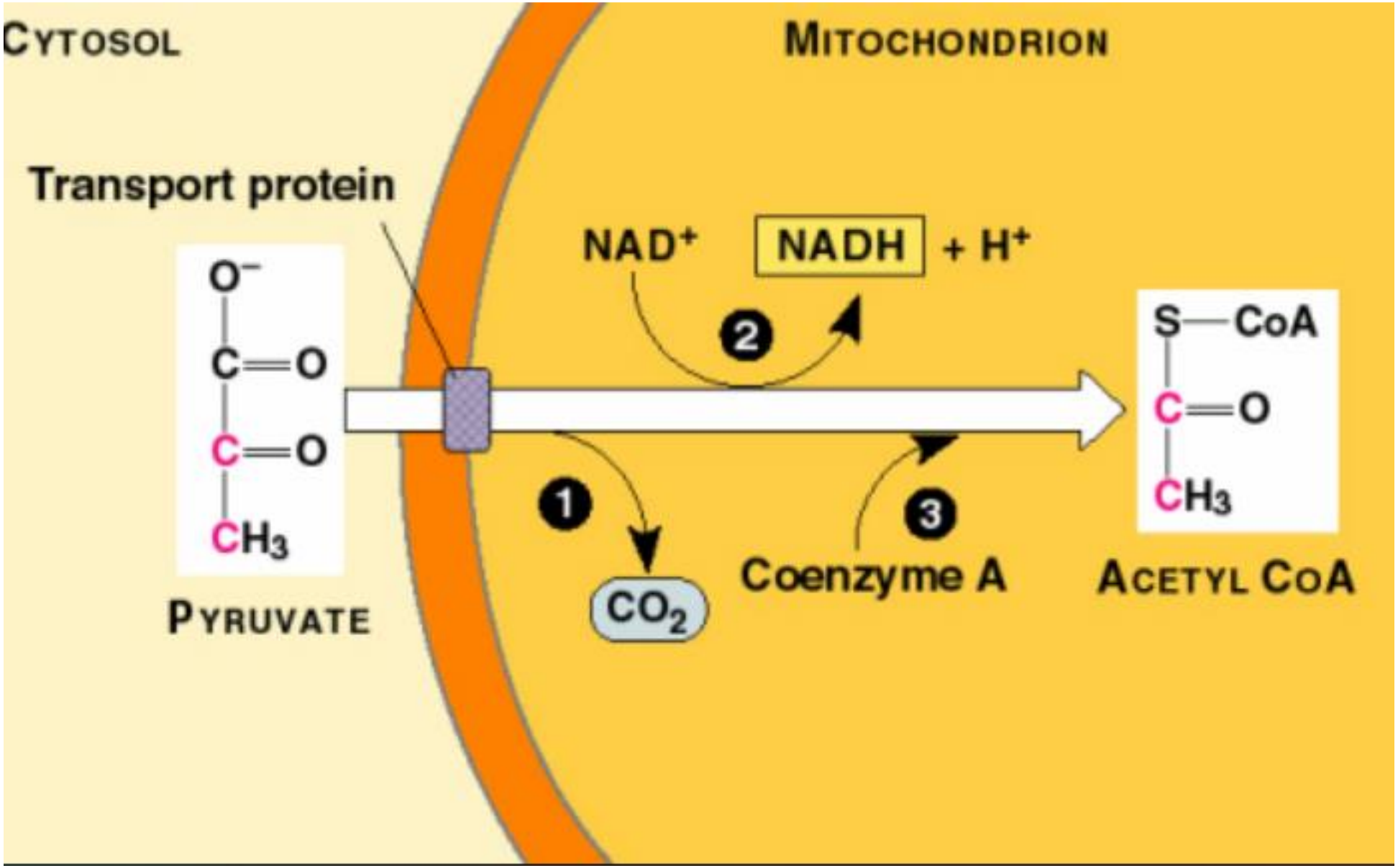
Formação de Acetil-CoA e Ciclo de Krebs

1. Descarboxilação do piruvato e formação da acetil-coenzima A
2. Ciclo de Krebs: Lógica, rendimento, regulação
3. Descrição e historia da descoberta

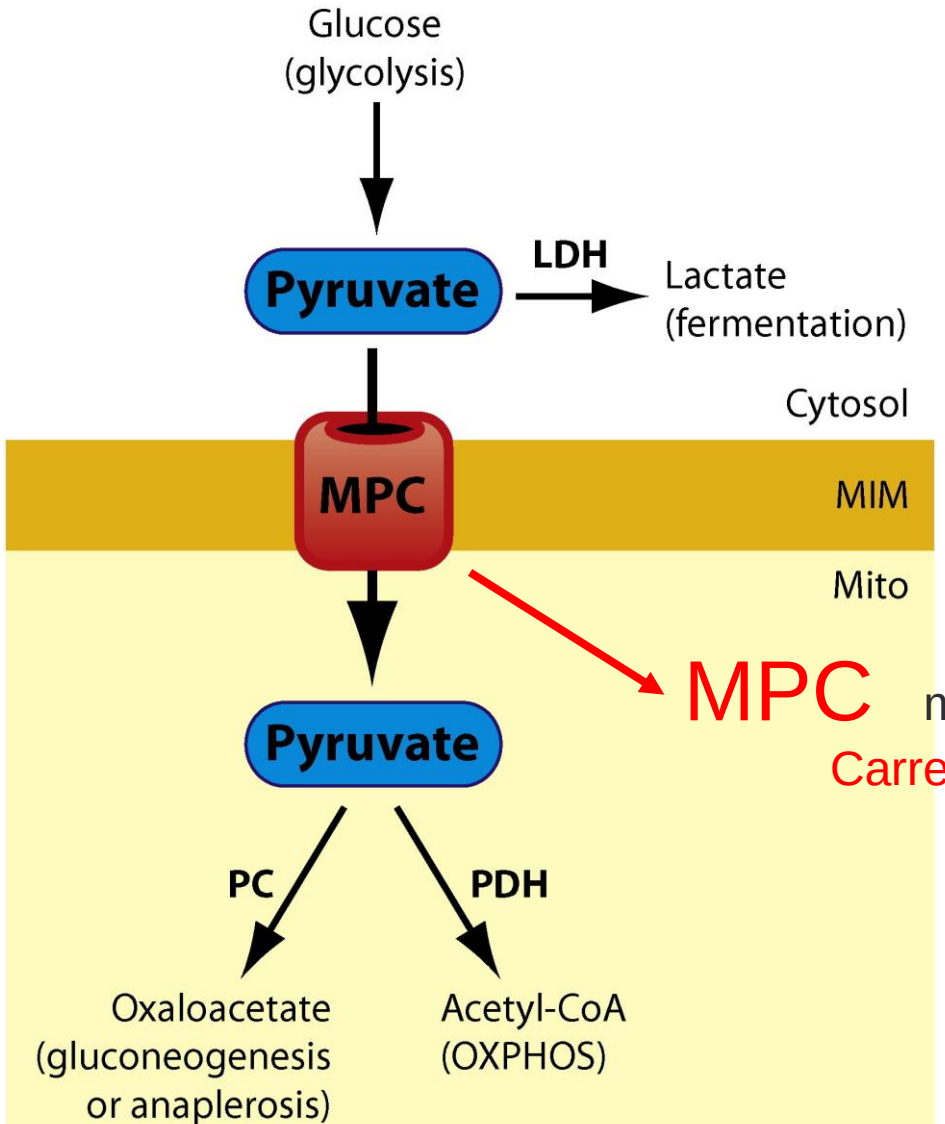
Mauricio S. Baptista
Departamento de Bioquimica, IQUSP

Descarboxilação do piruvato e formação da acetil-coenzima A

Como o piruvato entra na mitocôndria?



A entrada do piruvato ocorre por uma proteína específica MPC!



MPC mitochondrial pyruvate carrier

Carreador de piruvato mitocondrial

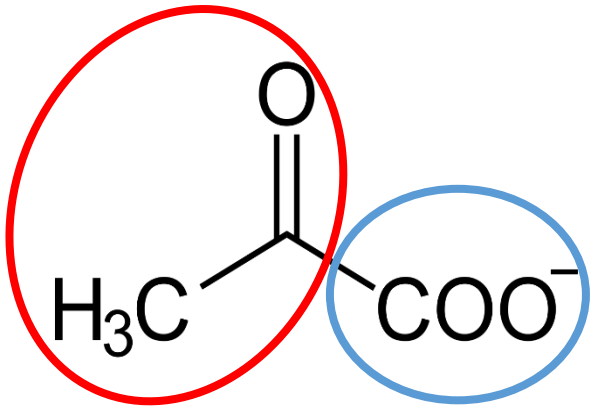
Depende da mitocôndria estar respirando e gerando o gradiente de prótons! ΔpH

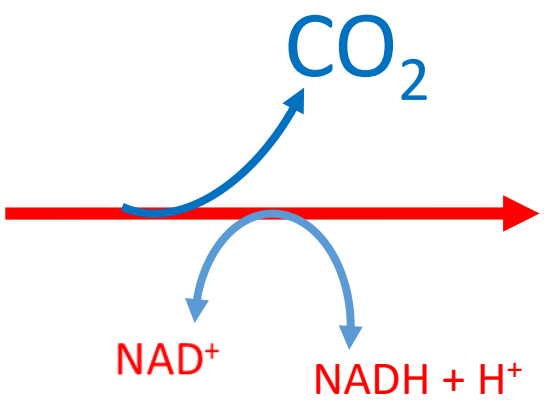
The mitochondrial pyruvate carrier in health and disease: To carry or notto carry? Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 1863, Issue 10, 2016, 2436.

DESCOBERTA RECENTE!

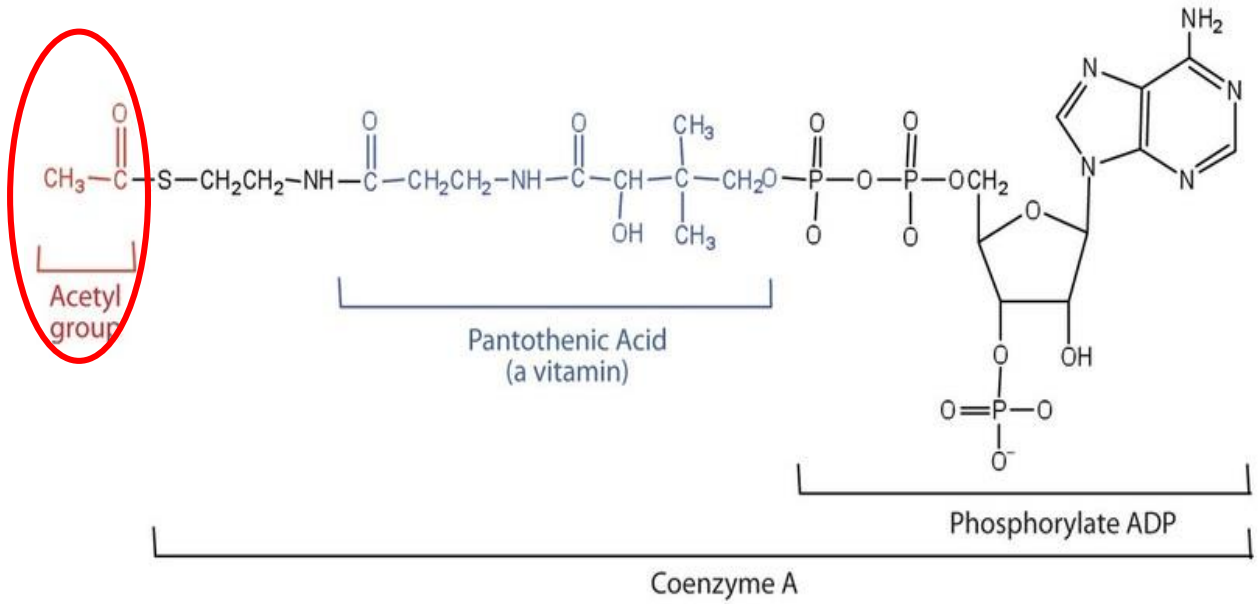
Descarboxilação e oxidação

Piruvato

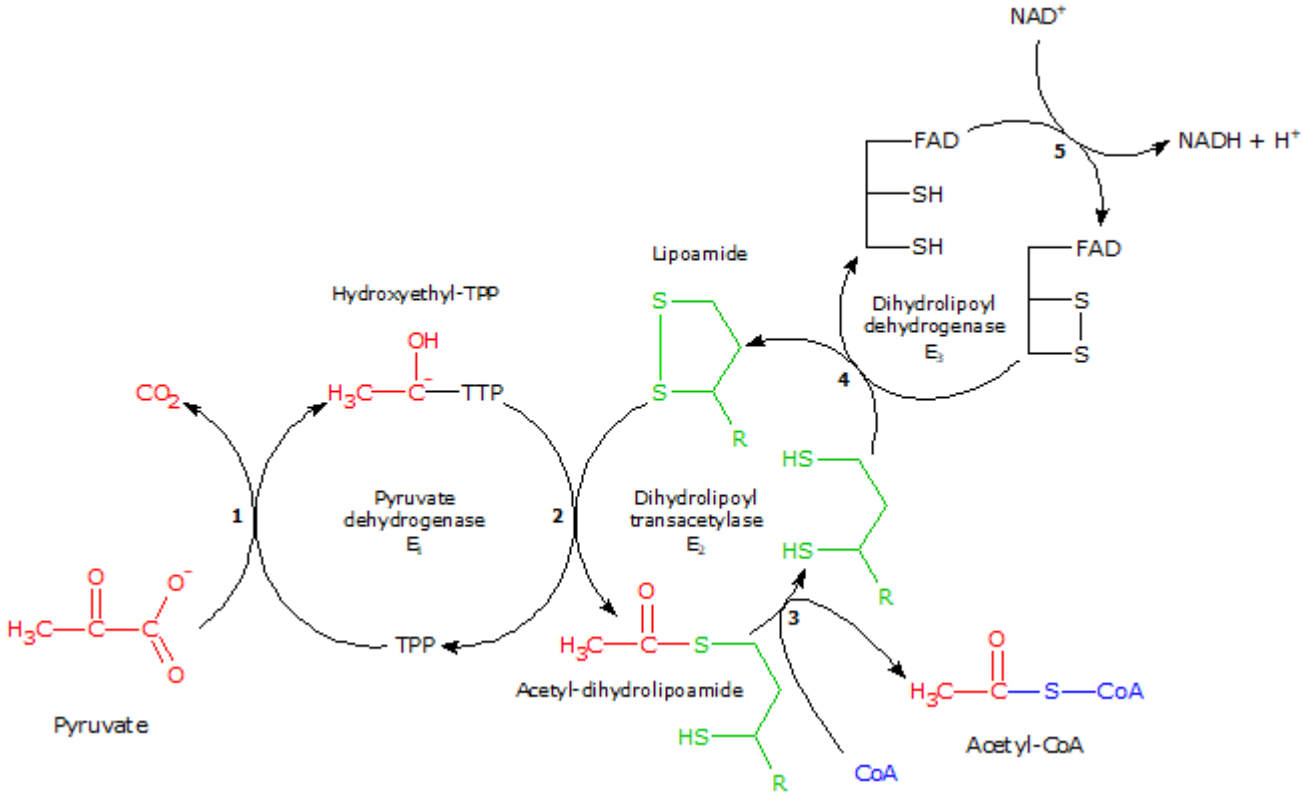




Acetil-coenzima A



Complexo Piruvato desidrogenase



Grupos prostéticos

-Tiamina pirofosfato (TPP), tiamina (vitamina B1)

-Dinucleótido flavina adenina (FAD), riboflavina (vitamina B2)

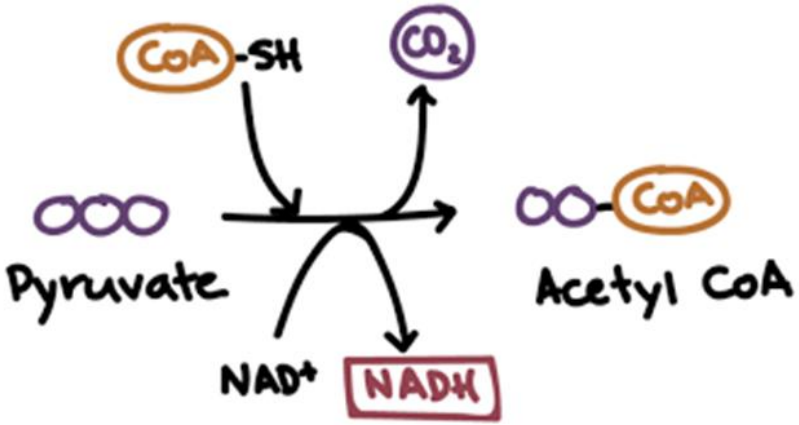
-Lipoato

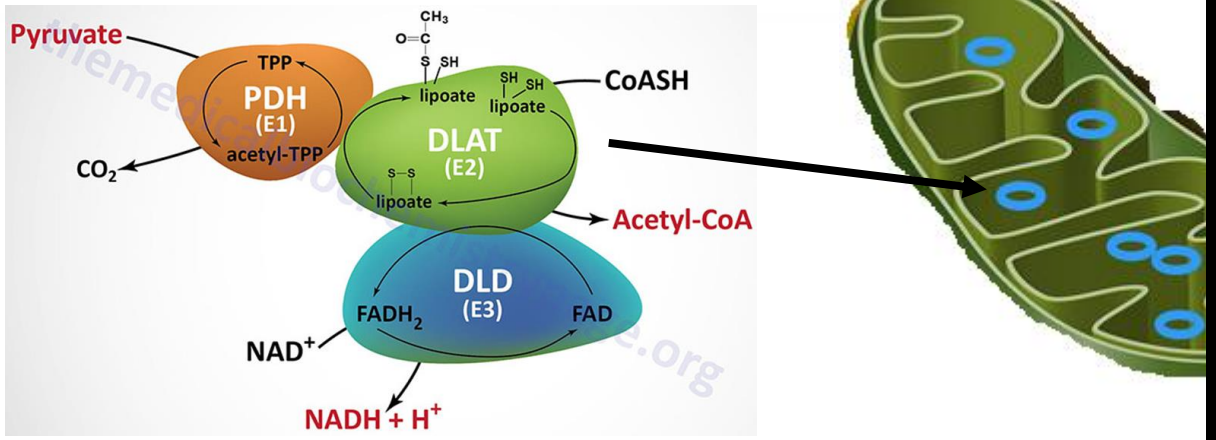
Coenzimas

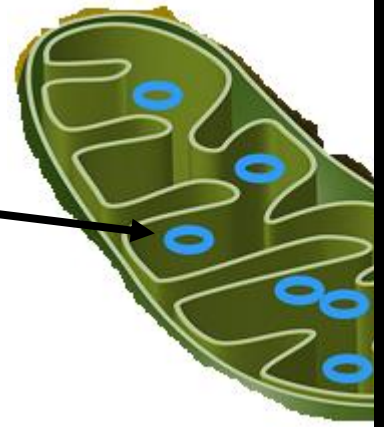
-Coenzima-A (CoA), acido pantotênico (vitamina B5)

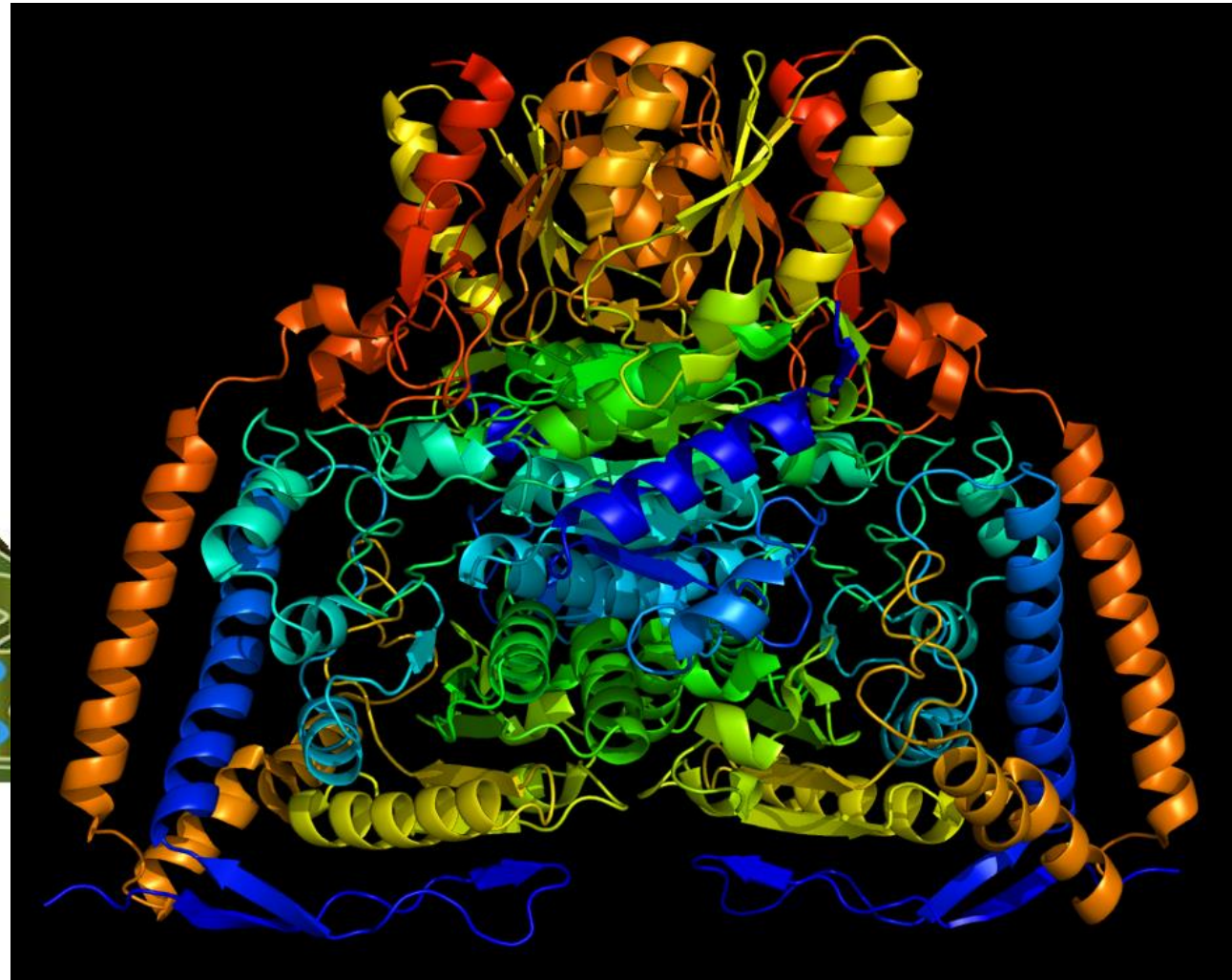
-Dinucleótido nicotinamida adenina (NAD+), nicotinamida (vitamina B3)

Complexo piruvato desidrogenase





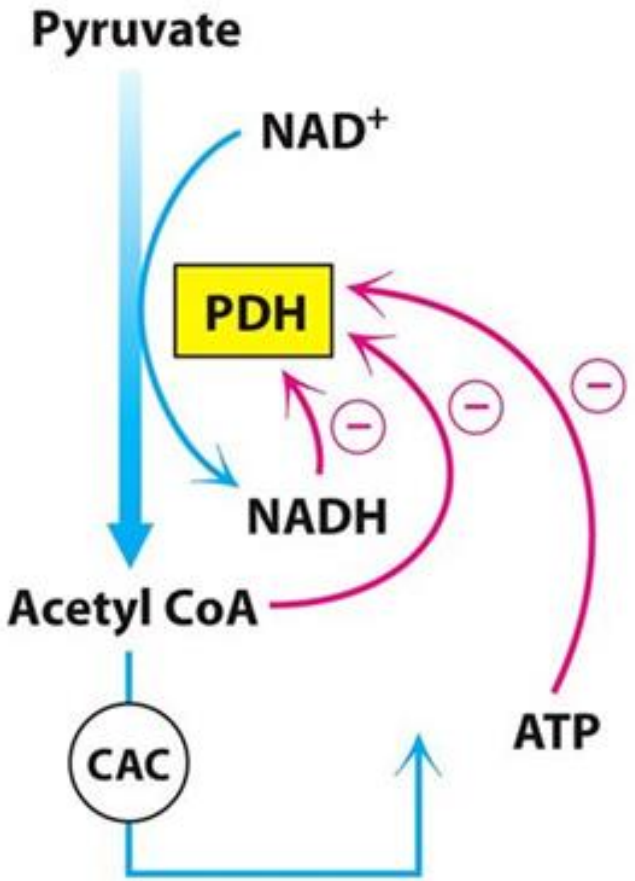




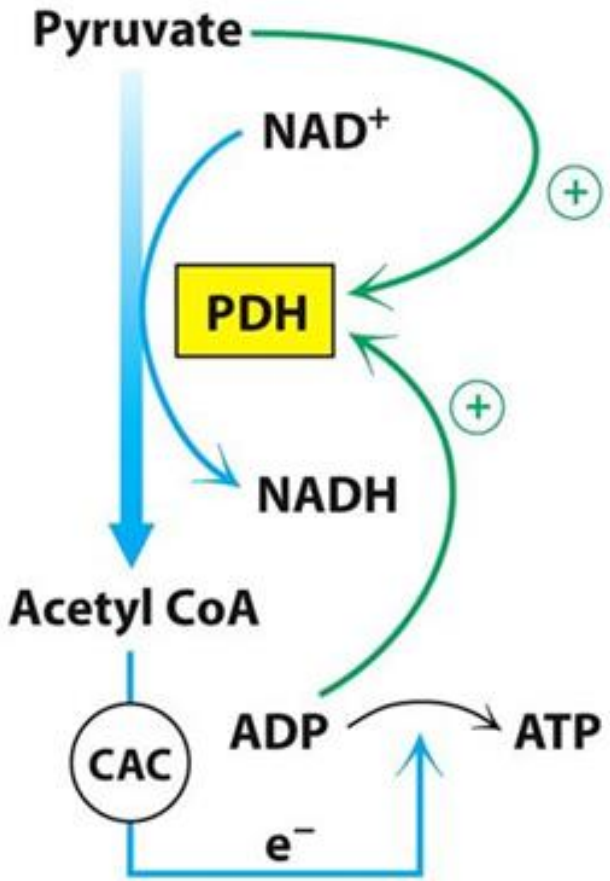
Matriz da mitocôndria

Regulação alostérica do complexo piruvato desidrogenase

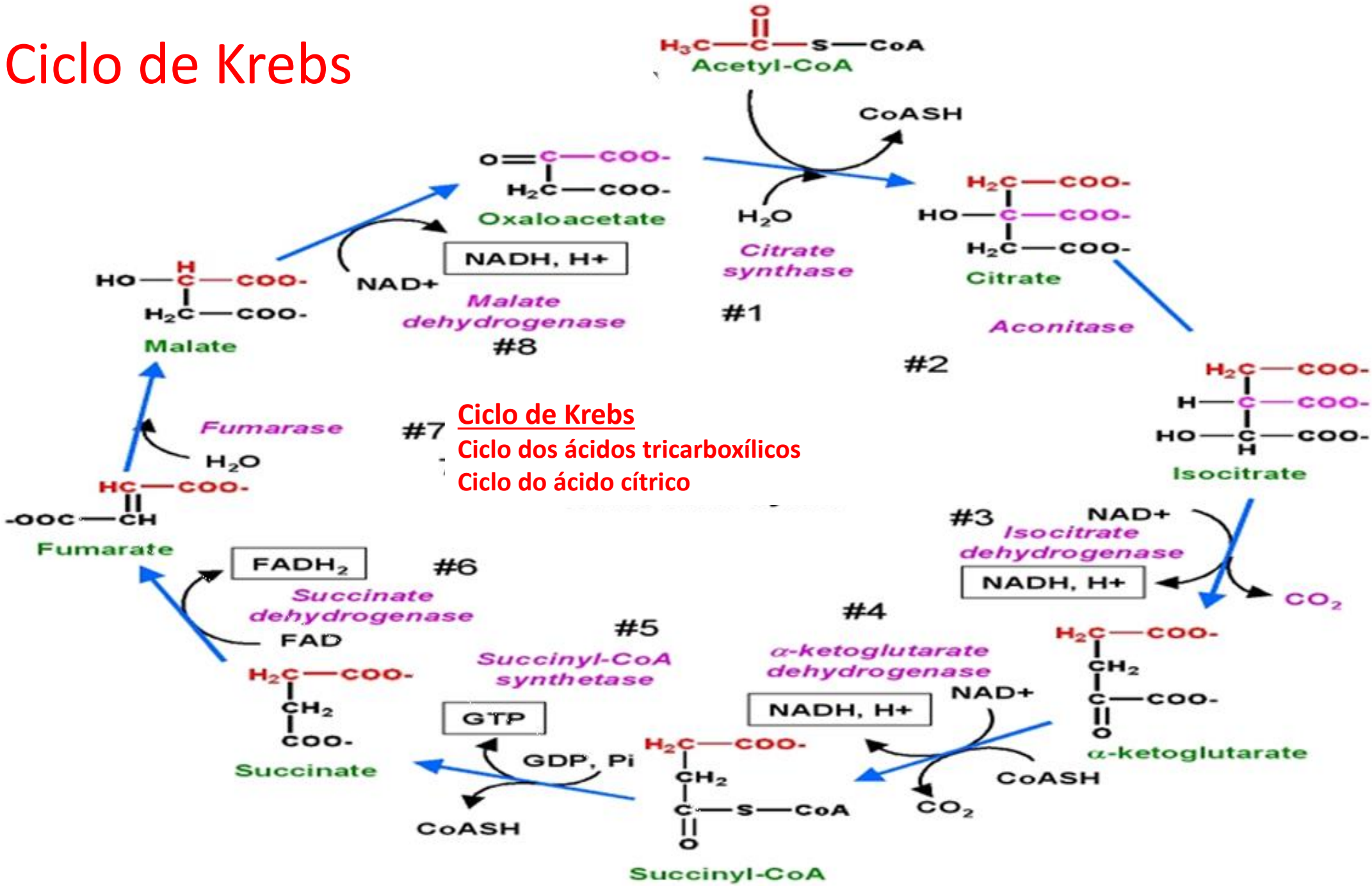
[ATP]/[ADP] ↑



[ATP]/[ADP] ↓



Ciclo de Krebs



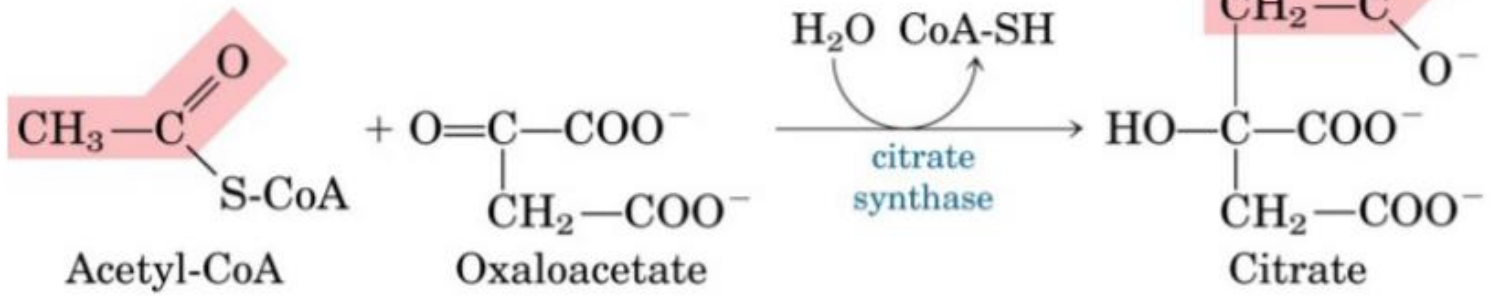
Ciclo de Krebs

Ciclo dos ácidos tricarboxílicos

Ciclo do ácido cítrico

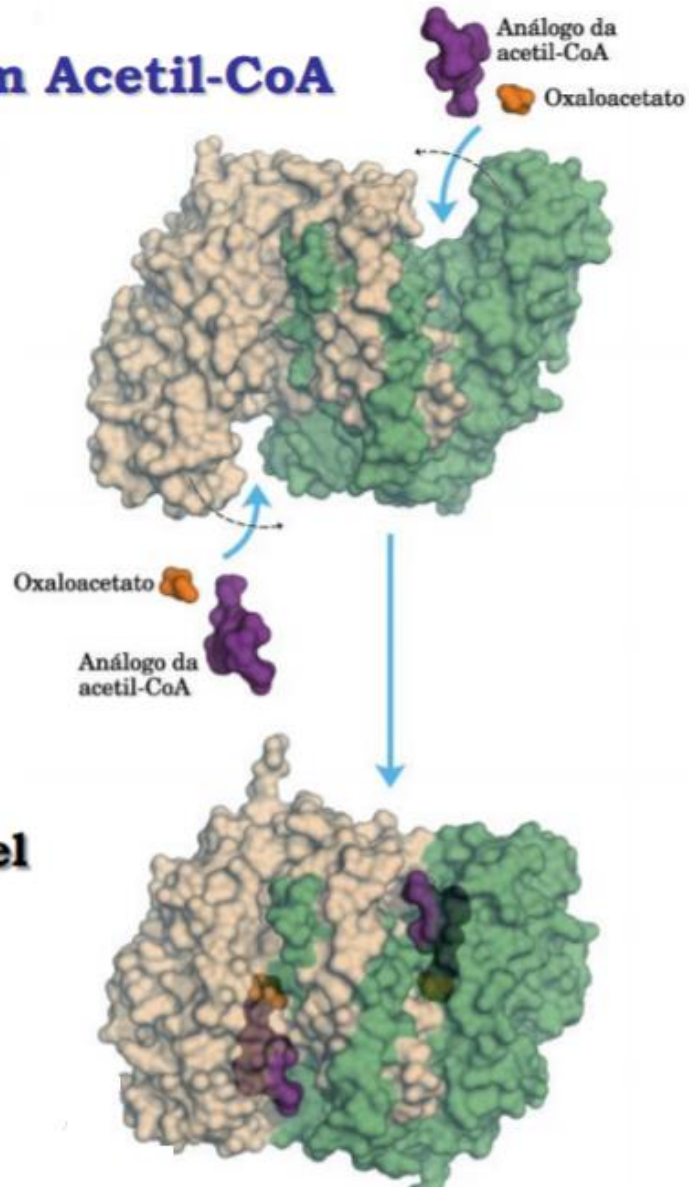
Citrato sintase

Catalisa a condensação de oxaloacetato com Acetil-CoA



Acetyl-CoA Oxaloacetate Citrate

$\Delta G'^{\circ} = -32.2$ kJ/mol

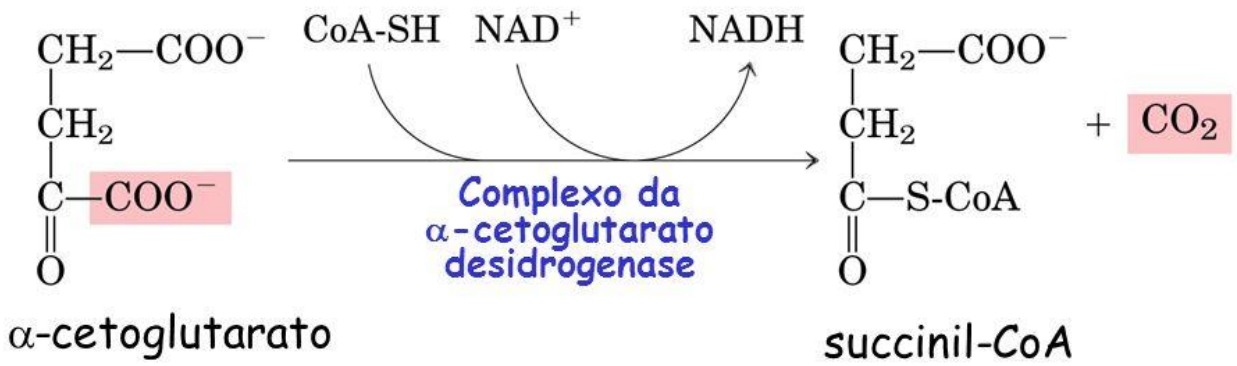


Citrato sintase → Homodímero

- **1 ° substrato → Oxaloacetato**

→ induz mudanças conformacionais no domínio flexível criando um sítio de ligação para o 2 ° substrato → acetil-CoA

Alfa-cetoglutarato desidrogenase



$\Delta G'^{\circ} = -33.5$ kJ/mol

- Classifique a reação acima quanto à liberação de energia:

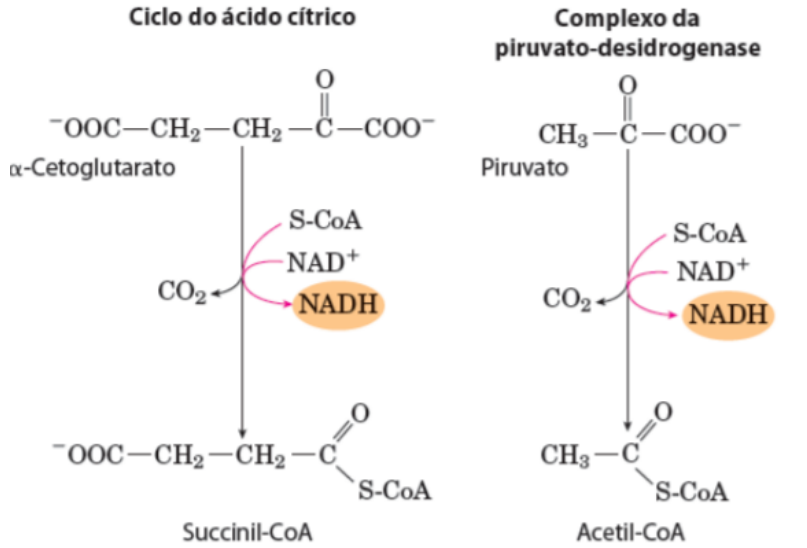
- Cite características deste tipo de reação:

Grupos prostéticos

-Tiamina pirofosfato (TPP), tiamina (vitamina B1)
-Dinucleótido flavina adenina (FAD), riboflavina (vitamina B2)
-Lipoato

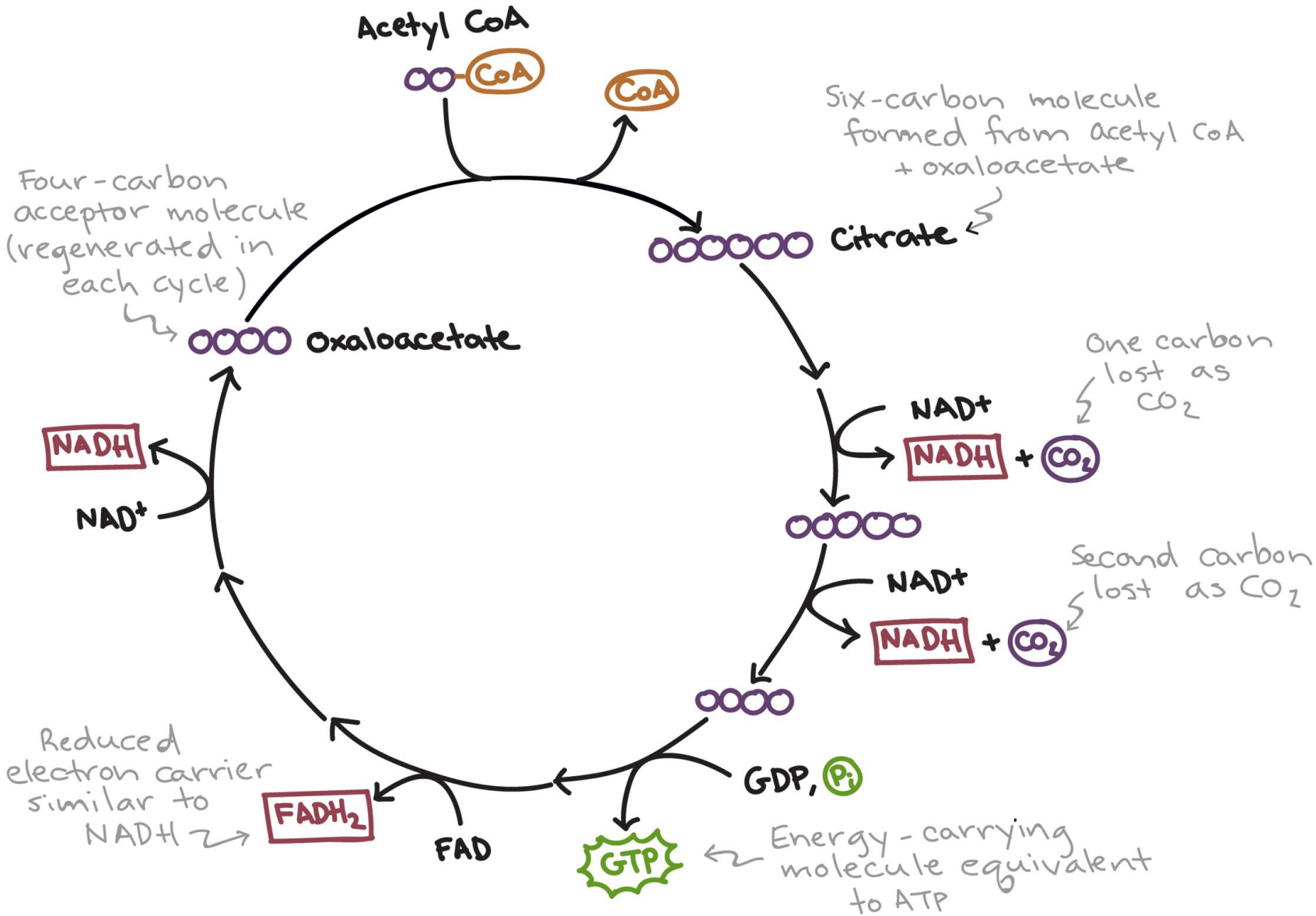
Coenzimas

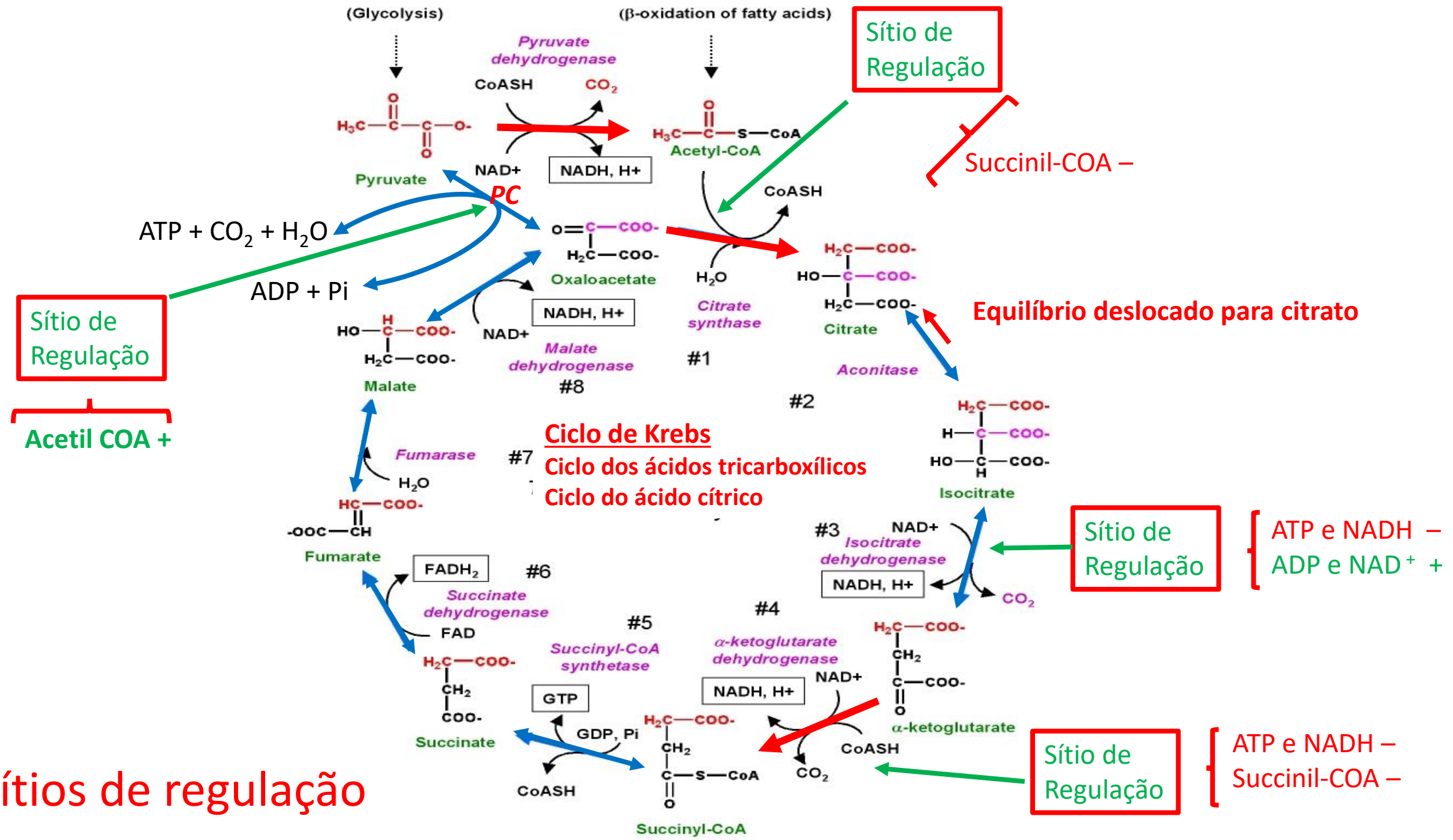
-Coenzima-A (CoA), acido pantotênico (vitamina B5)
-Dinucleótido nicotinamida adenina (NAD+), nicotinamida (vitamina B3)



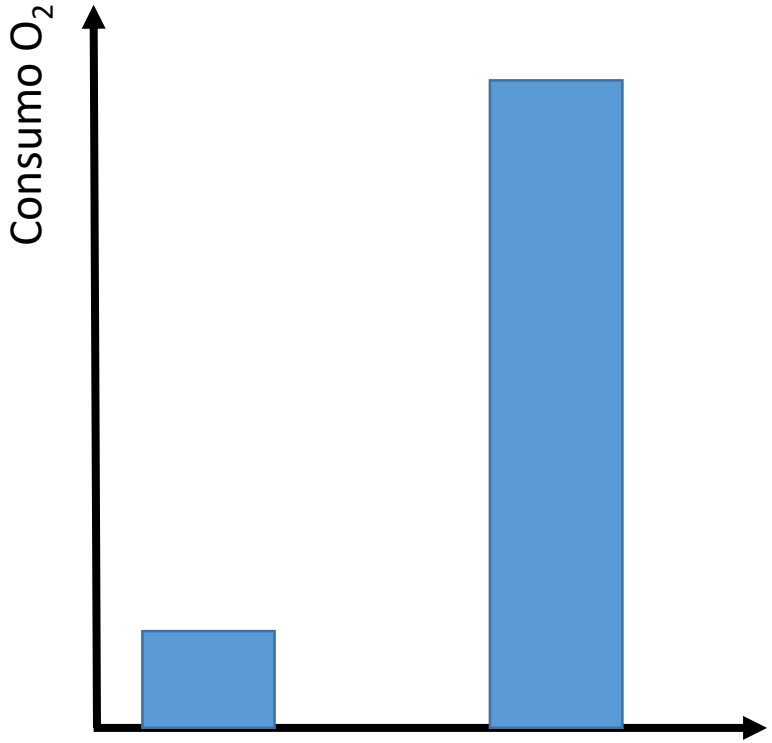
Rendimentos do ciclo de Krebs

 # NADH: 3
 # $FADH_2$:1
 # ATP: 1



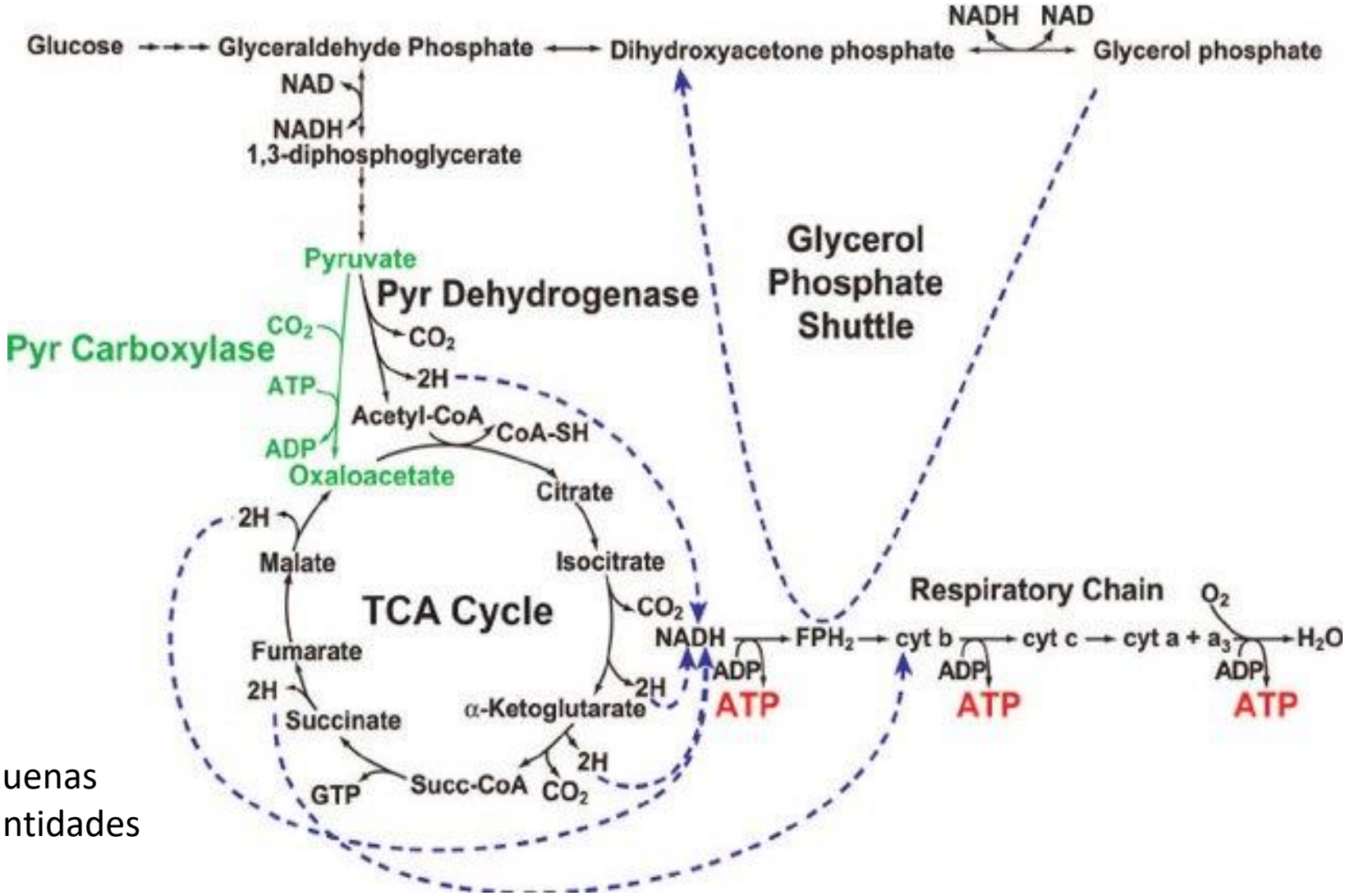

(Glycolysis)
(β-oxidation of fatty acids)
Pyruvate dehydrogenase
CoASH
CO_2
NAD+
NADH, H+
Pyruvate
Acetyl-CoA
PC
$ATP + CO_2 + H_2O$
$ADP + Pi$
Oxaloacetate
Citrate synthase
H_2O
Citrate
Malate dehydrogenase
Malate
#1
#2
#8
Aconitase
Isocitrate
Fumarase
#7
Fumarate
#3
Isocitrate dehydrogenase
NAD+
NADH, H+
CO_2
$FADH_2$
#6
Succinate dehydrogenase
FAD
Succinate
#5
Succinyl-CoA synthetase
GTP
GDP, Pi
CoASH
Succinyl-CoA
#4
α-ketoglutarate dehydrogenase
NAD+
NADH, H+
CoASH
CO_2
α-ketoglutarate
Sítio de Regulação
Succinil-COA –
Equilíbrio deslocado para citrato
Sítio de Regulação
Acetil COA +
Ciclo de Krebs
Ciclo dos ácidos tricarboxílicos
Ciclo do ácido cítrico
Sítio de Regulação
ATP e NADH –
ADP e NAD+ +
Sítio de Regulação
ATP e NADH –
Succinil-COA –
Sítios de regulação

Piruvato carboxilase e a regulação do ciclo de krebs

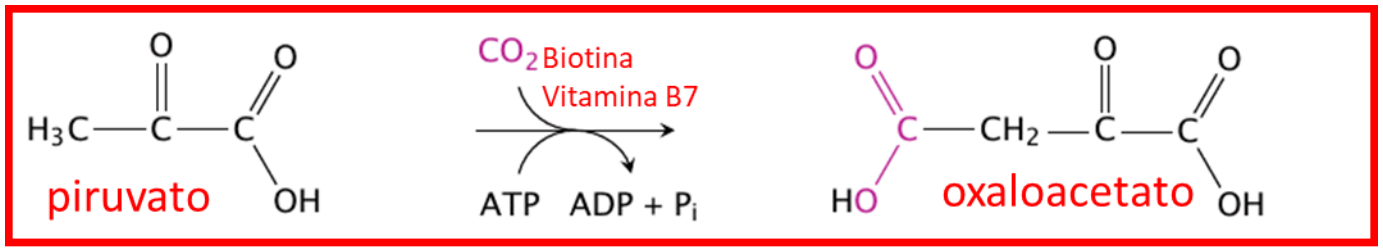


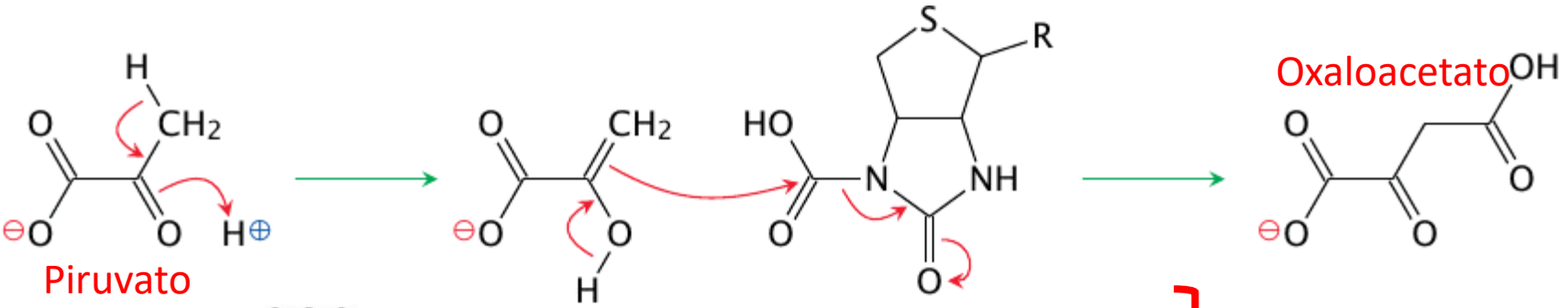
hepatócito

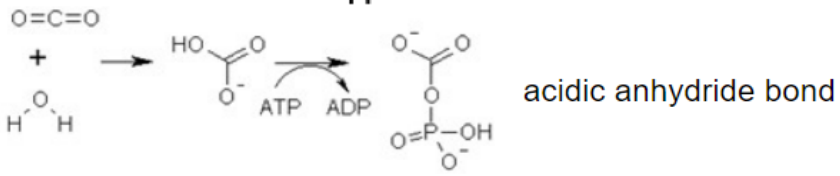
Pequenas quantidades

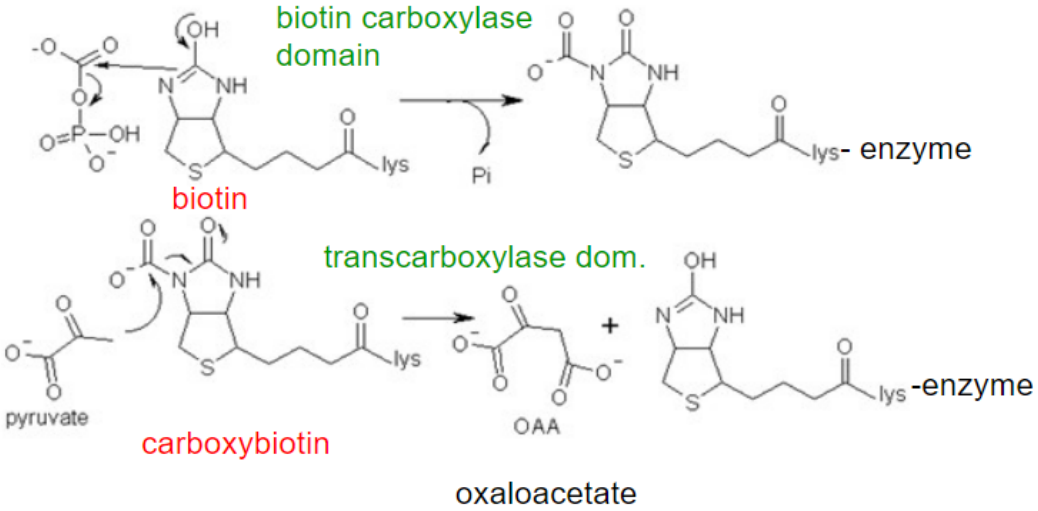


Piruvato Carboxilase







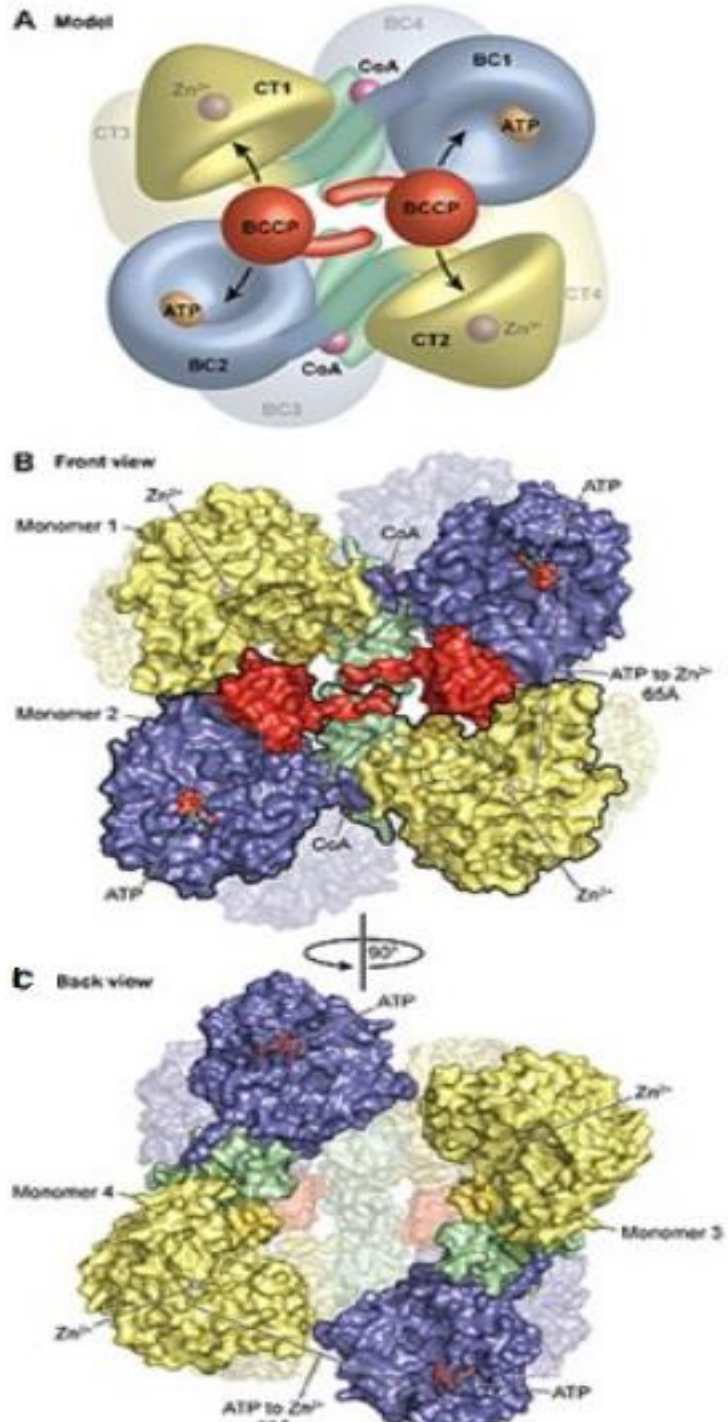


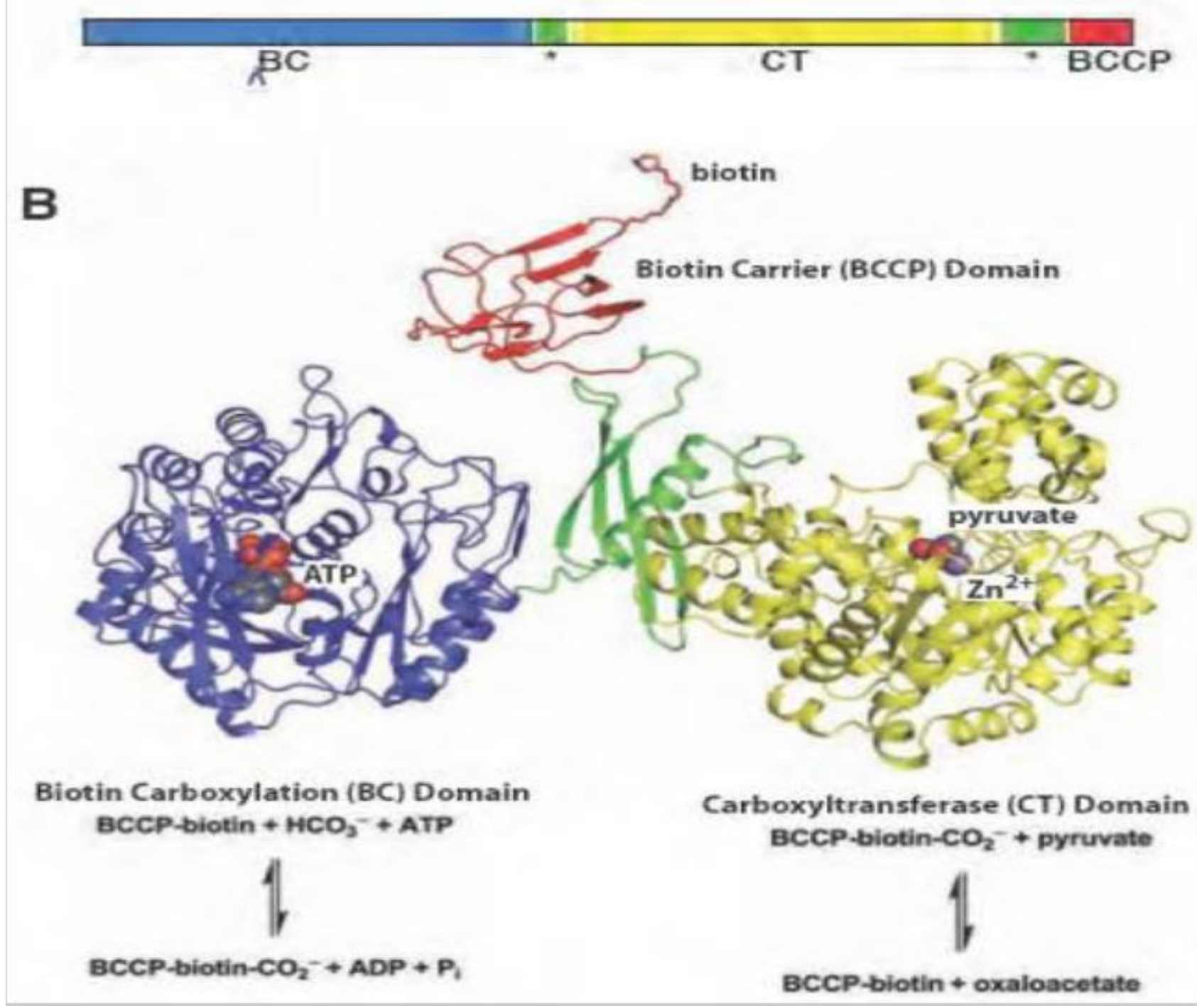
As reações de carboxilação envolvem a co-enzima biotina, também conhecida como vitamina B7!

- ATP ativa CO_2
- Biotina recebe CO_2 do P-CO_2
- Biotina transfere CO_2 piruvato

Piruvato Carboxilase

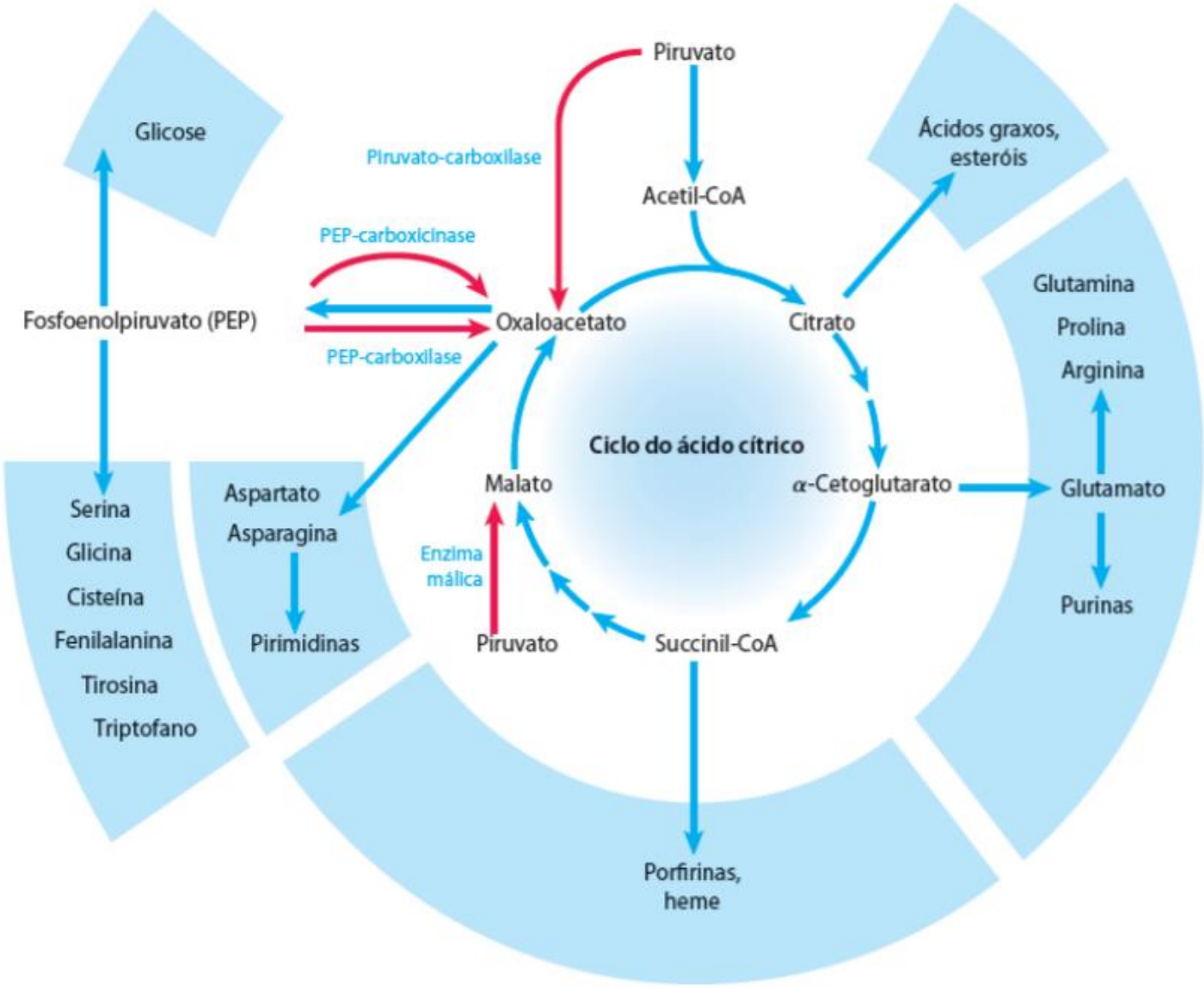
1. Encontrada na matriz mitocondrial
2. Grupo prostético é a biotina
3. Requer ATP na catálise
4. É ativada alostericamente por Acetil coenzima A
5. Tem 3 domínios:
   - Biotina carboxilase (BC)
   - Carreador de biotina (BCCP)
   - Carboxitransferase (CT)




BC
CT
BCCP
B
biotin
Biotin Carrier (BCCP) Domain
ATP
pyruvate
Zn^{2+}
Biotin Carboxylation (BC) Domain
BCCP-biotin + HCO_3^- + ATP
BCCP-biotin-CO_2^- + ADP + P_i
Carboxyltransferase (CT) Domain
BCCP-biotin-CO_2^- + pyruvate
BCCP-biotin + oxaloacetate

Ciclo de Krebs é central na biossíntese!

- é uma via anabólica ou anfibólica → oxaloacetato para a gliconeogênese e esqueletos de carbono para aminoácidos



Intermediários do ciclo de Krebs participam da biossíntese de carboidratos, proteínas e lipídeos e de muitas outras moléculas como bases nitrogenadas, porfirinas, etc!

A história de Hans Krebs (1900-1981) e do ciclo que leva o seu nome!

Nascido na Alemanha, tornou-se professor na Univesidade de Freiburg e descreveu o ciclo da Ureia;
Em 1933 foi removido do emprego pelo partido nazista (tinha ancestral judaico);
Pesquisador na Universidade de Cambridge com financiamento da Fundação Rockefeller;
Em 1935 tornou-se chefe do Departamento de Bioquímica na Universidade Sheffield.

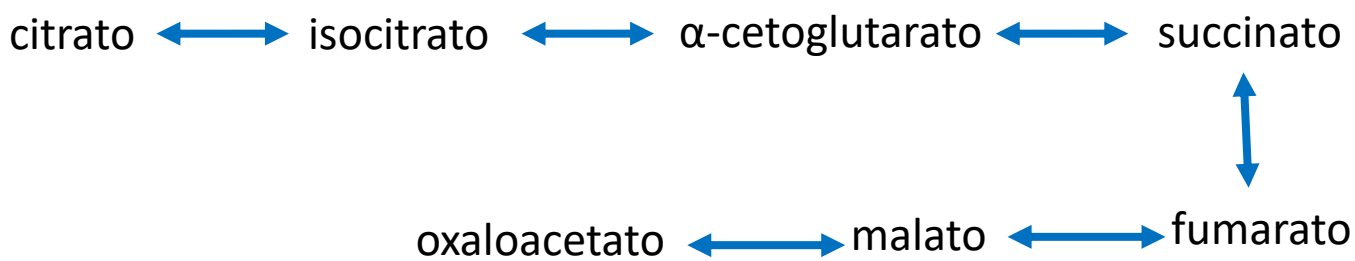
.

Hans Krebs
1932 → Ciclo da uréia
1937 → Ciclo do ácido cítrico
1953 → Prêmio Nobel

[Krebs, H.A. and Johnson, W.A., The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues, *Enzymologia* **4**, 148–156 (1937).]

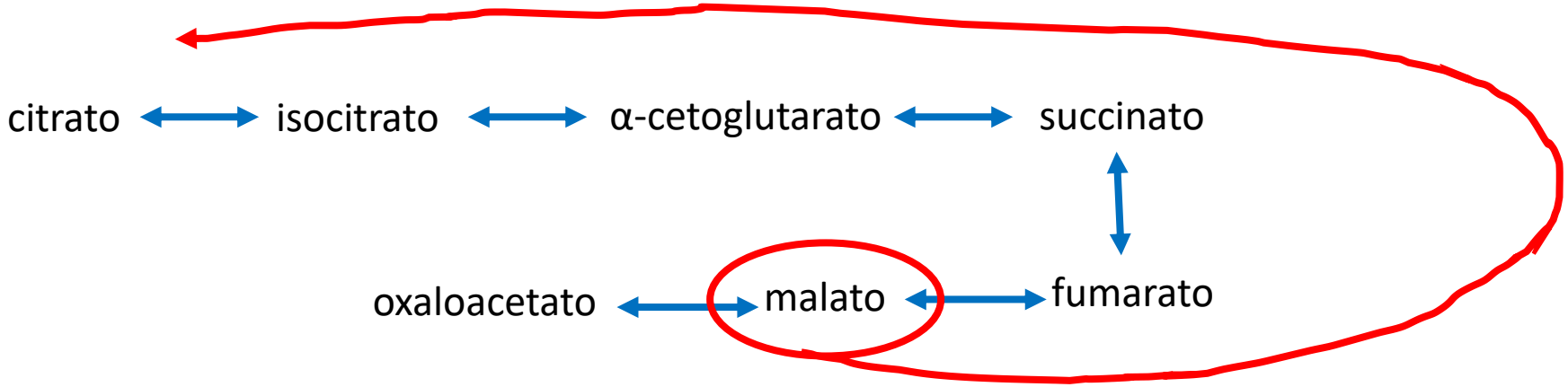
A maior parte das reações e das enzimas do ciclo já eram conhecidas, mas não se sabia que trabalham num ciclo!

Krebs investigou a transformação de oxaloacetato a citrato e postulou e descreveu o papel do citrato num ciclo oxidativo. Ele já havia comprovado a presença do ciclo da ureia.

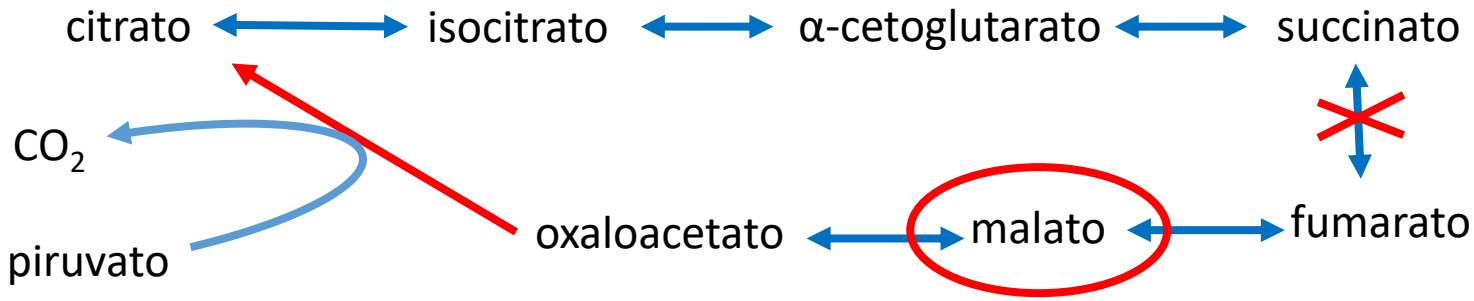


Como comprovar que oxaloacetato forma citrato?

Em mitocôndrias, o excesso de malato leva ao aumento de todos os compostos mostrados. A explicação poderia ser como exemplificado pela seta vermelha



Inibindo a succinato desidrogenase, Krebs e seu aluno Johnson mostraram que o caminho principal era pela reação direta de oxaloacetato na presença de piruvato, que levava a liberação de CO_2. Dai postulou a presença de um ciclo, cujos detalhes vieram a ser comprovados posteriormente com a descoberta da acetil coenzima A (Lipmann-1950). Ambos (Krebs e Lipmann) dividiram o premio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1953.



A explicação do efeito Pasteur levou a muitas descobertas importantes em Bioquímica

Desafio

Células de músculo incubadas com meio de cultura saturado de oxigênio, consomem bem menos glicose do que células incubadas com meio de cultura sem oxigênio. Com base no mecanismo de regulação da atividade enzimática, explique este resultado sabendo que na presença de oxigênio o saldo do metabolismo da glicose produz 36ATP (por molécula de glicose) enquanto que na ausência de oxigênio o saldo do metabolismo é de 2 ATP (por molécula de glicose). Você pode explicar esse efeito utilizando conceitos de regulação alostérica?