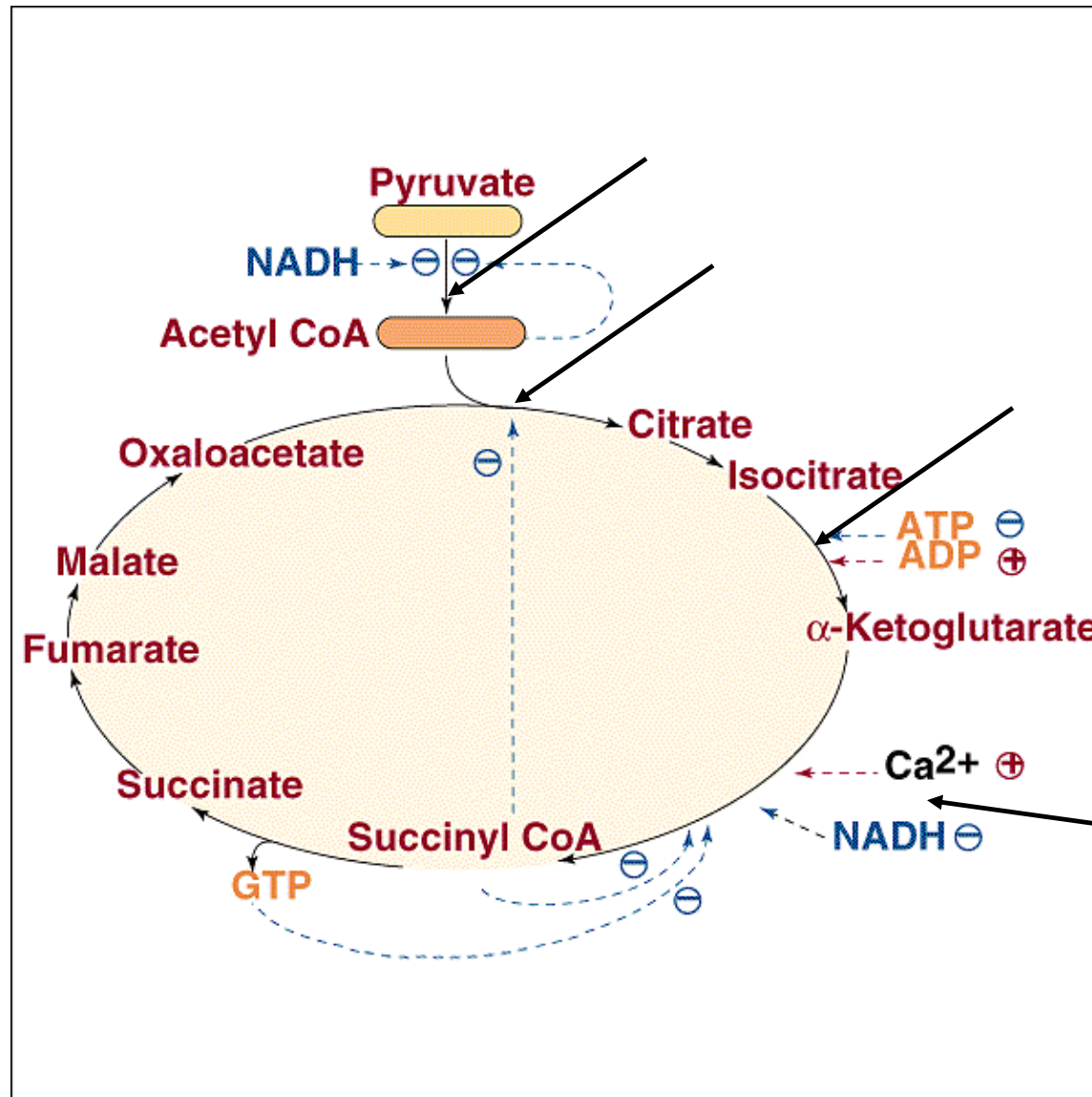
**Cadeia de transporte de elétrons é diretamente acoplada
ao ciclo de ácido cíclico.**

Há 3 reações extremamente exergônicas, com ΔG° negativos, catalisadas por:

- Citrato sintase**
- Isocitrato desidrogenase**
- α -cetogluatarato desidrogenase**

que funcionam longe de equilíbrio.

Regulação da velocidade do ciclo de ácido cítrico



Regulação da velocidade do ciclo de ácido cítrico

1. Disponibilidade de substrato

Velocidade regulada por disponibilidade de acetil CoA, oxaloacetato e NAD⁺
Na mitocôndria, as concentrações desses substratos são menores que a concentração da citrato sintase.

2. Inibição da reação pelo produto

O produto da reação catalisada pelo citrato sintase, o citrato é um inibidor competitivo pela ligação do oxalacetato ao centro catalítico da enzima.

3. Inibição alostérica

Altas concentrações de ATP inibem a isocitrato desidrogenase.

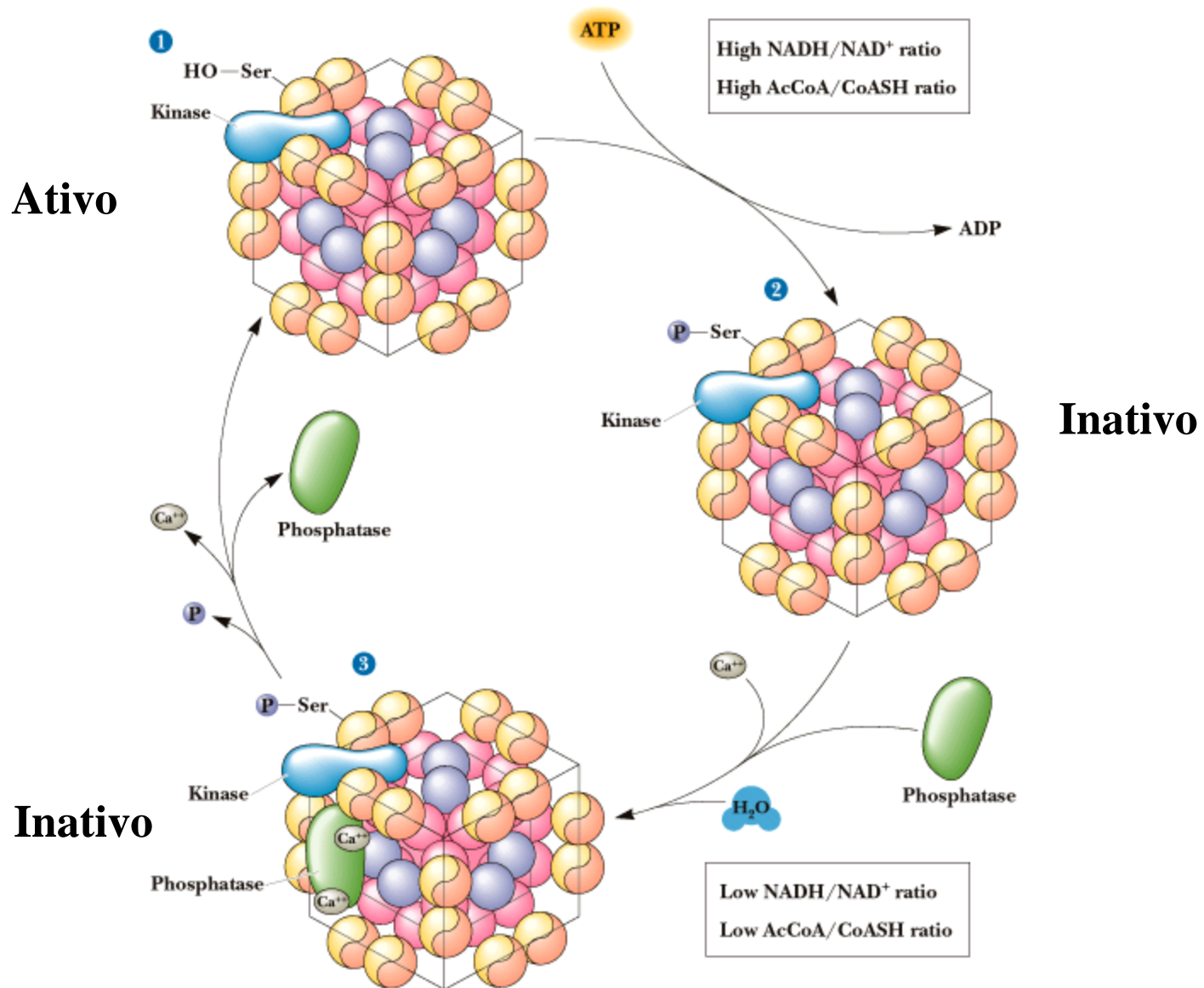
4. Inibição do tipo feed-back:

Altas concentrações de succinil-CoA (“downstream” no ciclo) competem com acetil CoA para ligação ao centro catalítico da piruvato desidrogenase.

5. Fosforilação ao nível do substrato:

O complexo de piruvato desidrogenase é inativo quando fosforilado. A contração do músculo é induzida pelo aumento de cálcio intracelular. O cálcio liberado ativa uma fosfatase que desfosforila e ativa a enzima.

Regulação da atividade da piruvato desidrogenase por fosforilação



Formação dos metabólitos do ciclo de Krebs

table 16-2

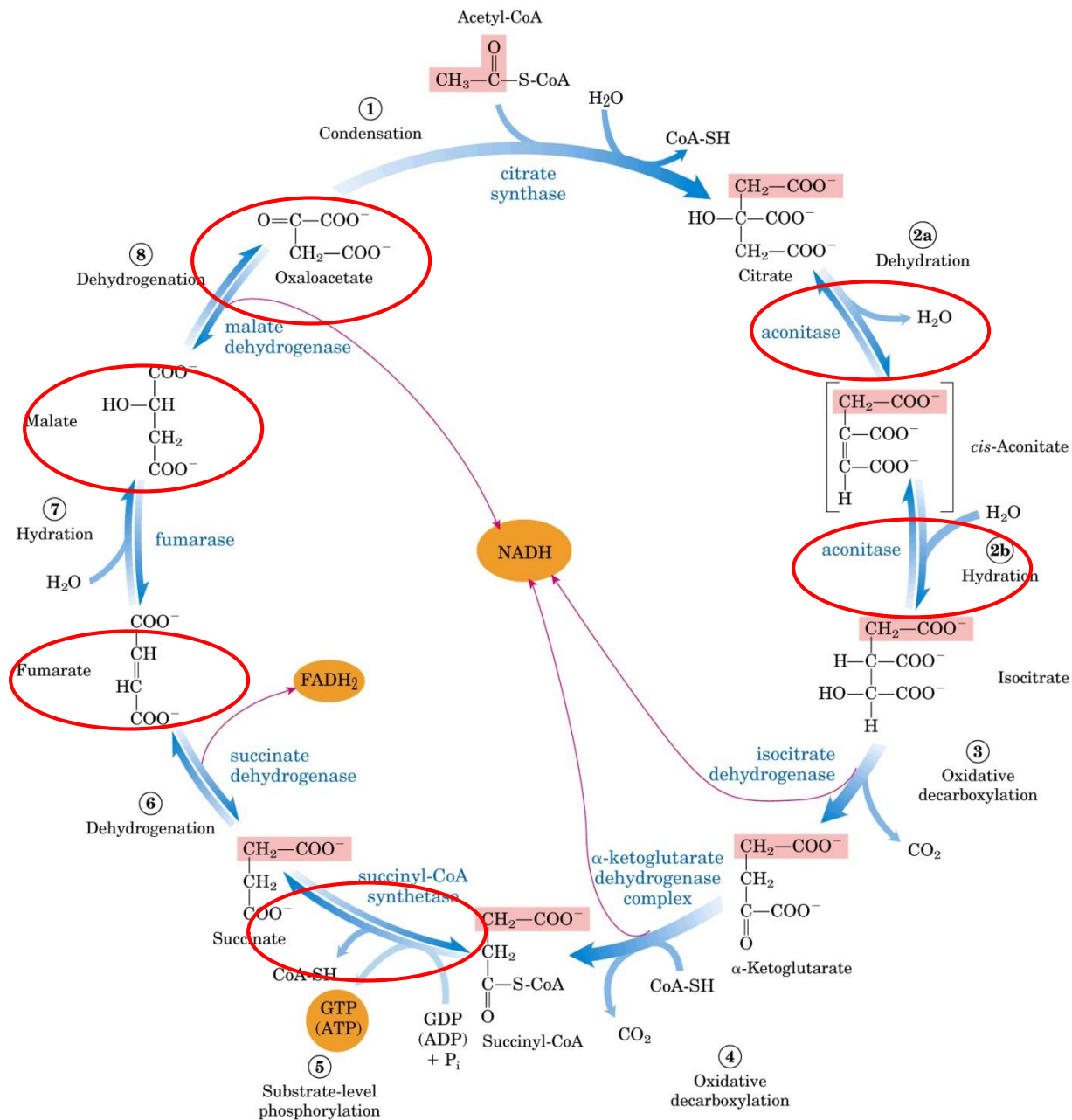
Anaplerotic Reactions

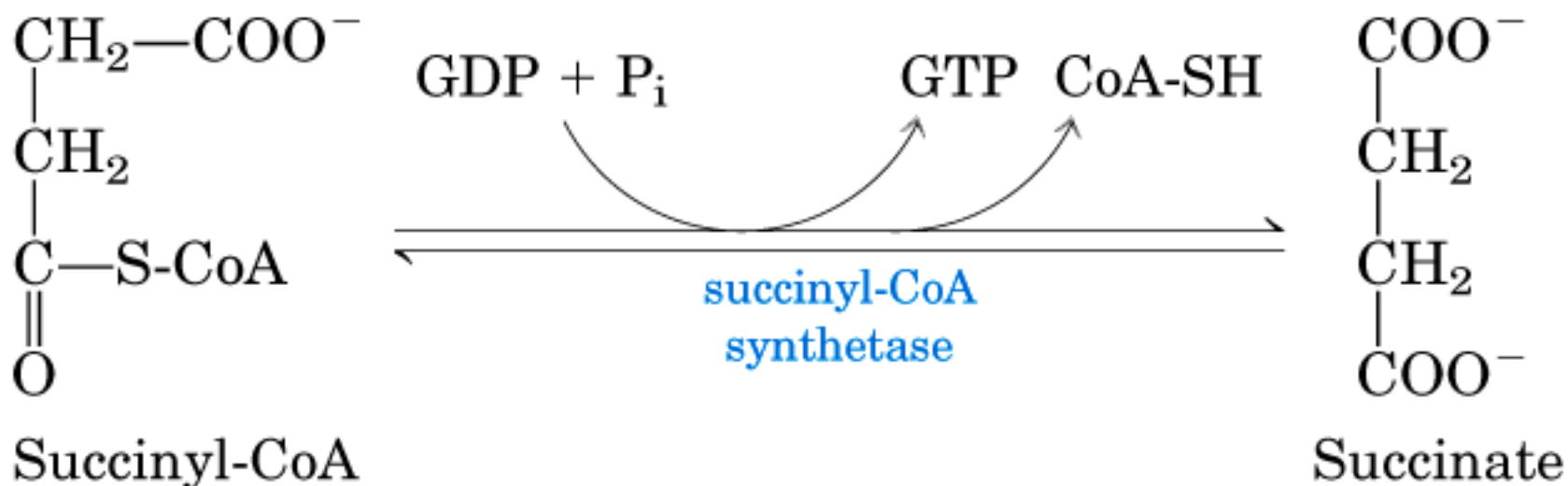
Reaction	Tissue(s)/organism(s)
$\text{Pyruvate} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{pyruvate carboxylase}} \text{oxaloacetate} + \text{ADP} + \text{P}_i$	Liver, kidney
$\text{Phosphoenolpyruvate} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \xrightleftharpoons{\text{PEP carboxykinase}} \text{oxaloacetate} + \text{GTP}$	Heart, skeletal muscle
$\text{Phosphoenolpyruvate} + \text{HCO}_3^- \xrightleftharpoons{\text{PEP carboxylase}} \text{oxaloacetate} + \text{P}_i$	Higher plants, yeast, bacteria
$\text{Pyruvate} + \text{HCO}_3^- + \text{NAD(P)H} \xrightleftharpoons{\text{malic enzyme}} \text{malate} + \text{NAD(P)}^+$	Widely distributed in eukaryotes and prokaryotes

1. Aumento da concentração de oxaloacetato, aumento da velocidade, mais NADH + H⁺ e FADH₂ produzida, porém mais ganho de ATP.
2. Metabólitos utilizados para síntese de compostos de armazenamento de energia.
3. Síntese de elementos estruturais da célula, como ácidos nucleicos.

Alguns passos do ciclo são reversíveis

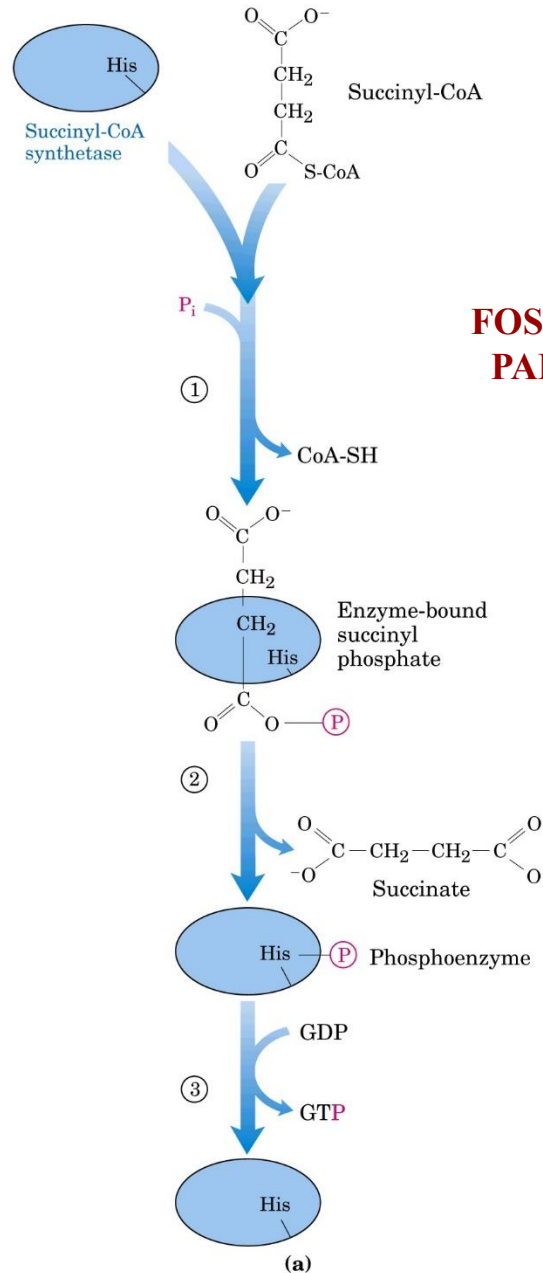
Reações reversíveis do ciclo de ácido cítrico





$$\Delta G'^{\circ} = -2.9 \text{ kJ/mol}$$

Mecanismo de ação de Succinil-CoA sintetase

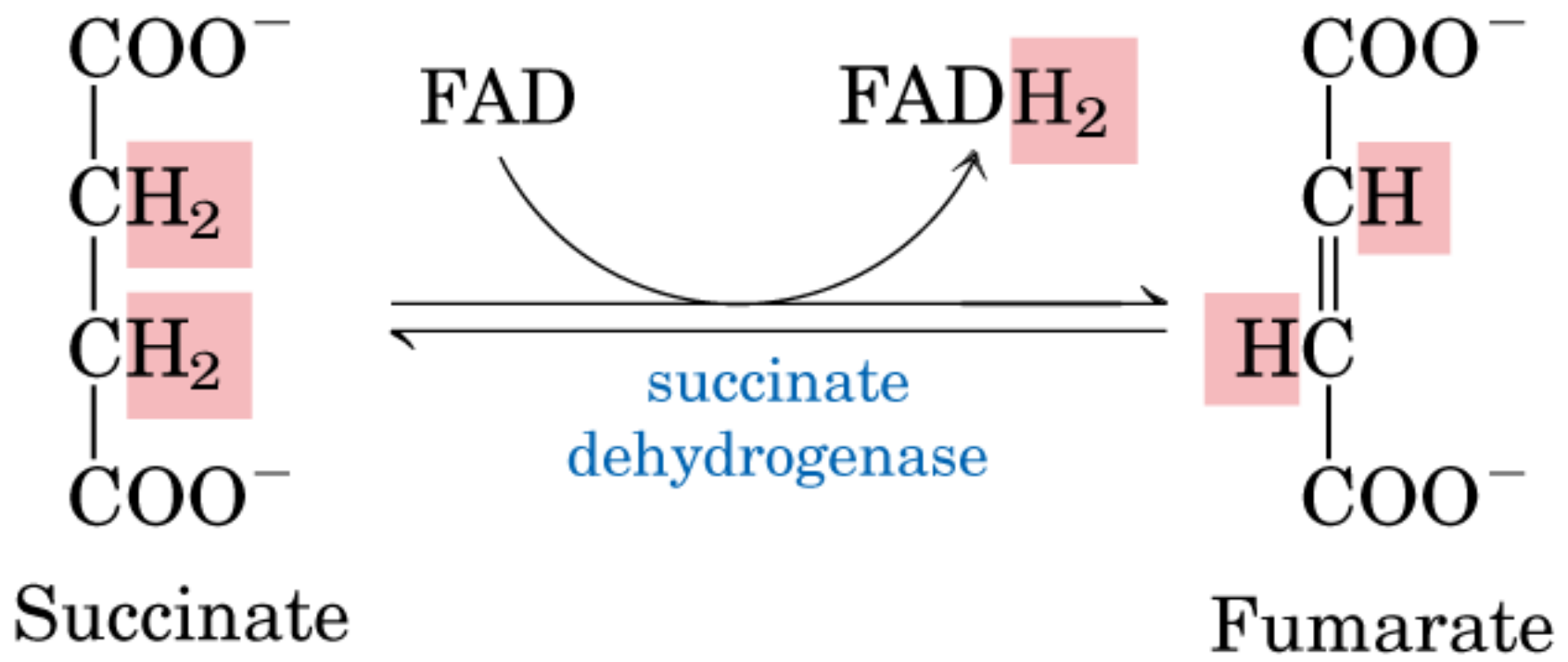


**FOSFORÓLISE DA LIGAÇÃO TIOESTER
PARA FORMAR UM FOSFOANIDRIDO
 $\Delta G = 0$**

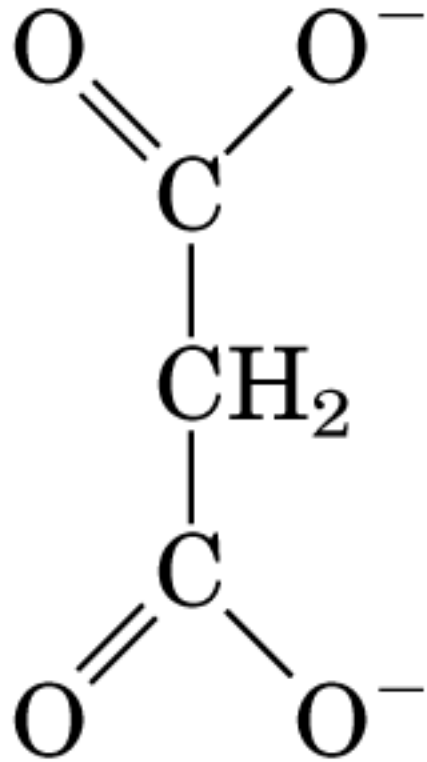
**TRANSFERÊNCIA DO FOSFATO
PARA UMA HISTIDINA
 $\Delta G=0$**

**TRANSFERÊNCIA DO FOSFATO
PARA GDP (OU ADP)
 $\Delta G=0$**

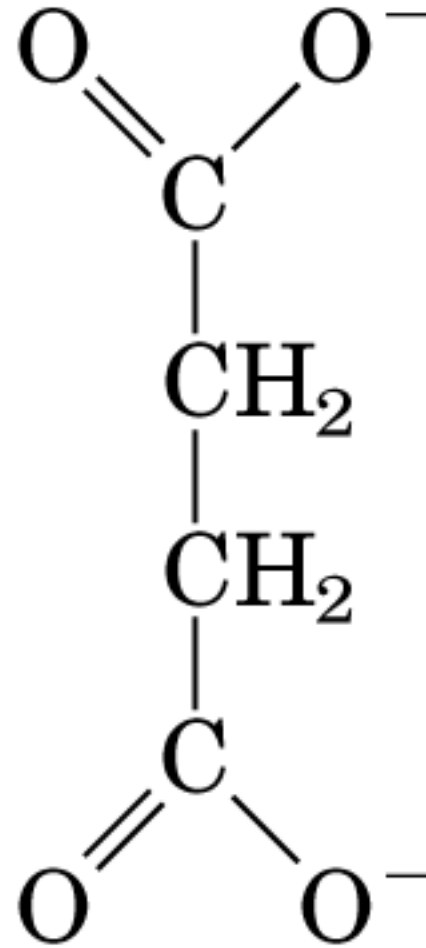
(a)



$$\Delta G'^{\circ} = 0 \text{ kJ/mol}$$

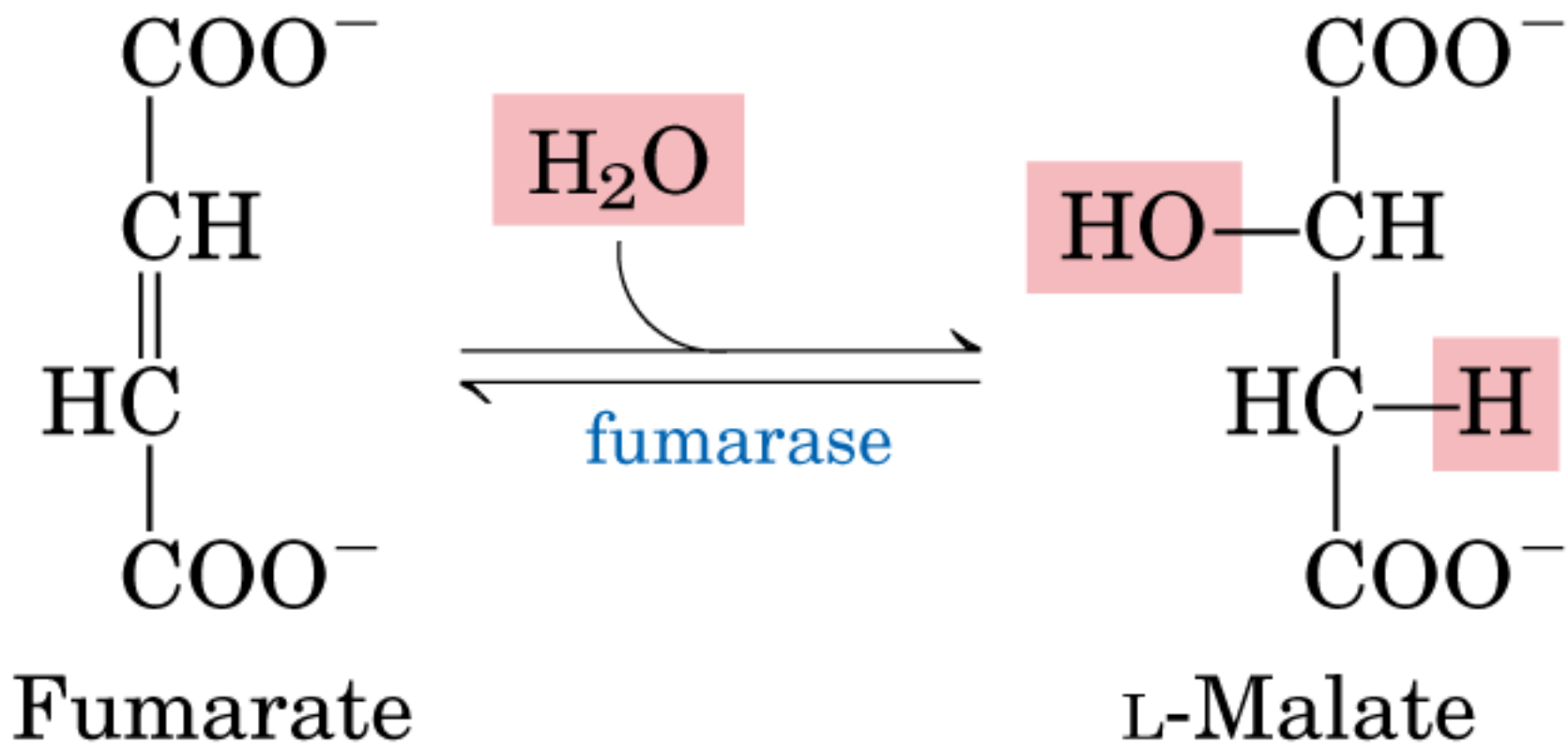


Malonate

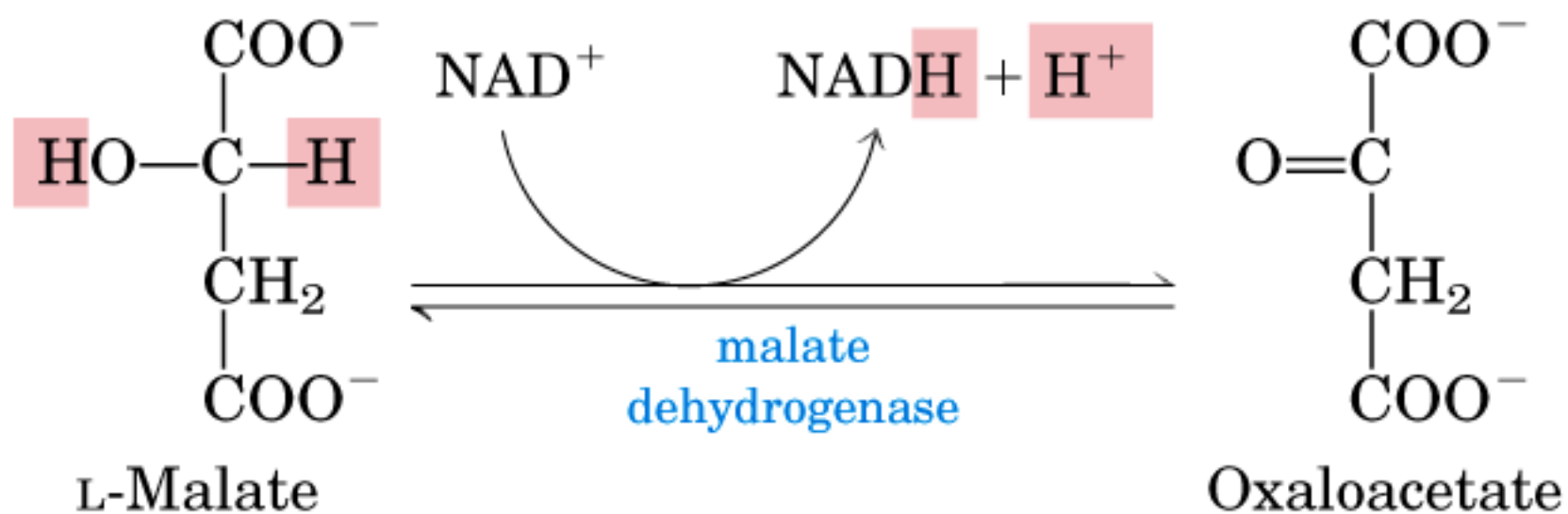


Succinate

Malonato: inibidor competitivo de succinato desidrogenase



$$\Delta G'^{\circ} = -3.8 \text{ kJ/mol}$$

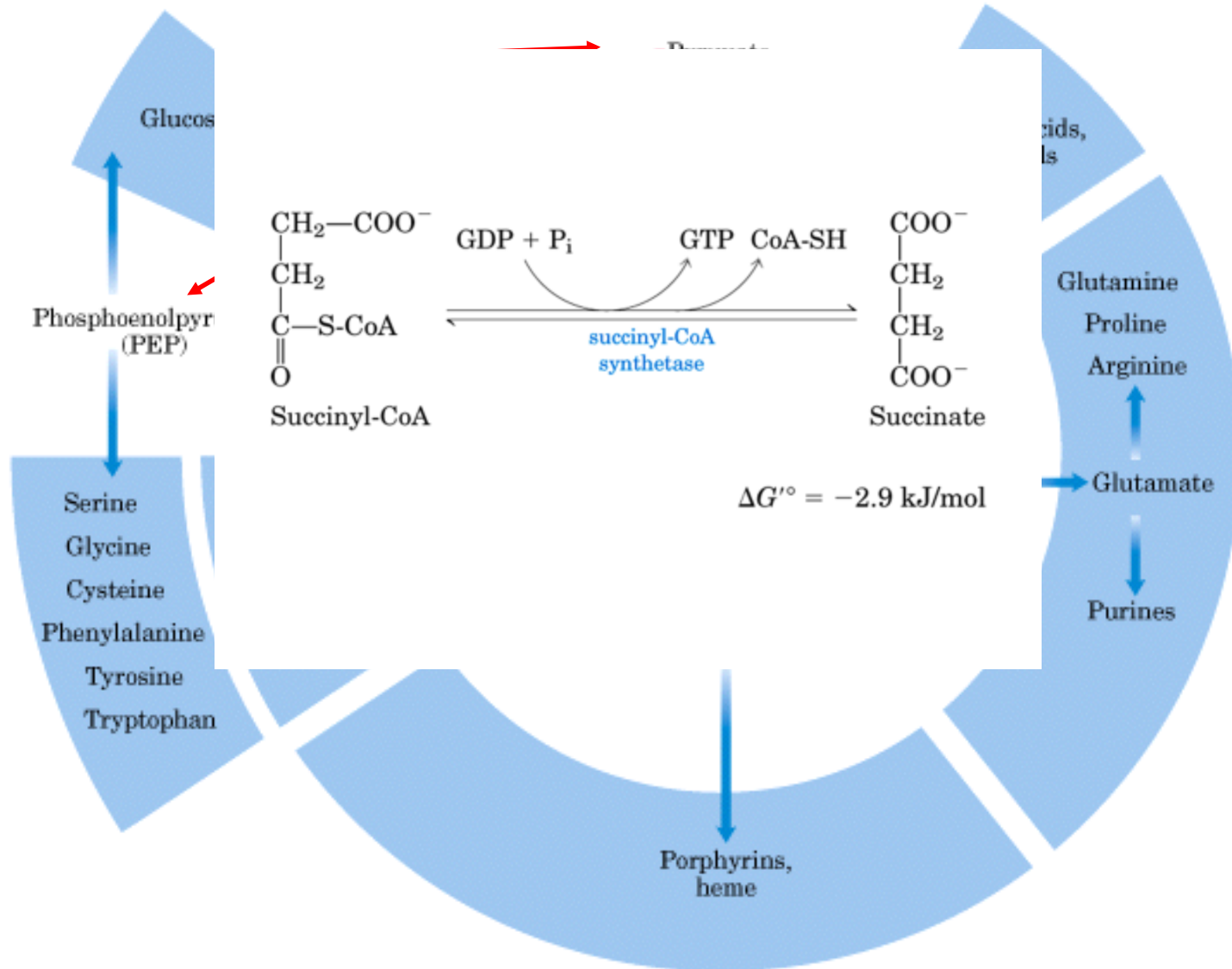


$$\Delta G'^{\circ} = 29.7 \text{ kJ/mol}$$

Funções anfibólicas do ciclo de Krebs

Vias anapleróticas fornecem intermediários do ciclo.

Vias anabólicas removem intermediários do ciclo para síntese de glicose, ácidos graxos, aminoácidos e porfirinas.



Aumento da concentração dos reagentes do ciclo

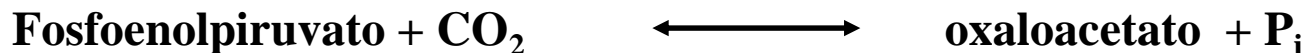
- **Piruvato carboxilase** - converte piruvato para oxaloacetato



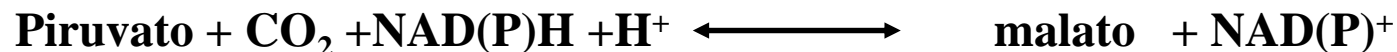
- **PEP carboxiquinase** (no musculo)



- **PEP (fosfoenolpiruvato) carboxilase** - converte PEP para oxaloacetato (em plantas)

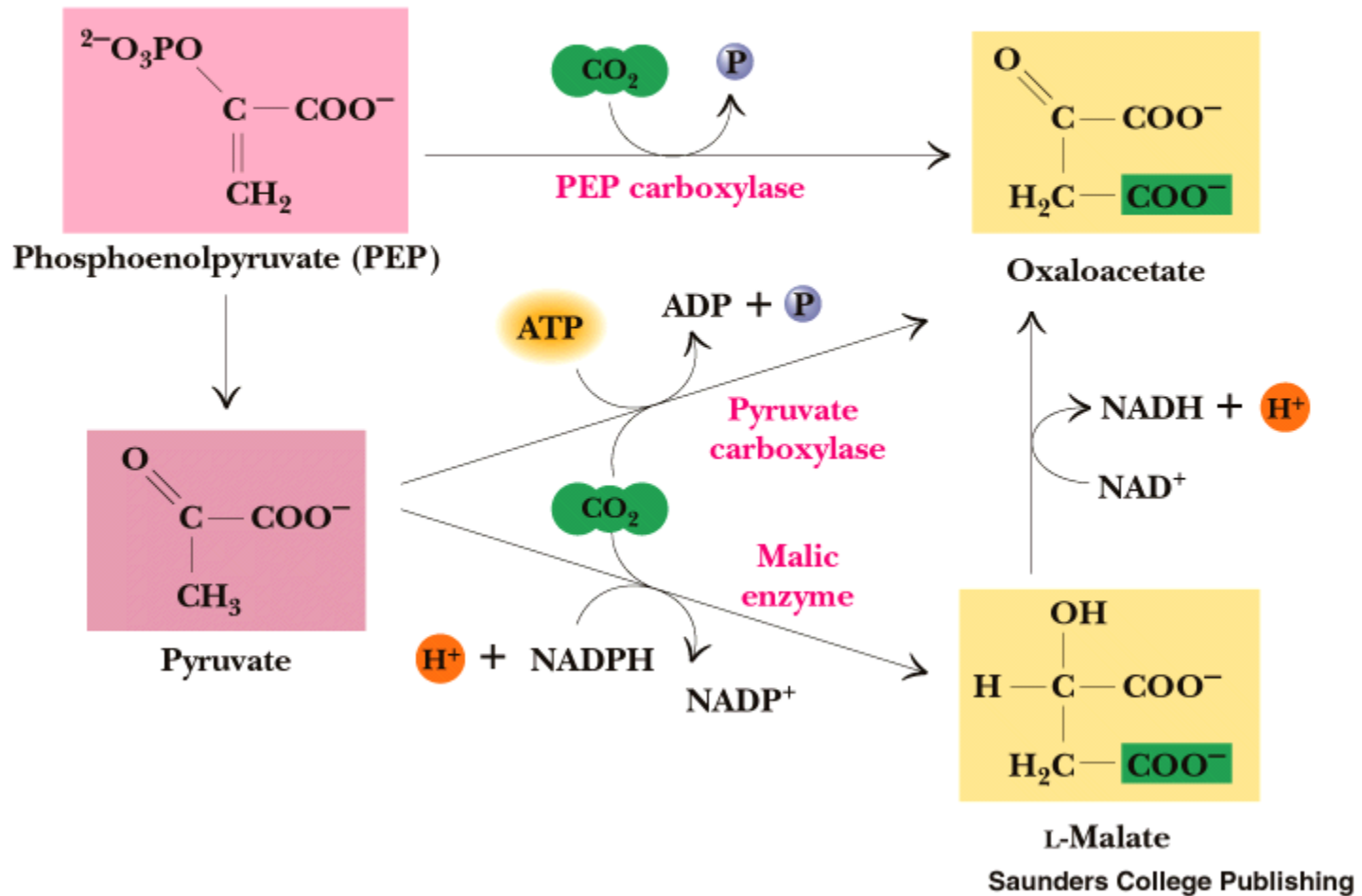


- **Enzima málica** converte piruvato para malato



Aumento da concentração de oxaloacetato

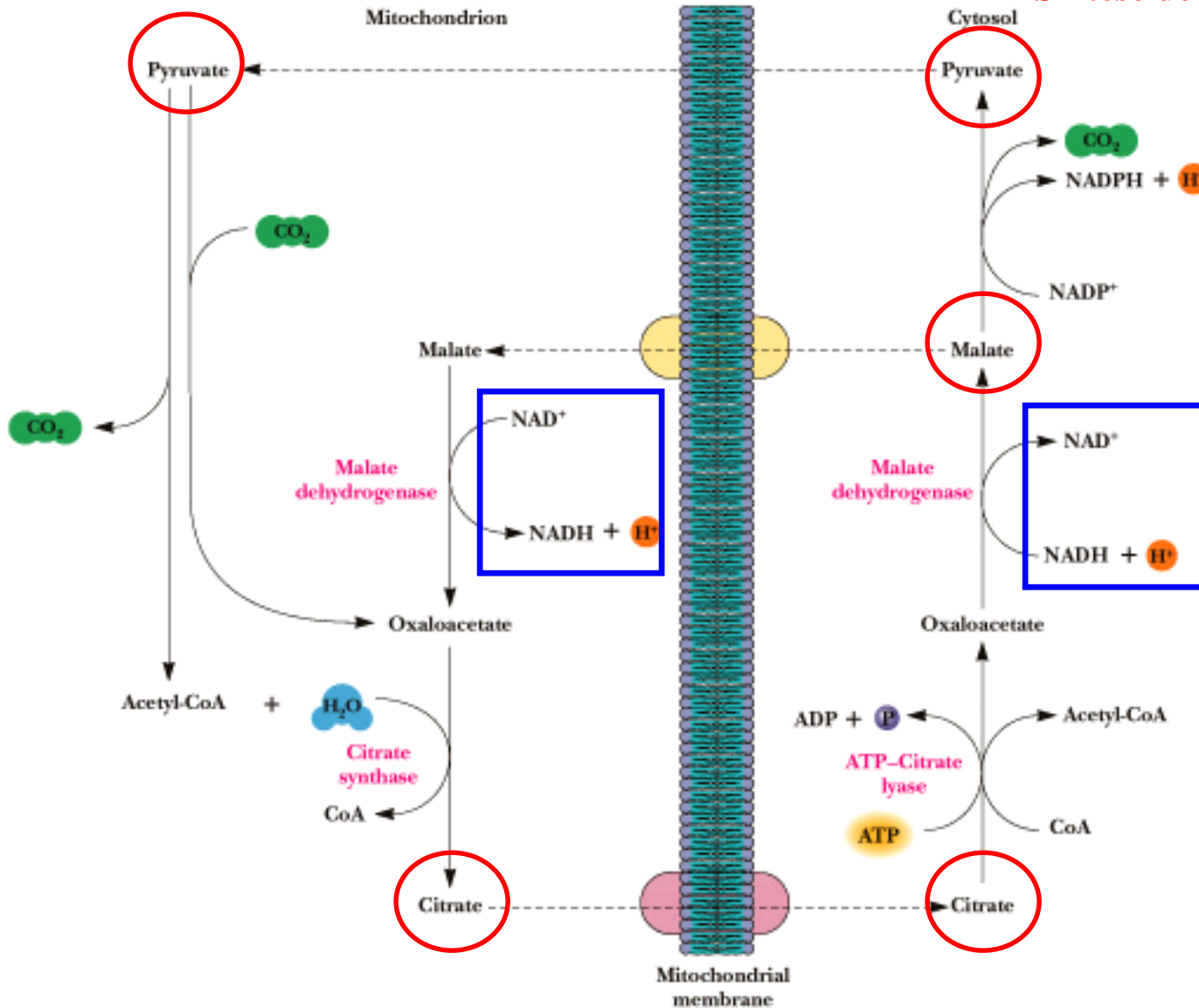
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 20.24



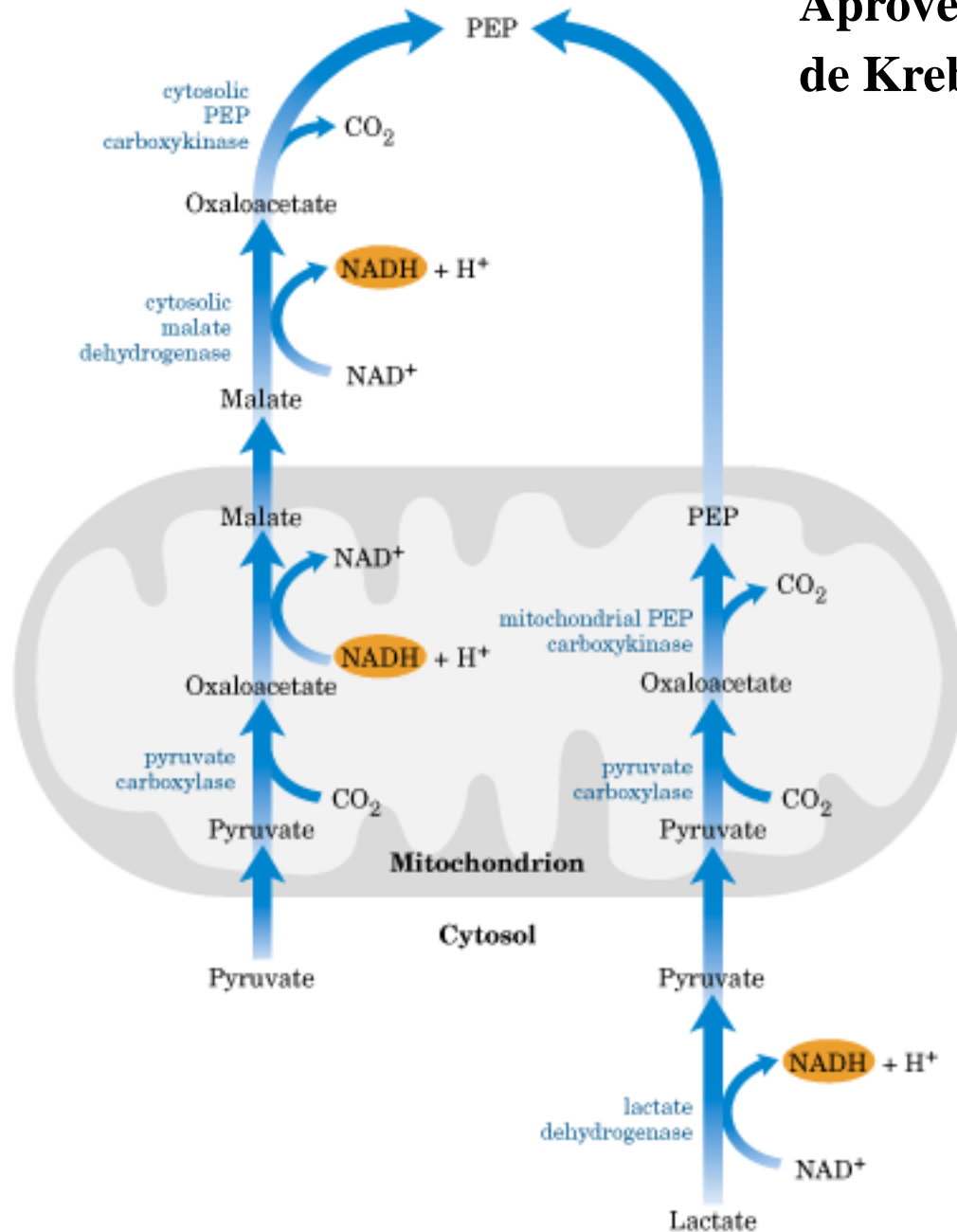
Ciclo de Krebs /
 β -oxidação

Transporte através da Membrana

Glicólise / gliconeogênese /
Síntese de ácidos graxos

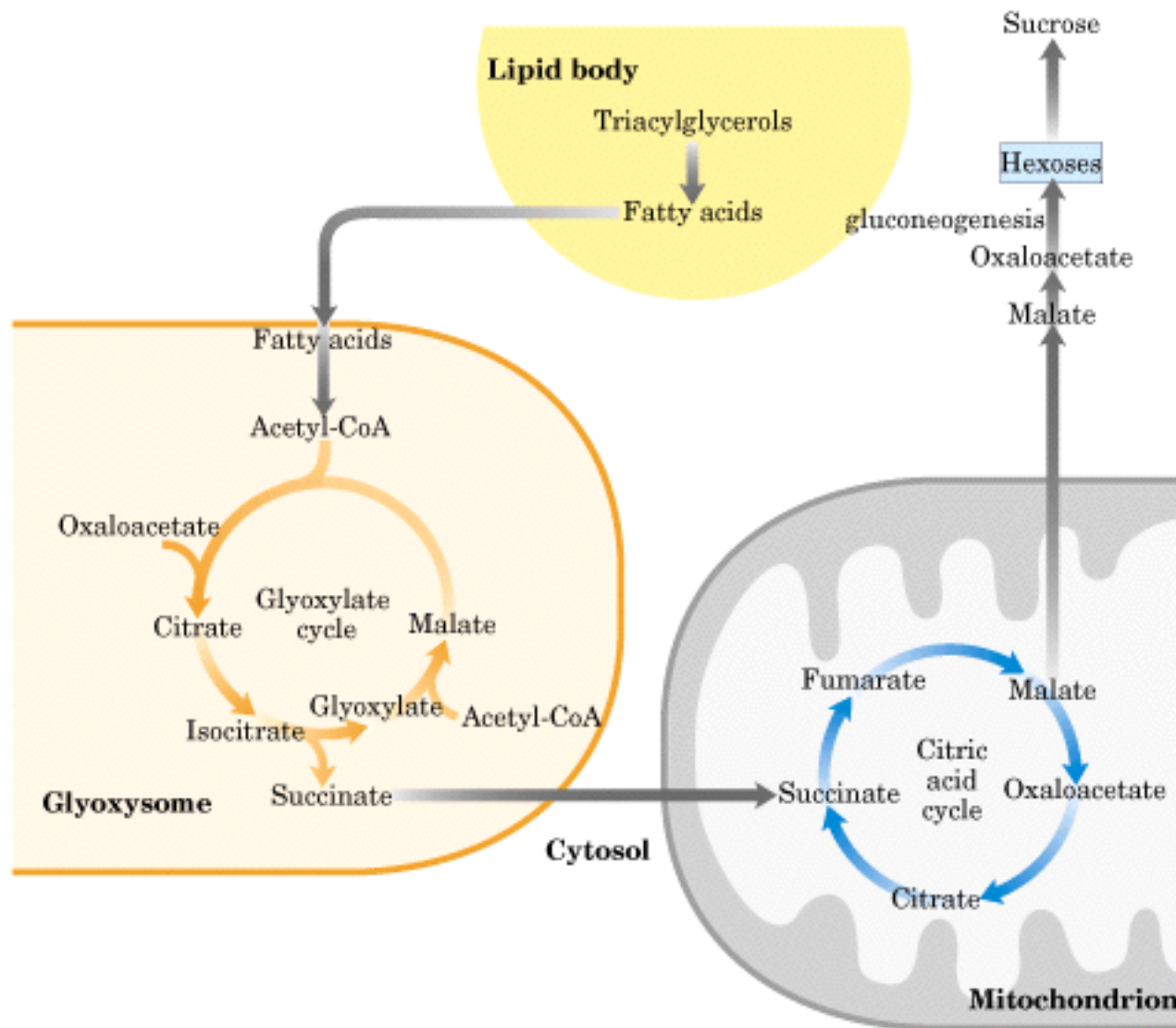


Aproveitamento do Lactato no ciclo de Krebs e na gliconeogênese



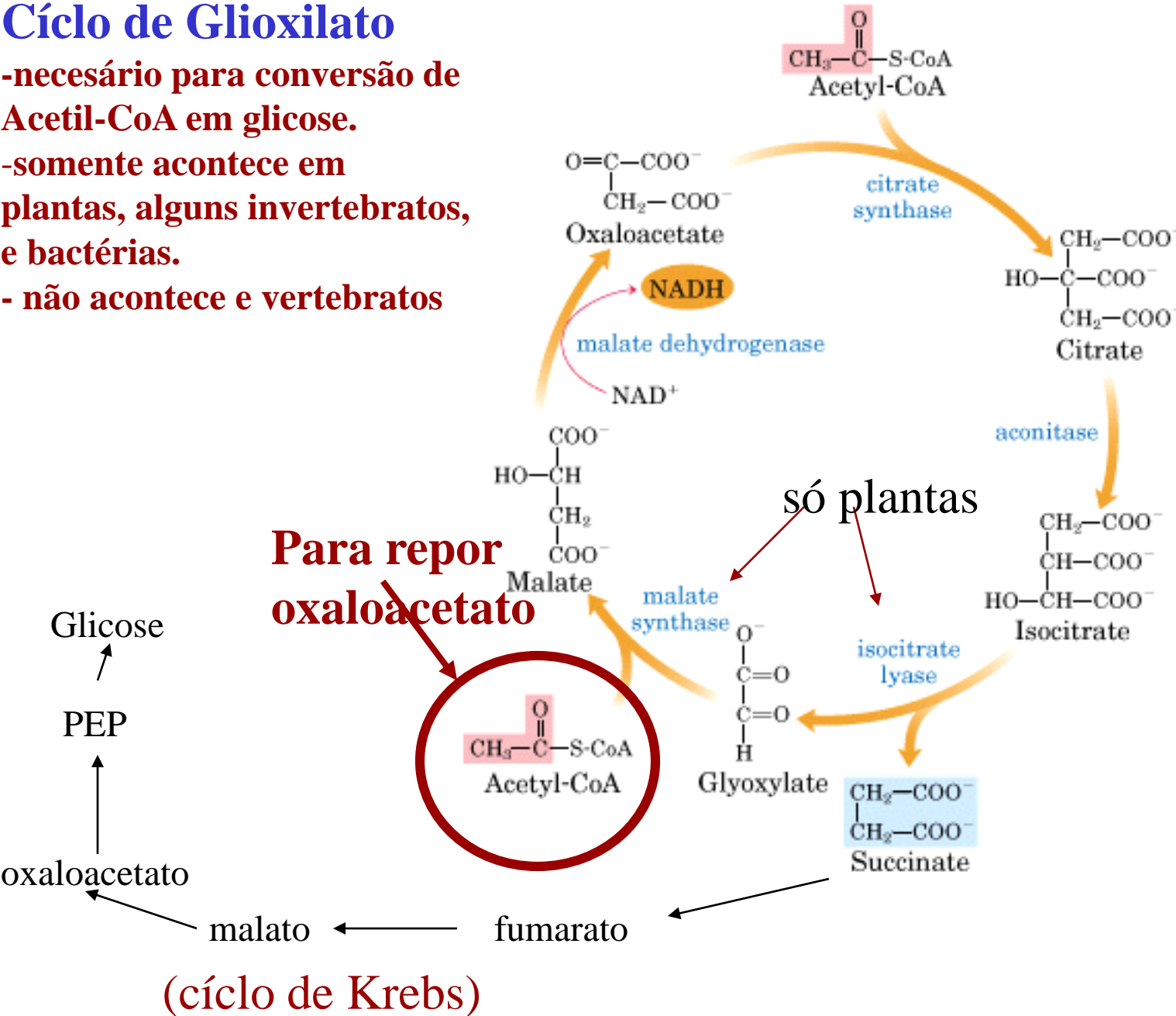
Resumo

- 1. O complexo multienzimático de piruvato desidrogenase que contém três enzimas e cinco cofatores que produz acetil-CoA a partir do piruvato.**
- 2. O grupo acetato da acetil-CoA é oxidado a duas moléculas de CO₂, com geração de 3 NADH, 1 FADH₂ e 1 GTP. A energia liberada quando as coenzimas são reduzidas é armazenada na forma de ATP com redução do oxigênio.**
- 3. O ciclo é regulado nas 3 enzimas que catalisam reações exergônicas: citrato sintase, isocitrato desidrogenase, e α-cetoglutarato desidrogenase. (disponibilidade de substrato; inibição da reação enzimática pelo produto).**
- 4. Ativação e inibição alostérica (NAD, NADH, ADP, ATP e cálcio).**



Ciclo de Glioxilato

- necesário para conversão de Acetil-CoA em glicose.
- somente acontece em plantas, alguns invertebratos, e bactérias.
- não acontece e vertebratos



Vitaminas e Co-enzimas

Water soluble vitamins → Coenzymes

Vitamin	Coenzyme	Biochem. Role
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate	C-(CO) cleavage rxn, eg. decarboxylation
Riboflavin (B ₂)	Flavin adenine dinucleotide (FAD) / Flavin mononucleotide (FMN)	Oxidoreductases of sugars & lipids
Niacin (B ₃)	NAD ⁺ / NADP ⁺ .	NAD - oxidative phosphorylation NADP - reduction in biosynthesis
Panthenic acid (B ₅)	Coenzyme A	C-C bonds with two-carbon additions - central to metabolism
Pyridoxal (B ₆)	Pyridoxal phosphate	Transamination reactions
Cobalamin (B ₁₂)	Various eg. methyl~	Single-carbon addition reactions
Biotin	Biocytin	Carboxylation reactions - activates CO ₂ (leaving group)
Lipoic acid	Lipoamide	Pyruvate dehydrogenase complex
Folic acid	Tetrahydrofolate	Single-carbon addition reactions



Importância Biomedica

- ✓ A função principal do ciclo do ácido cítrico é a de actuar como via final comum para a oxidação dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas;
- ✓ Este ciclo tem também um papel essencial na gliconeogénese, transaminação e lipogénese;

Repercussões

- ✓ Para o desenvolvimento normal do ser humano, não podem ocorrer anomalias genéticas nas enzimas intervenientes neste ciclo

Caso Clínico

Beribéri



Insuficiência de
Tiamina Vitamina
B₁



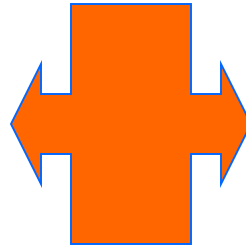
Afeta

- ✓ Coração
- ✓ Sistema Nervoso Central

Caso Clínico

Beribéri

Cardiovascular (Beribéri Húmido) que se caracteriza por uma insuficiência cardíaca de alto débito com taquicardia, aumento de pressão venosa central, retenção de sódio com ou sem edema periférico que pode evoluir para edema agudo de pulmão;



Cerebral (Beribéri Seco) que se caracteriza por confusão mental e oftalmoplegia podendo evoluir para o coma (encefalopatia de Wernicke). A neuropatia periférica é acompanhada de distúrbio de sensibilidade e formiguelo nos membros inferiores.

Caso Clínico

- ✓ Esta vitamina faz parte do grupo prostético tiamina pirofosfato (TPP) integrante das enzimas piruvato desidrogenase, α -cetoglutarato desidrogenase e transcetolase (via das pentoses-P)
- ✓ Ocorrendo uma falta desta vitamina, normalmente devido à má nutrição, torna-se impossível sintetizar as enzimas mencionadas, ocorrendo uma conseqüente acumulação de piruvato e α -cetoglutarato no sangue.
- ✓ O diagnóstico da doença faz-se por teste da actividade da transcetolase nas hemácias, que em caso de doença é muito baixa.