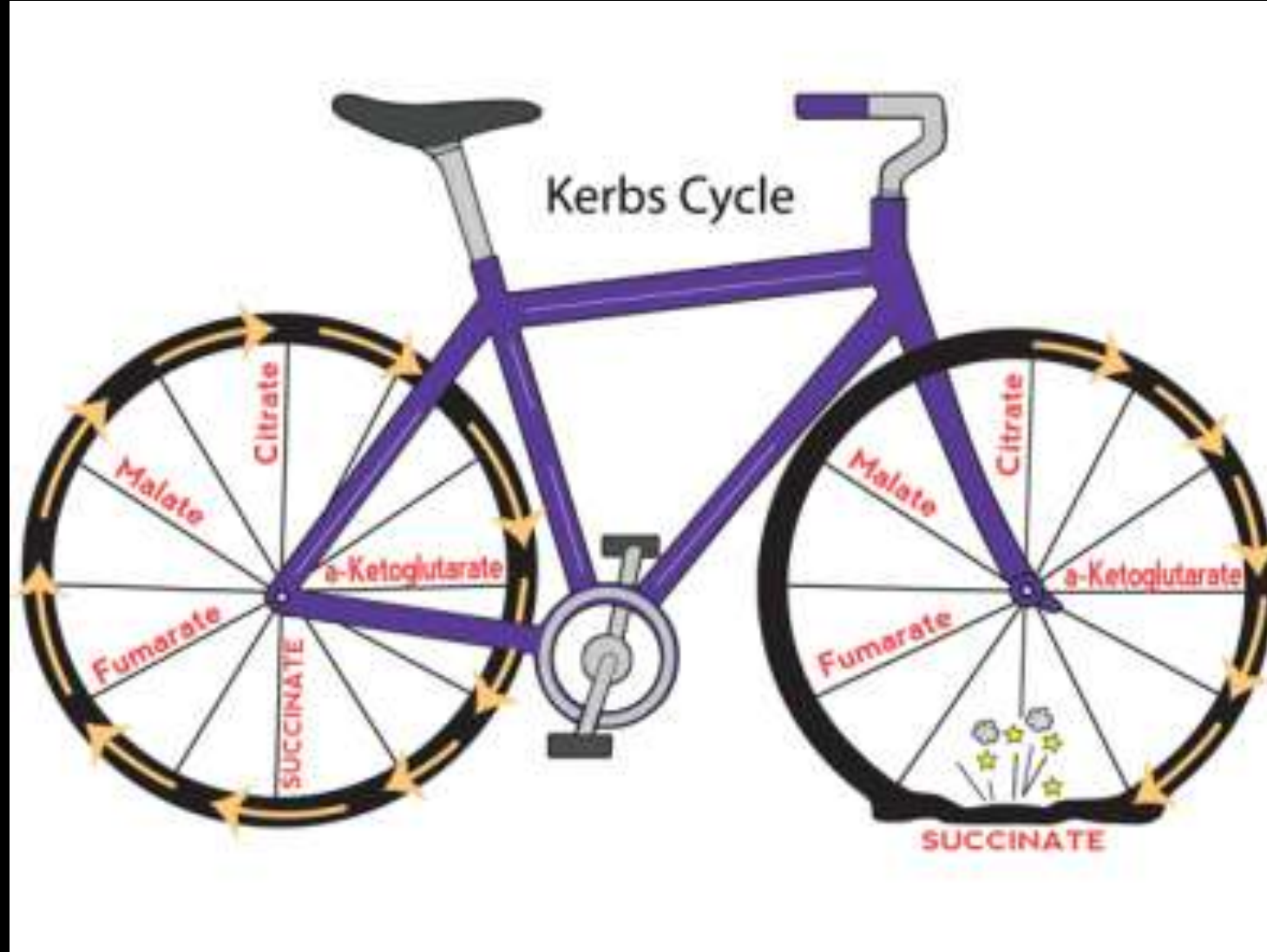


Ciclo do Ácido Cítrico (CAC)



Profa. María Eugenia Guazzaroni

CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

OU


CICLO DE ÁCIDOS TRICARBOXÍLICOS

OU

CICLO DE KREBS



Hans Krebs

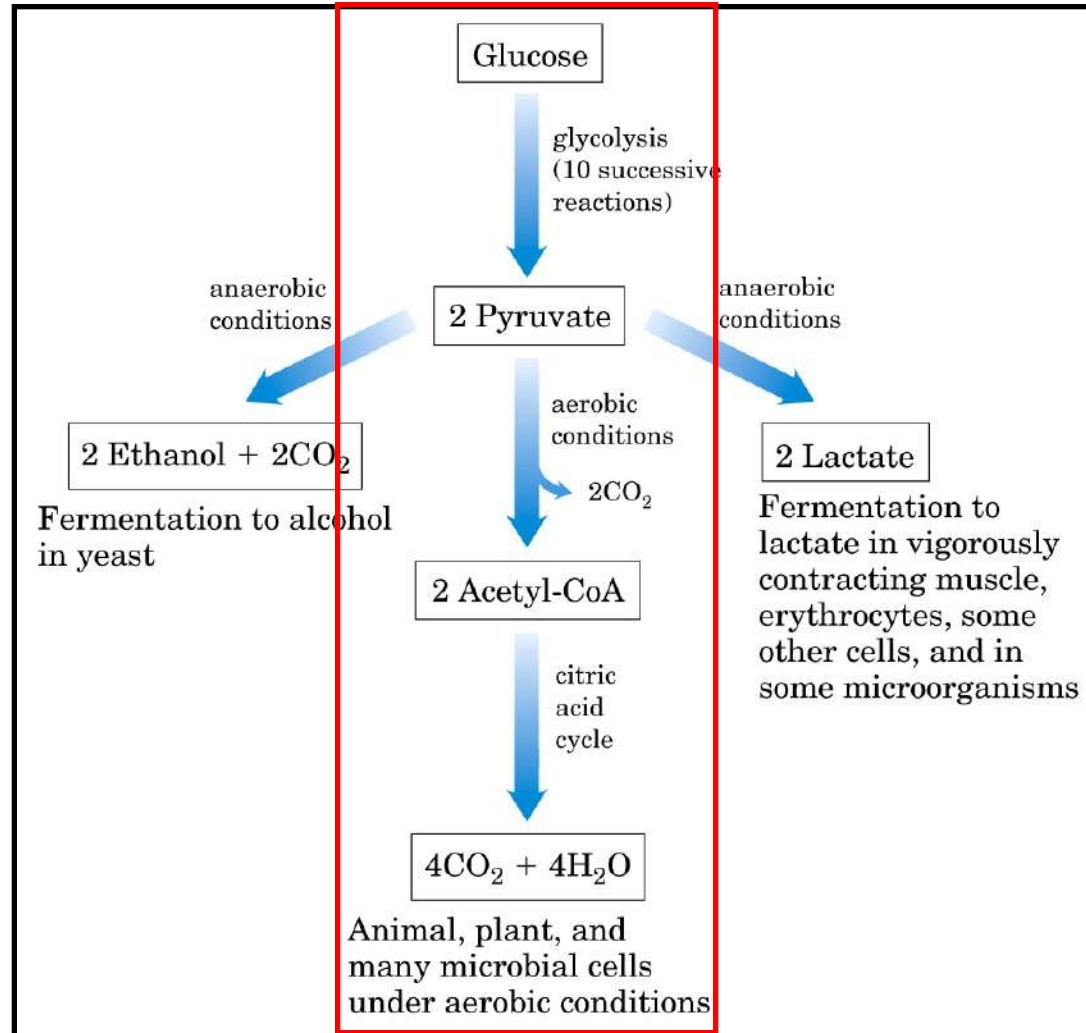
Nacionalidade: Alemão 

Campos: Biologia, medicina, química

Nobel de Fisiologia ou Medicina (1953)

Destinos do piruvato

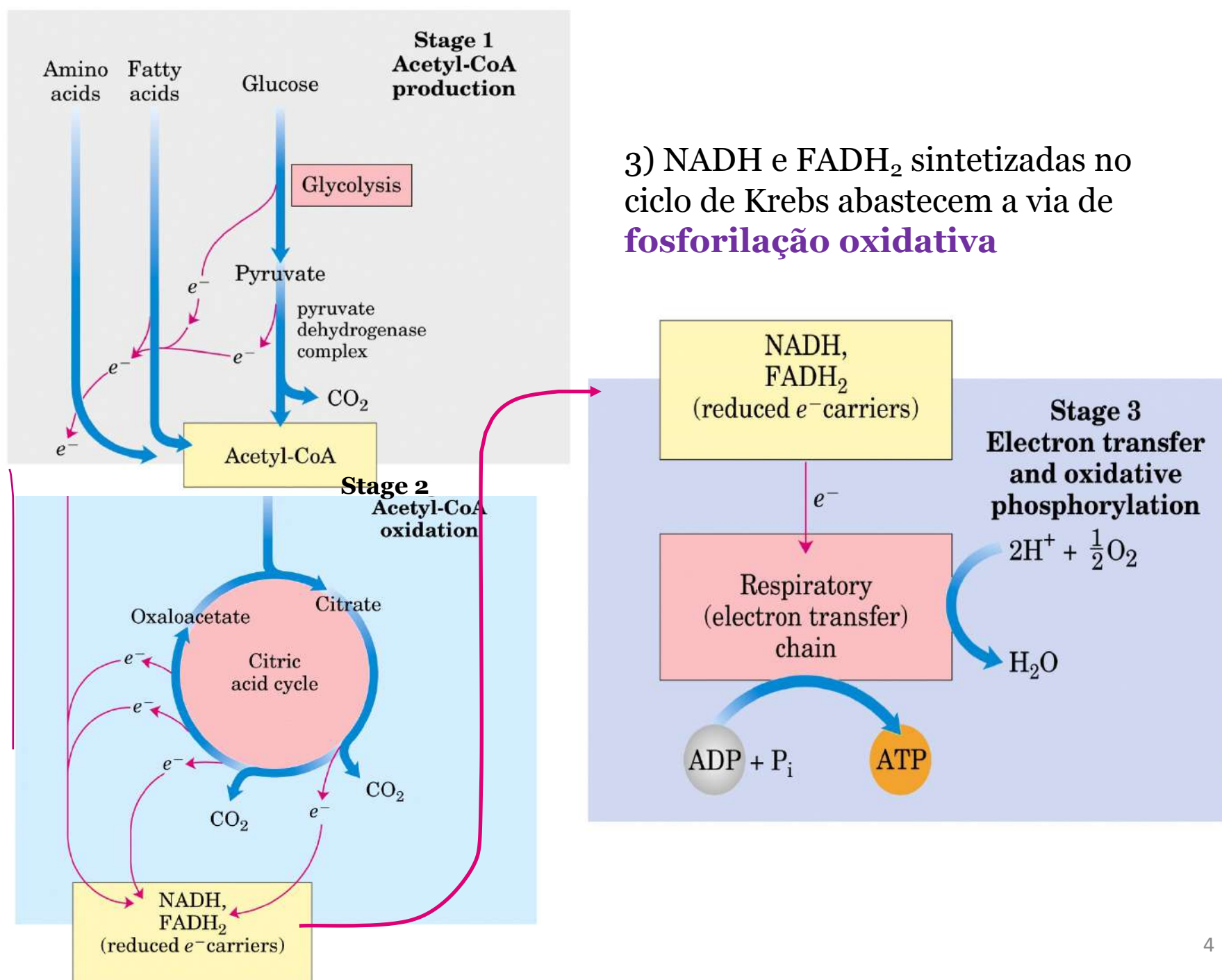
Tipo celular
Condição metabólica



Uma visão geral do metabolismo oxidativo

1) Ponto de entrada de compostos derivados de vários alimentos. O intermediário comum é Acetil-CoA

2) O Ciclo de Krebs resulta na oxidação de 2 átomos de carbono (liberada como CO_2), e a transferência de prótons e elétrons para NAD^+ e FAD^+ .



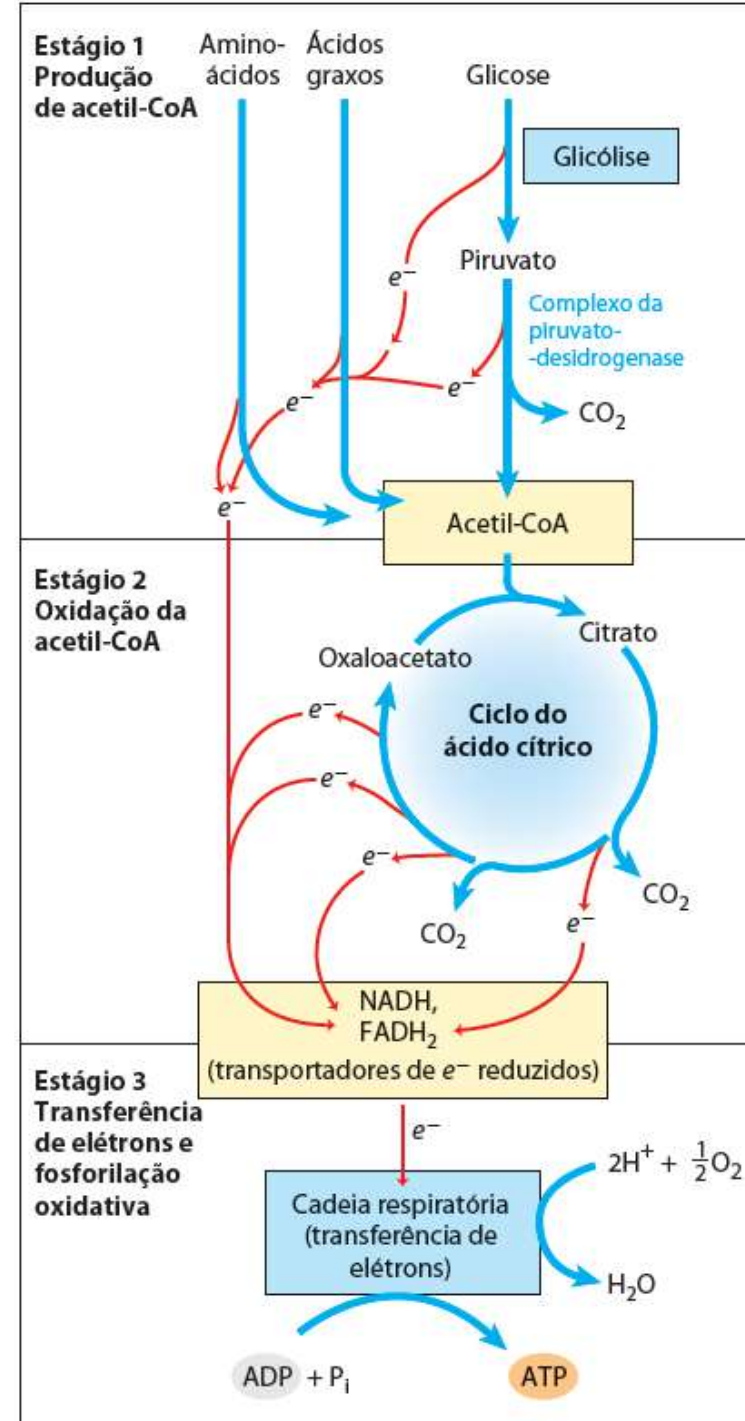
3) NADH e FADH_2 sintetizadas no ciclo de Krebs abastecem a via de **fosforilação oxidativa**

O CAC é uma via catabólica central e praticamente universal

O AcetilCoA (2C) entra no CAC quando a ***citrato sintase*** catalisa sua condensação com o oxalacetato (4C) para formar citrato (6 C)

Mitocôndria eucariotos,
citosol bactérias

Via cíclica, intermediários não são esgotados. Por cada oxalacetato consumido, um é produzido



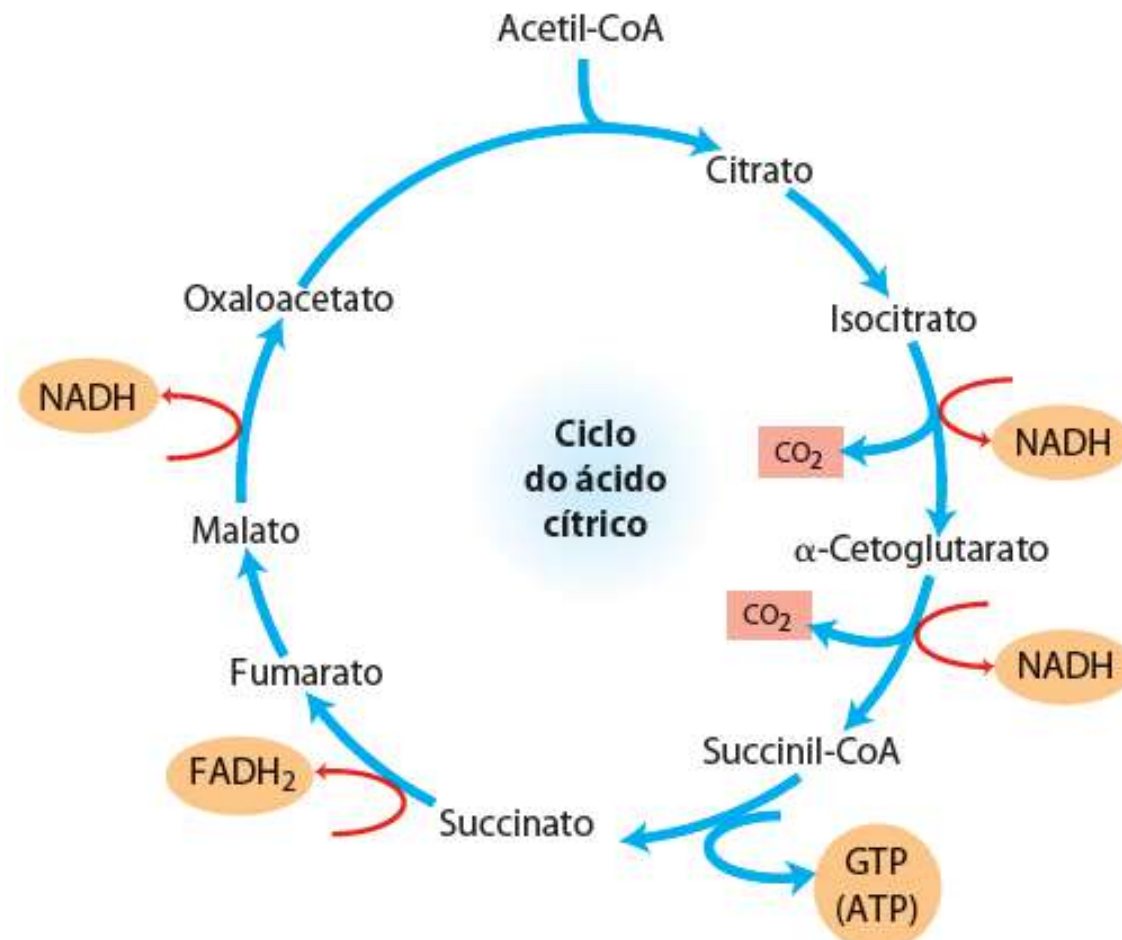
O Ciclo de Krebs resumido

Passo preparativo



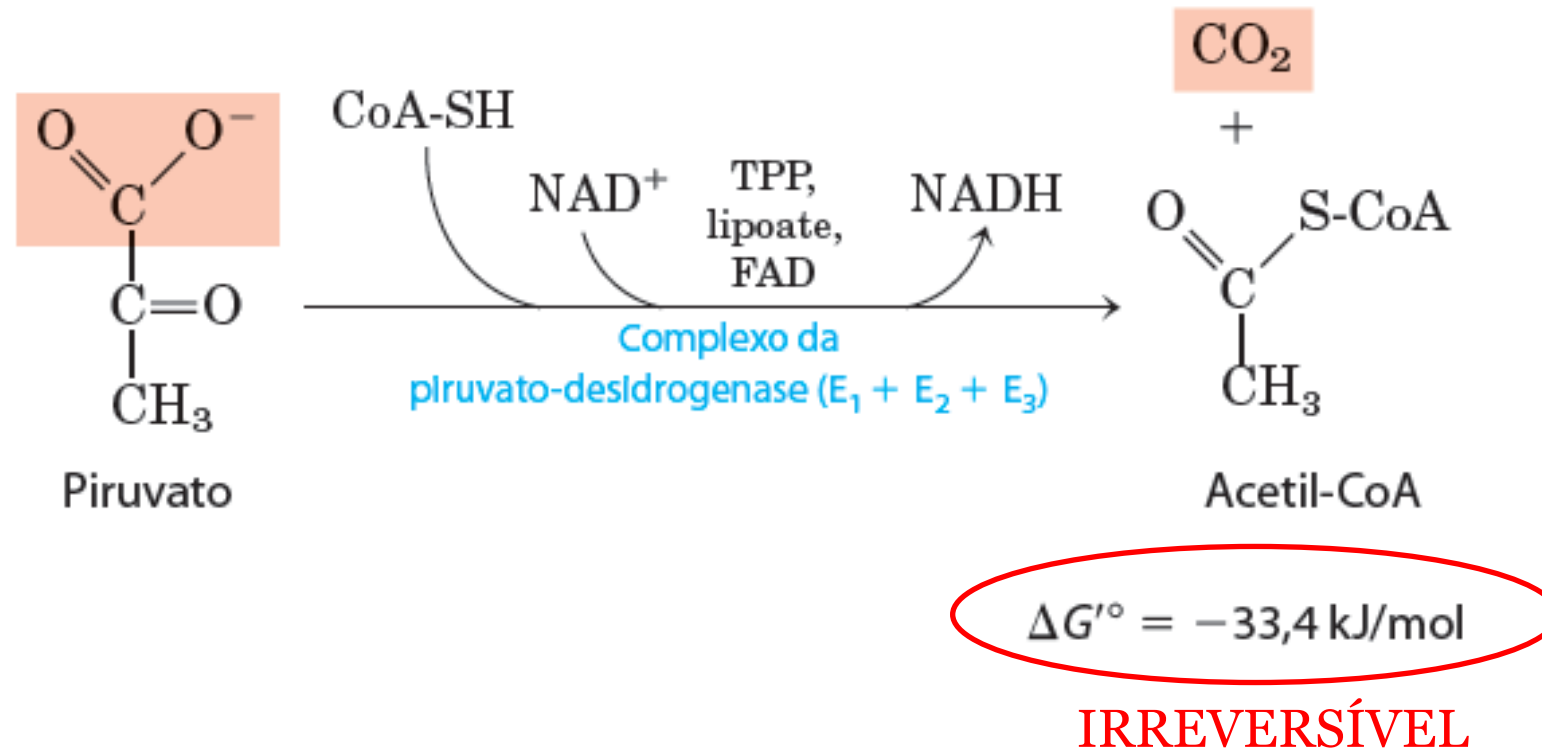
Produtos por ciclo:

2 CO₂
3 NADH
1 FADH₂
1 GTP



O passo preparativo - acoplando Glicólise e o ciclo de Krebs pela oxidação de piruvato em acetil-CoA e CO₂

- 1) Transporte de piruvato do citoplasma à mitocôndria
- 2) Oxidação de piruvato em Acetil-CoA e CO₂ pela *piruvato desidrogenase*



Piruvato, o produto da Glicólise, é convertido a acetil-CoA, material de partida do CAC, pelo **complexo da piruvato desidrogenase (PDH)**

O complexo PDH é composto por múltiplas copias de 3 enzimas:

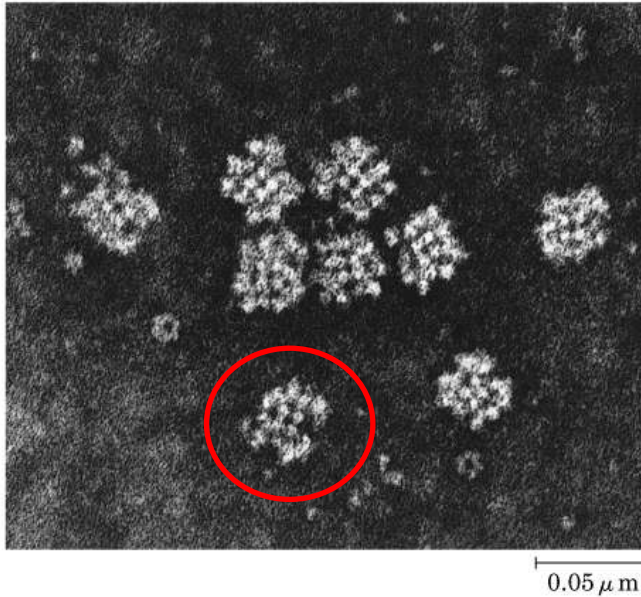
- ***piruvato desidrogenase***, E1 (ligada ao cofator TPP)
- ***di-hidrolipoil transacetilase***, E2 (covalentemente ligada ao grupo lipoil)
- ***di-hidrolipoil desidrogenase***, E3 (com os cofatores FAD⁺ e NAD⁺)

TPP, de thiamine pyrophosphate

FAD, de flavin adenine dinucleotide

NAD, de nicotinamide adenine dinucleotide

O complexo multienzimático Piruvato Desidrogenase (PDH)

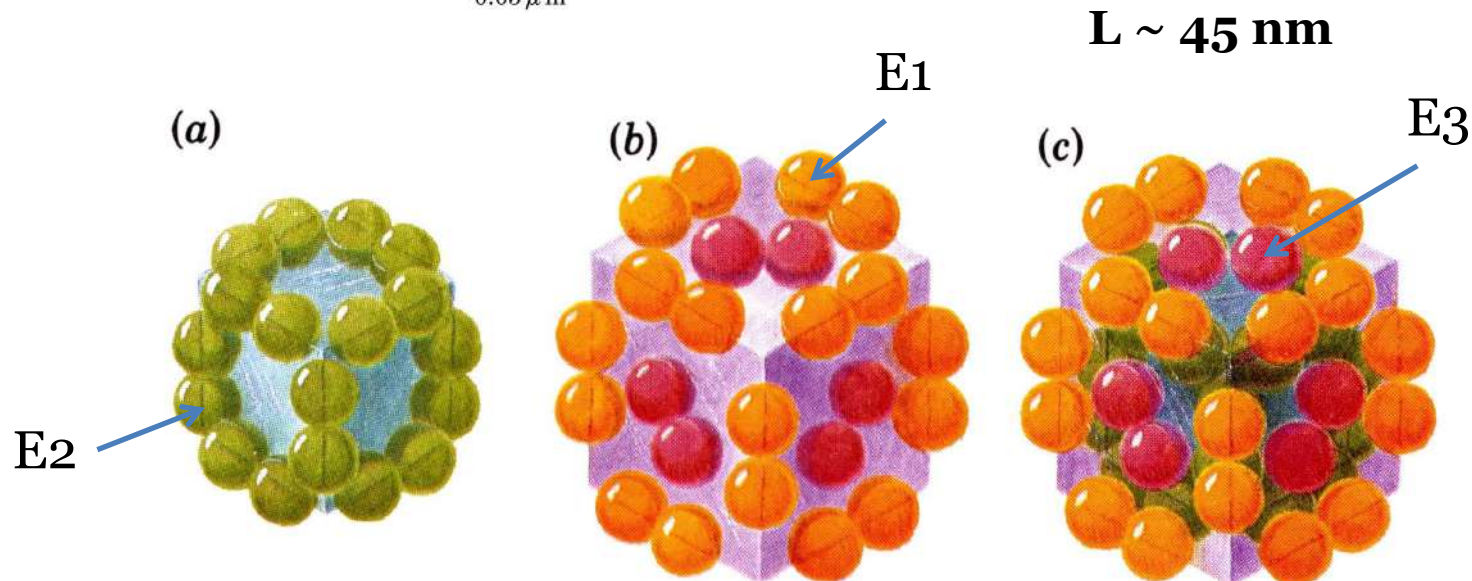


Em *Escherichia coli* cada partícula é composta por

- 24 cópias de **piruvato desidrogenase** (E1)
- 24 cópias de **di-hidrolipoil transacetilase** (E2)
- 12 cópias de **di-hidrolipoil desidrogenase** (E3)

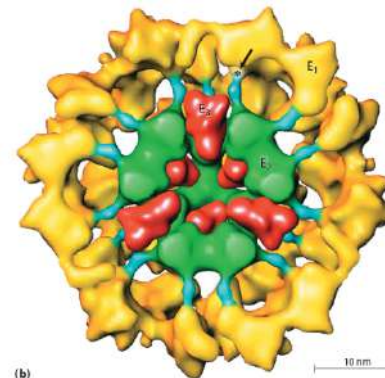
+ 2 enzimas regulatórias:

- E1 **quinase**
- E1 **fosforilase**

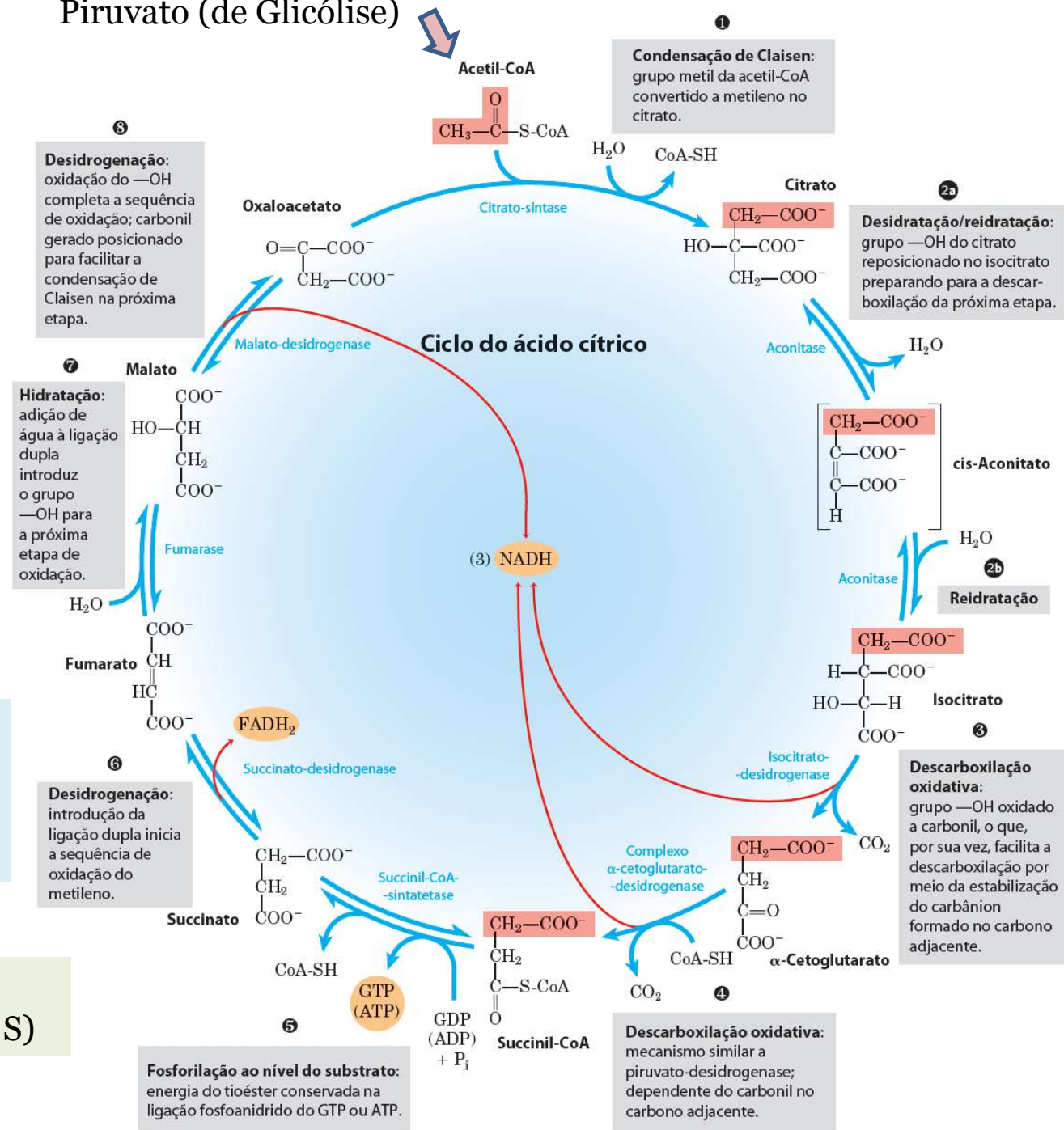


Vantagens de Complexos Multienzimáticos

- 1) Reações enzimáticas são limitadas pela difusão de substratos – um complexo minimiza a distancia entre os sítios catalíticos
- 2) Formação de um complexo facilita a transferência de intermediários entre enzimas sucessivas, limitando perdas às outras reações.
- 3) Enzimas em um complexo podem ser co-reguladas, coordenando as reações catalisadas.



Piruvato (de Glicólise)



Etapas 1, 3 e 4 são irreversíveis

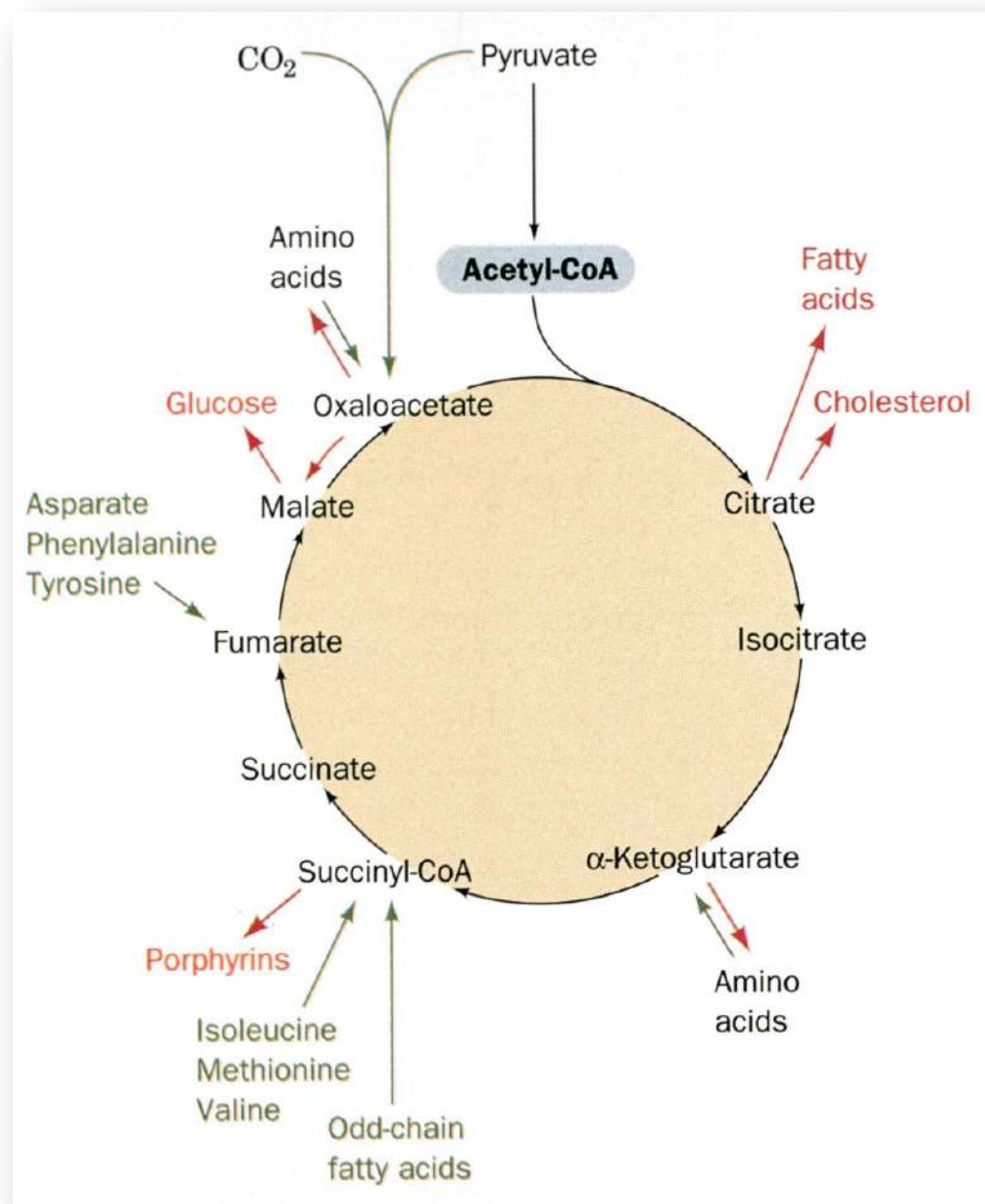
Etapas 3, 4, 6 e 8 a energia é conservada pela transf. de e⁻ ao FAD⁺ ou NAD⁺

Etapa 5, formação de GTP (Fosf. ao nível de S)

O Ciclo de Krebs – uma via cíclica e anfibólica

Porque seus intermediários podem servir tanto ao catabolismo quanto ao anabolismo

Características catabólicas e anabólicas
= anfibólica



Glicólise

- Fosforilação em nível de Substrato: 2 ATP
- Fosforilação oxidativa 2 NADH: 6 ATP
- **Total 8 ATP**

Balanco da respiração aeróbia (Glicólise + TCA)

- Reações de oxidação e redução em presença de um acceptor de elétrons externo, o O_2
- A molécula inteira do substrato e oxidada ate CO_2
- Alto potencial de energia
- Grande quantidade de ATP é gerada: até 38 ATPs

Eficiência

Na cadeia de transporte de elétrons

(se oxigênio é o aceptor final de elétrons)

- 2 e⁻ de cada NADH potenciam ≈ 3 ATP
- 2 e⁻ de cada FADH₂ potenciam ≈ 2 ATP

$$4 \text{ NADH} \times 3 \text{ ATP} = 12 \text{ ATP}$$

$$1 \text{ FADH}_2 \times 2 \text{ ATP} = 2 \text{ ATP}$$

$$1 \text{ GTP (Fosf. em nível substrato)} = 1 \text{ ATP}$$

15 ATP (x 2
piruvato)

$$\text{Total} = 15 \text{ ATP}$$

Soma glicólise (8 ATP) + TCA = 38 ATP por molécula de
glicose

REGULAÇÃO DO CICLO DE KREBS

1- Suprindo a via anfibólica com matéria

2- Regulando o fluxo dos metabólitos na via

As 4 reações anapleróticas que repõem os intermediários do ciclo esgotados

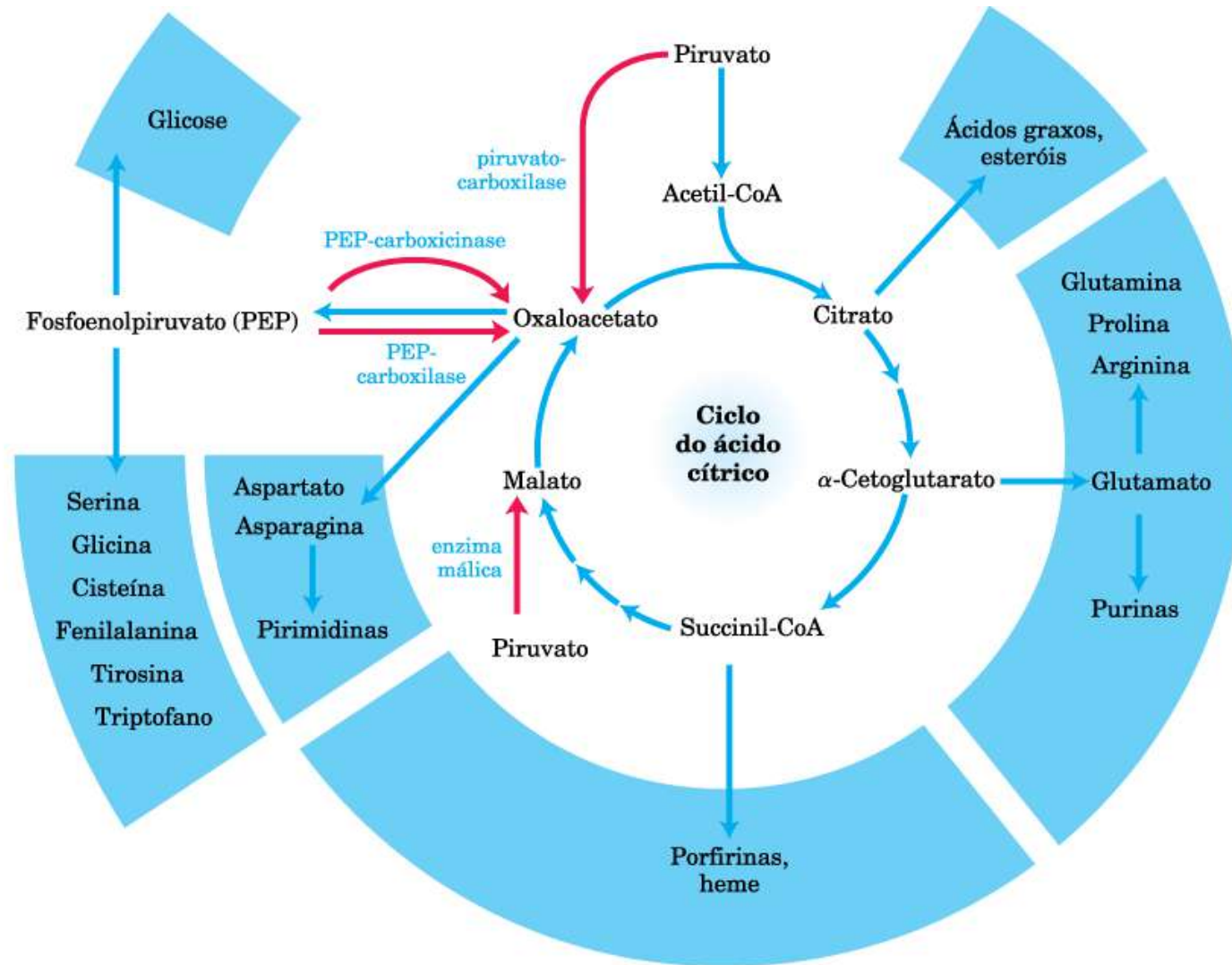


FIGURA 16-15 Papel do ciclo do ácido cítrico no anabolismo. Intermediários do ciclo do ácido cítrico são desviados como precursores de muitas vias biossintéticas. Mostradas em vermelho estão

quatro reações anapleróticas que repõem os intermediários do ciclo esgotados (veja a Tabela 16-2).

Mantendo o Ciclo de Krebs abastecido

– As reações anapléroticas

Anaplerotic Reactions

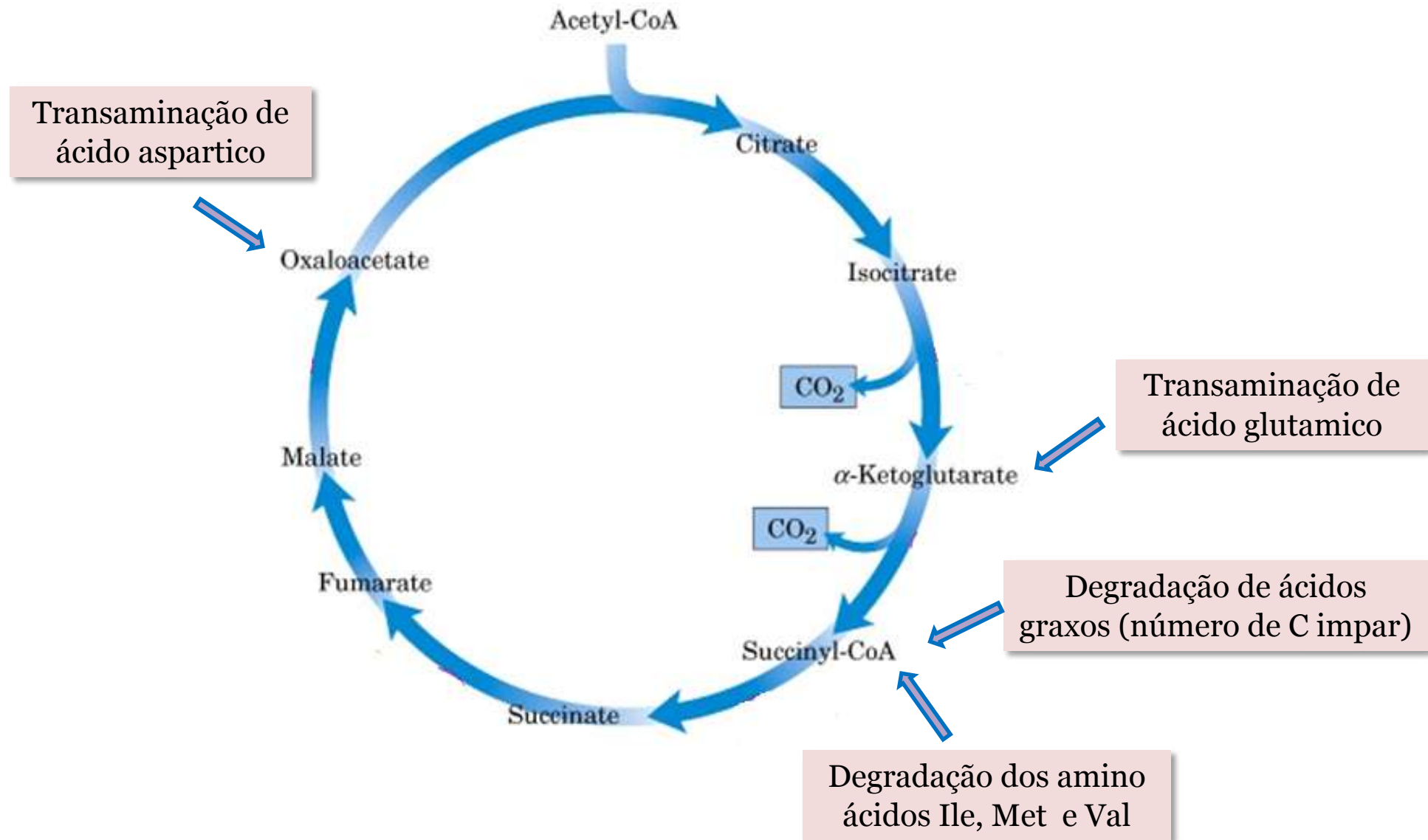
Reaction	Tissue(s)/organism(s)
$\text{Phosphoenolpyruvate} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \xrightleftharpoons{\text{PEP carboxykinase}} \text{oxaloacetate} + \text{GTP}$	Heart, skeletal muscle
$\text{Phosphoenolpyruvate} + \text{HCO}_3^- \xrightleftharpoons{\text{PEP carboxylase}} \text{oxaloacetate} + \text{P}_i$	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
$\text{Pyruvate} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{Pyruvate carboxilase}} \text{oxaloacetate} + \text{ADP} + \text{P}_i$	Liver, kidney

↳ Regulação alostérica positiva por Acetil-CoA

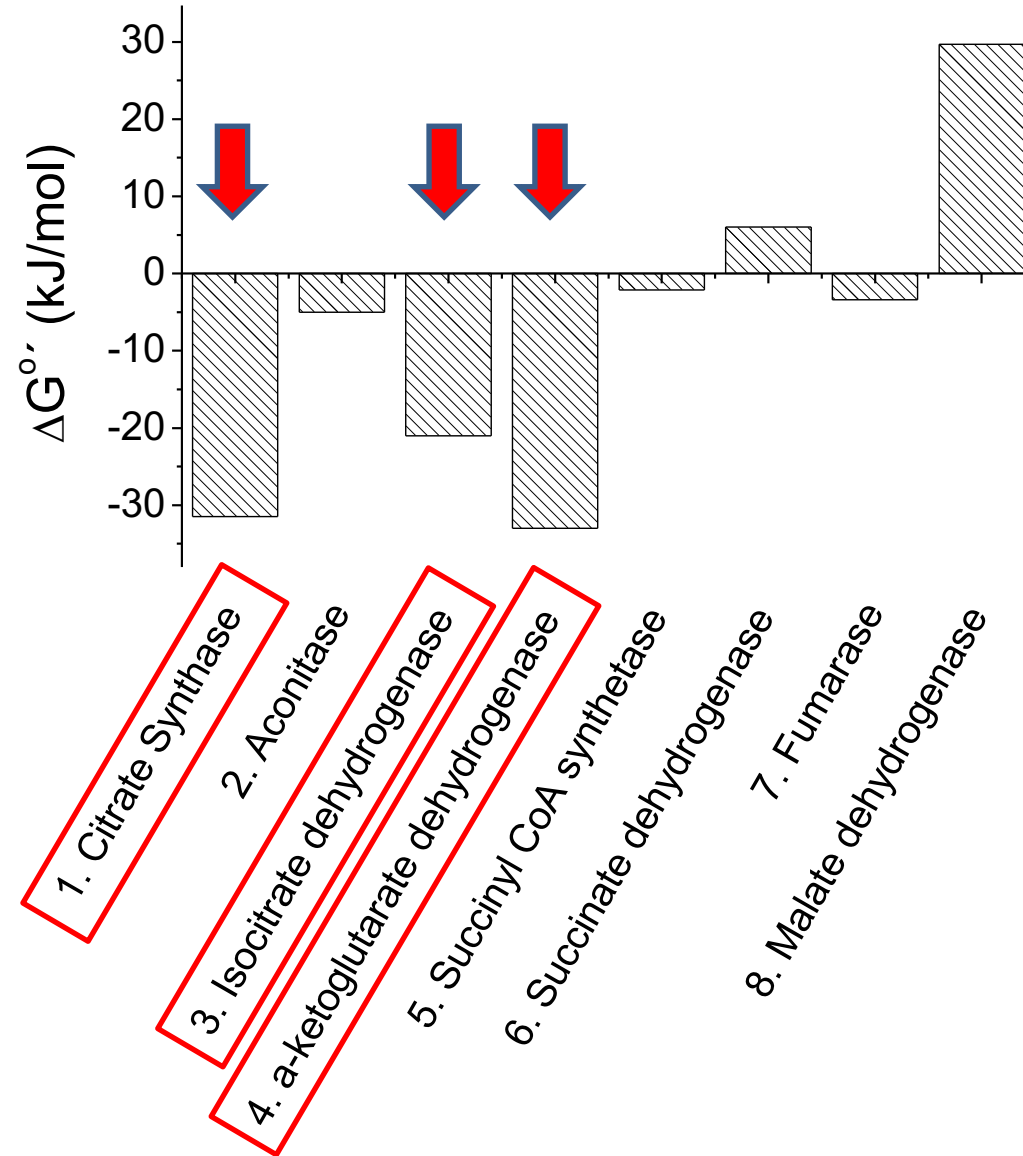
↳ ↑ Acetil-CoA → ↑ oxaloacetato

Mantendo o Ciclo de Krebs abastecido

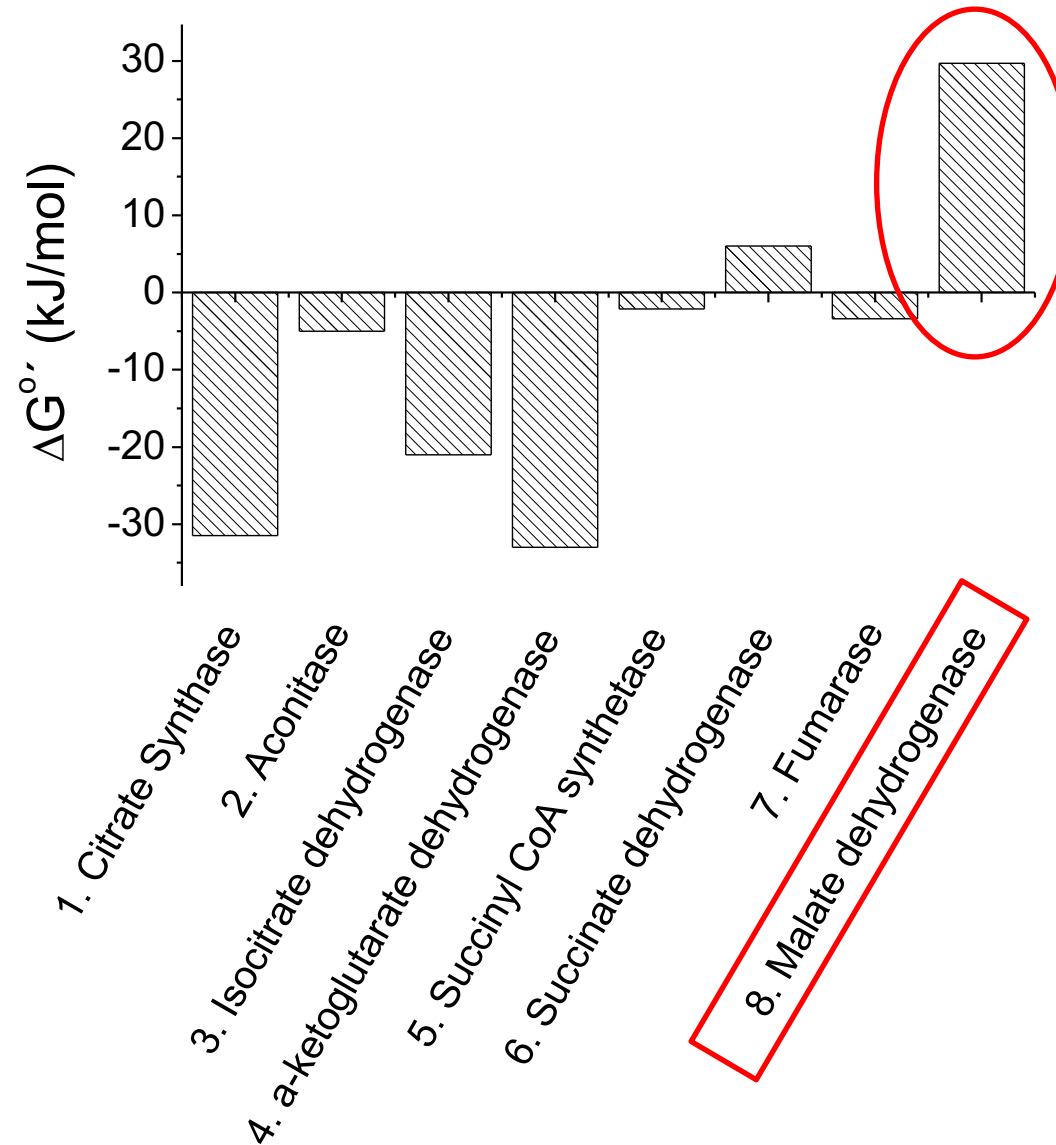
– outras reações anapléroticas



O Ciclo de Krebs: Energia livre das reações sugere 3 etapas como alvos a serem reguladas



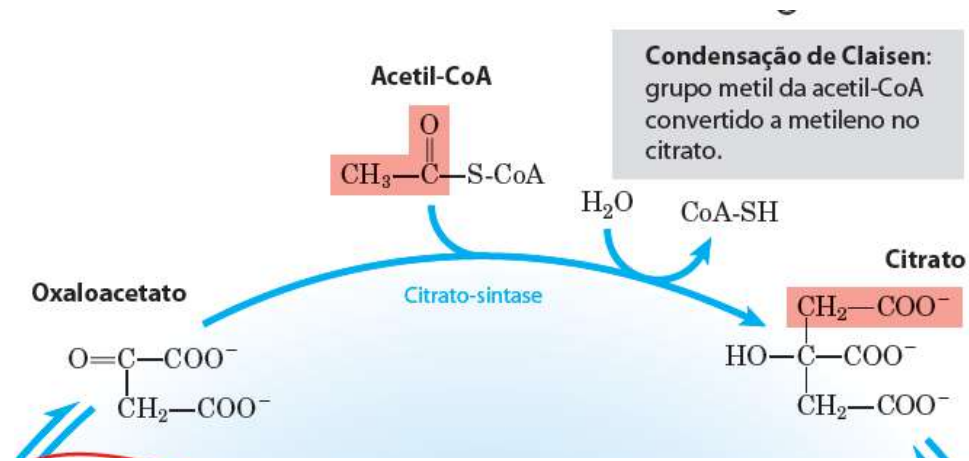
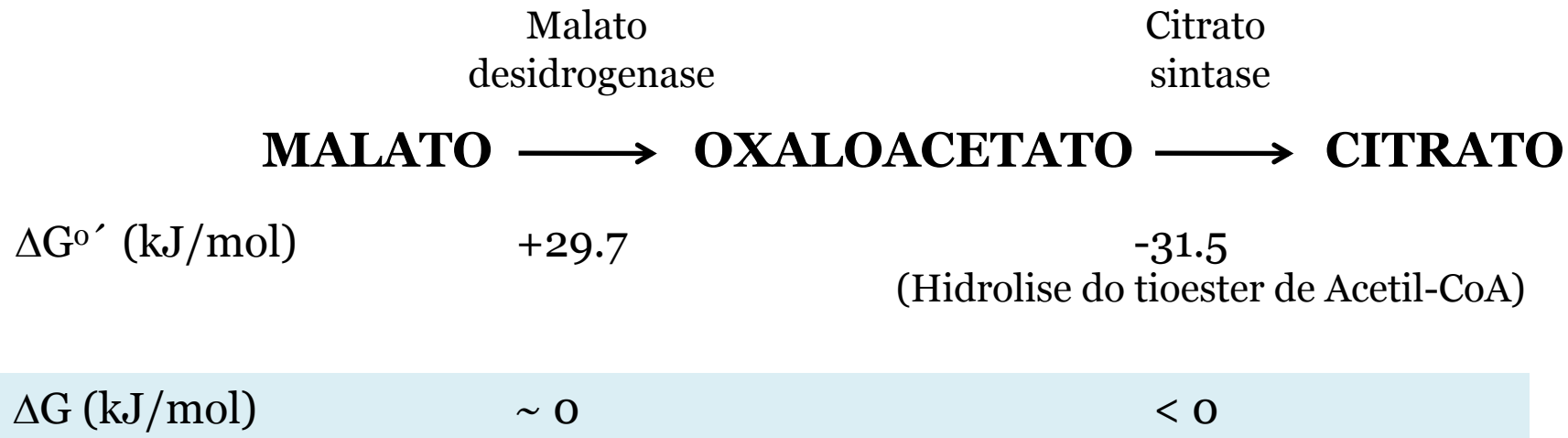
O Ciclo de Krebs: Energia livre das reações sugere 3 etapas como alvos a serem reguladas



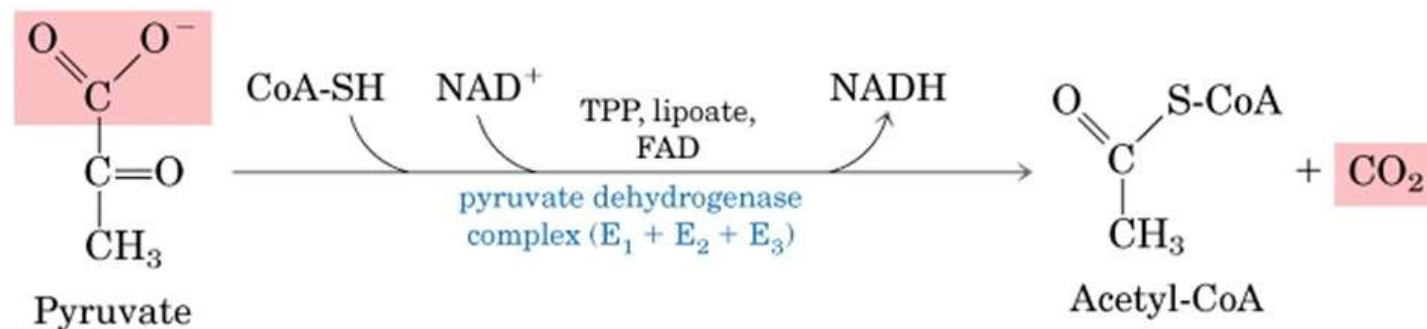
Ultima etapa com $\Delta G^{\circ'}$ altamente positiva?

Como o Ciclo de Krebs pode funcionar quando a etapa final tem uma ΔG positiva?


1) Aplicando o princípio que uma reação com ΔG negativa pode ser acoplada à uma reação com ΔG positiva – hidrólise de acetil-CoA acoplado à oxidação de malato.



1) Regulação do Fluxo - Conversão de Piruvato em Acetil-CoA



Regulação alostérica do *complexo piruvato desidrogenase*:

INIBIÇÃO  { ATP
acetil-CoA
NADH
ácidos graxos de cadeia longa

ATIVAÇÃO  { CoA
AMP
NAD+

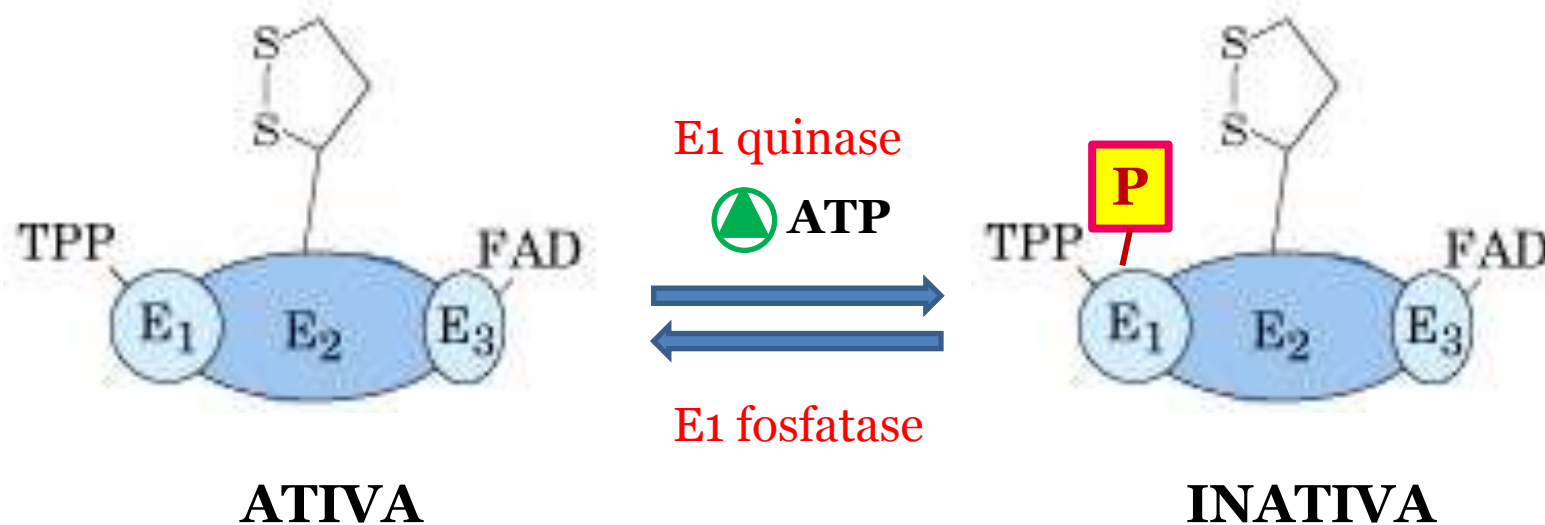
Em condições de concentrações elevadas de compostos de alta energia, a enzima é inibida.

2) Regulação de piruvato desidrogenase por modificação covalente (fosforilação)

O complexo de piruvato desidrogenase é formado por E1, E2 e E3

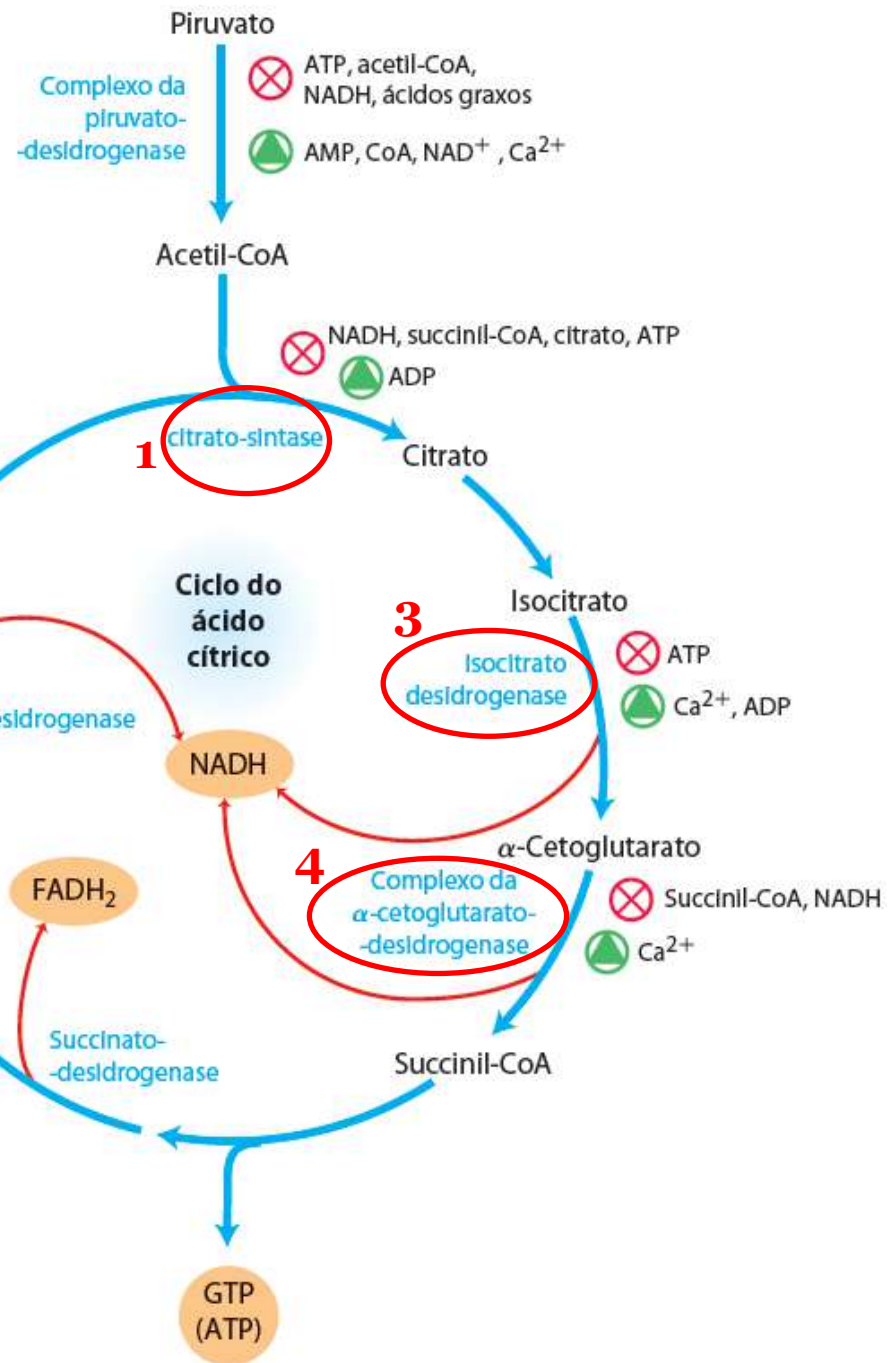
... mais 2 enzimas regulatórias

- E1 quinase
- E1 fosfatase



E1 quinase é ativada alostericamente por ATP
... em condições de acúmulo de ATP, piruvato desidrogenase é inativada.

Passo preparativo regulado

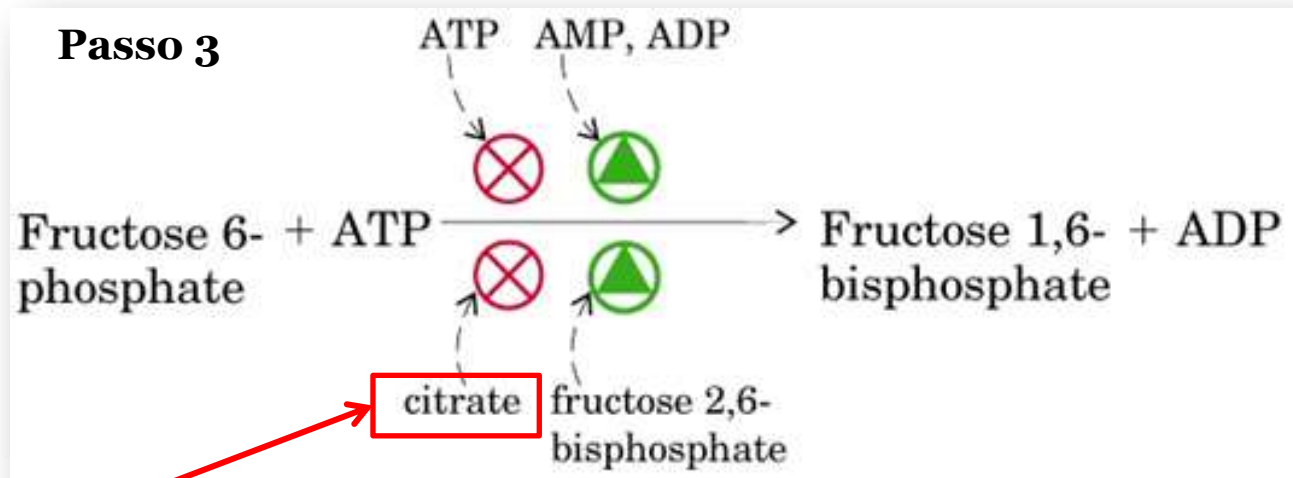
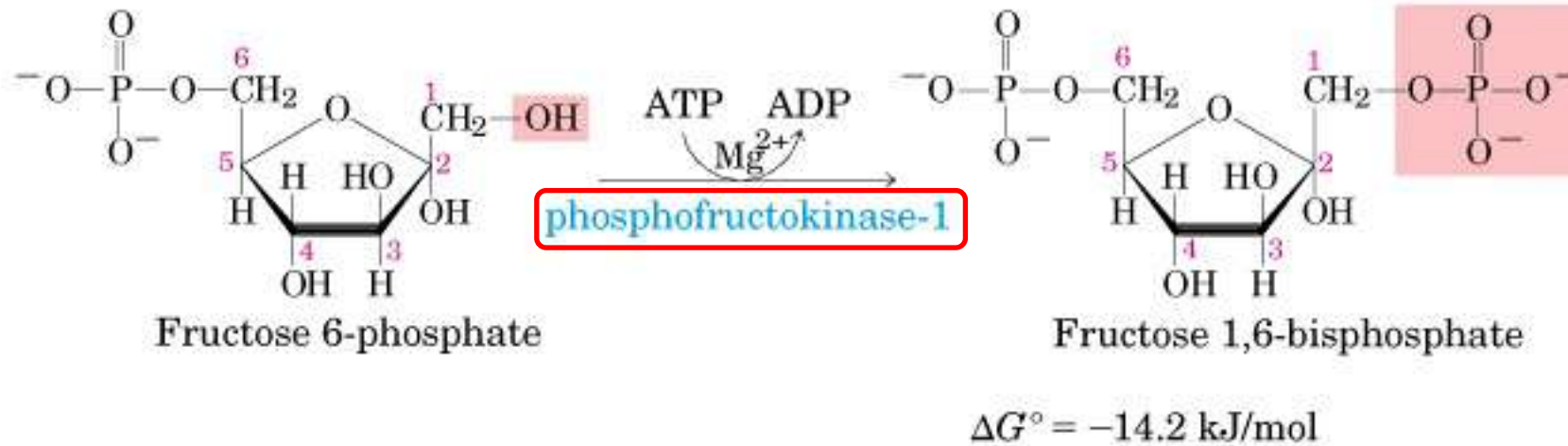


Resumo: regulação do Ciclo de Krebs

-As 3 etapas com ΔG negativas são reguladas.

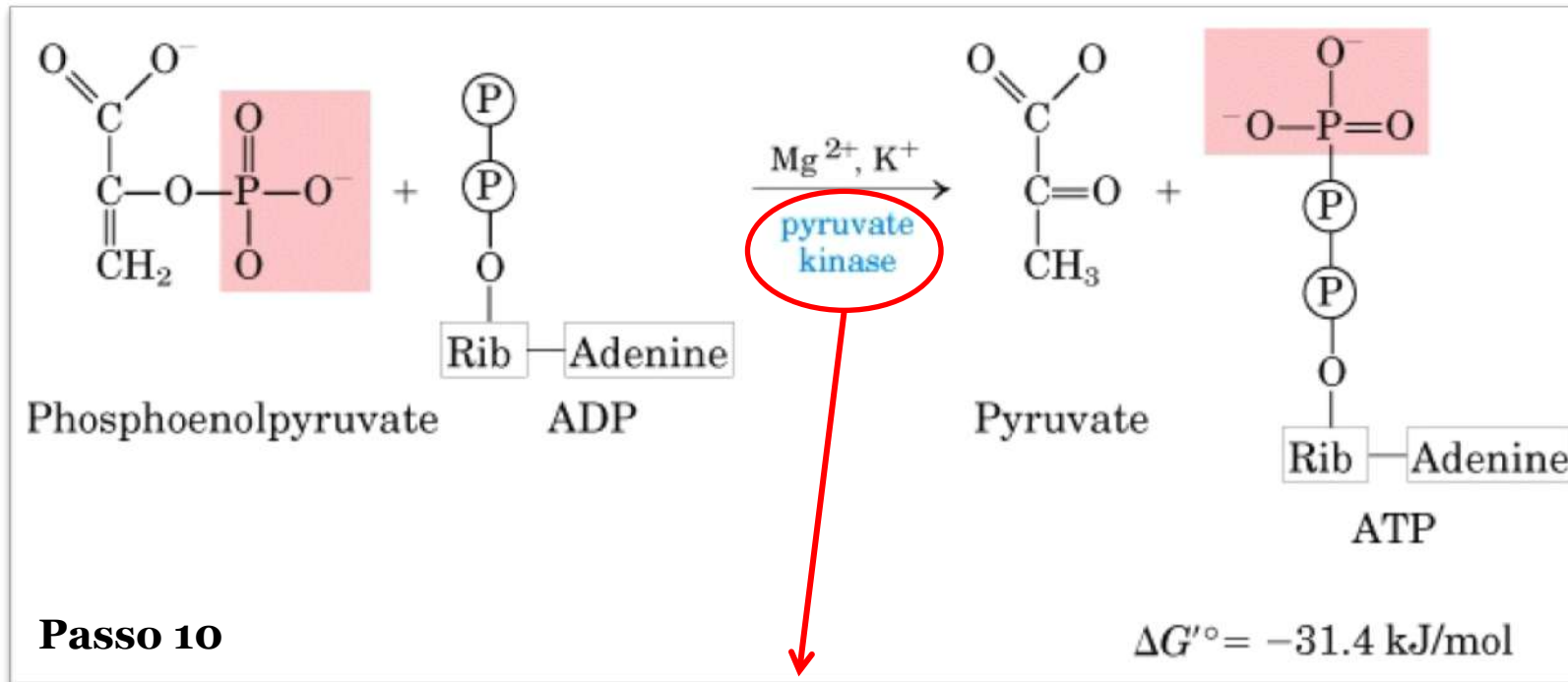
Em geral –
[ATP] e [NADH] alta inibem as enzimas e diminuem o fluxo.

Integração de Ciclo de Krebs e Glicólise - Fosfofrutoquinase (PFK)



Produto de etapa 1
do ciclo de Krebs

Integração de Ciclo de Krebs e Glicólise – *Piruvato quinase*



INIBIÇÃO



- ATP
- acetil-CoA
- ácidos graxos

Concentração elevada de ATP, acetil-CoA ou ácidos graxos diminui a formação de piruvato