

Citric Acid Cycle = Krebs Cycle = TCA, Tricarboxylic Acid Cycle

The final oxidative pathway that oxidizes acetyl CoA to CO₂

The source of reduced co-enzymes that provide the substrate for the respiratory Chain (NADH, FADH)

Amphibolic role: Is the link between catabolic and anabolic pathways

It Provides precursors for synthesis of amino acids and nucleotides

Components of the cycle have a direct or indirect controlling effect on key enzymes of other pathways

Takes place in the mitochondria because all the enzymes of the TCA cycle are located inside the mitochondria

The Cycle consumes acetate (acetyl CoA) and water, reduces NAD⁺ to NADH and produces CO₂ as by-product

In eukaryotes takes place in the mitochondria in prokaryotes in the cytosol (plasma membrane) and they do not have mitochondria.

The NADH and FADH produced goes to the oxidative phosphorylation pathway (electron transport) to finally form ATP

The fourth reaction is irreversible

ATP GENERATING STEPS IN TCA CYCLE

<u>STEP</u>	<u>REACTIONS</u>	<u>G-ENZYME</u>	<u>ATP_s (NEW CALLULATION)</u>
3	isocitrate \rightarrow α -Ketoglutarate	NADH	2.5
4	α Ketoglutarate succinyl CoA	NADH	2.5
5	Succinyl CoA \rightarrow Succinate	GTP	1
6	Succinate \rightarrow fumarate	FADH ₂	2.5
8	Malate \rightarrow	NADH	2.5
			<hr/> 10 ATP _s

Evolution of TCA cycle intermediates

(ANABOLIC REACTIONS RELATED TO TCA CYCLE)

Acetyl CoA \rightarrow Fatty acid synthesis

Citrate

ASPARTATE

oxaloacetate

Alpha Ketoglutaric Acid

Succinyl CoA

glutamic Acid

Malate

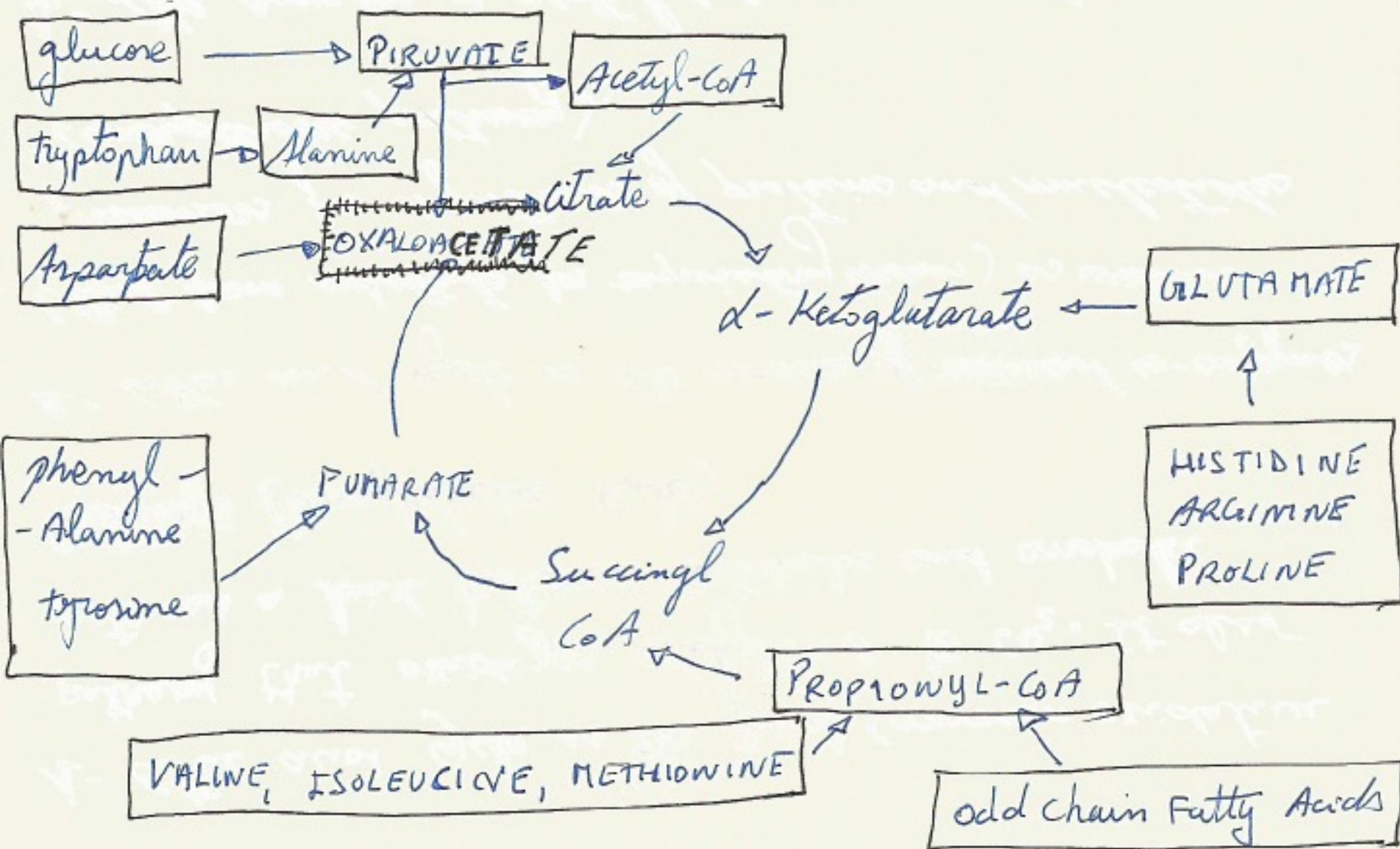
GABA

glucosaminic

Ketolysis

Heme.

INFLUX OF TCA CYCLE INTERMEDIATES



1.- Citric acid cycle is the final common oxidative pathway that oxidizes acetyl Co-A to CO_2 . It also acts as a link between catabolic and anabolic pathways (amphibolic Role).

2.- Citric acid cycle is the source of reduced co-enzymes (that form substrate for respiratory chain) as well as precursors for synthesis of proteins and nucleotides (anaplerotic pathway).

3.- The sources of acetyl CoA are pyruvate (from glycolysis); fatty acids (beta oxidation), and Ketogenic amino acids.

1.- Citric acid cycle is the final common oxidative pathway that oxidizes acetyl Co-A to CO_2 . It also acts as a link between catabolic and anabolic pathways (amphibolic Role).

2.- Citric acid cycle is the source of reduced co-enzymes (that form substrate for respiratory chain) as well as precursors for synthesis of proteins and nucleotides (anaplerotic pathway).

3.- The sources of acetyl CoA are pyruvate (from glycolysis); fatty acids (beta oxidation), and Ketogenic amino acids.

Bioquímica Geral

Sumário

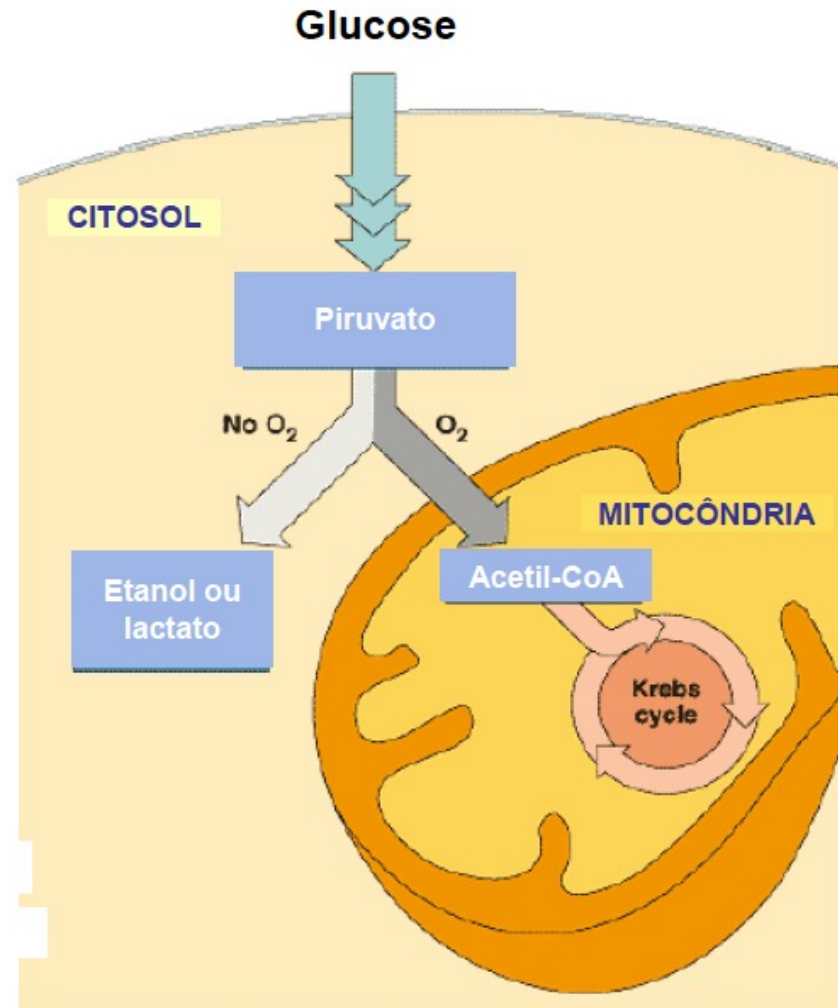
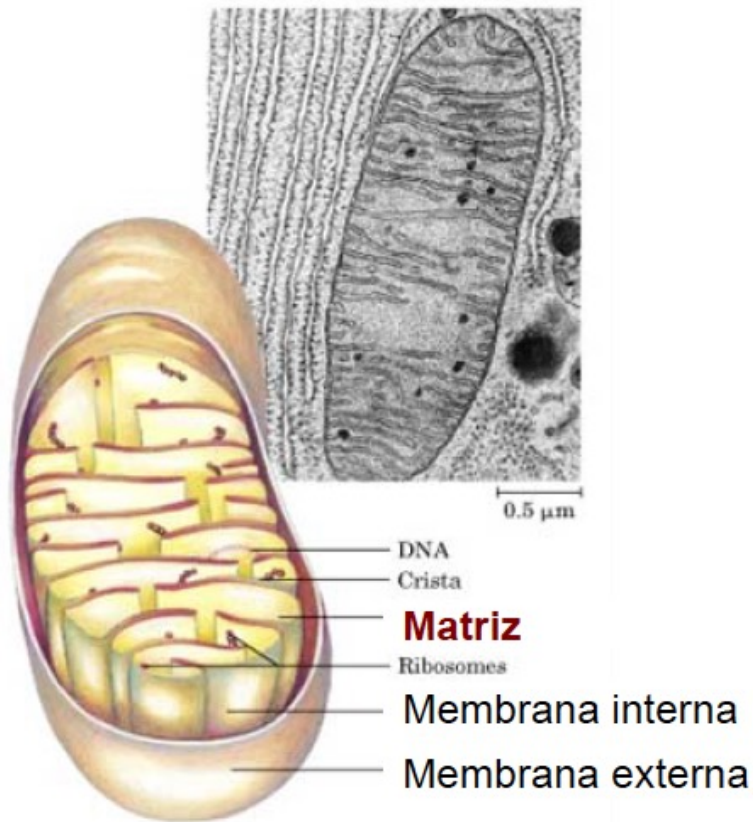
CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

Objectivos do ciclo de Krebs

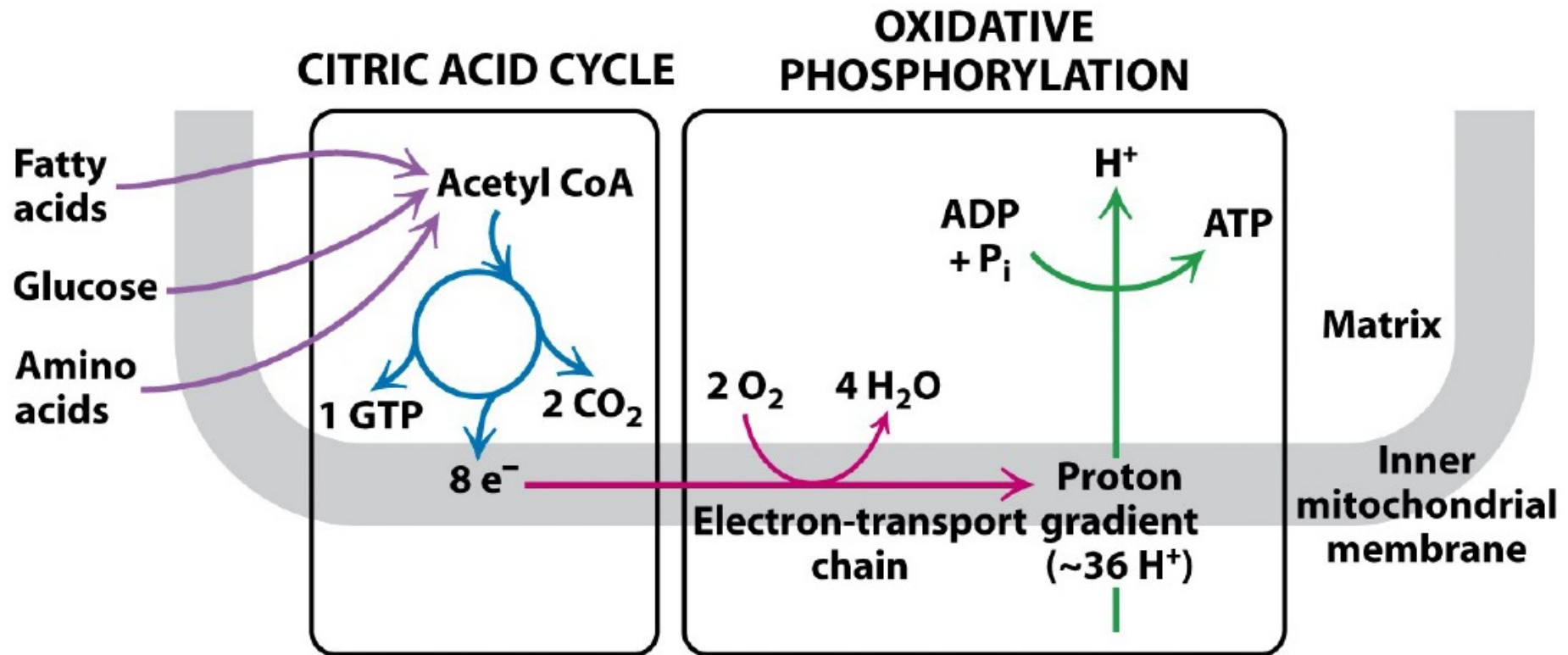
- Localização celular
- Oxidação do piruvato a acetil-CoA
- Reacções do ciclo de Krebs (enzimas, mecanismos, ΔG°)
- Balanço global
- Regulação do ciclo do Krebs
- O ciclo de Krebs na biossíntese (carácter anfibólico do ciclo)
- Reacções anapleróticas

Localização celular do ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico ou ciclo dos ácidos tricarboxílicos)

O ciclo de Krebs ocorre na matriz mitocondrial



O ciclo do ácido cítrico constitui o primeiro passo da **respiração celular**

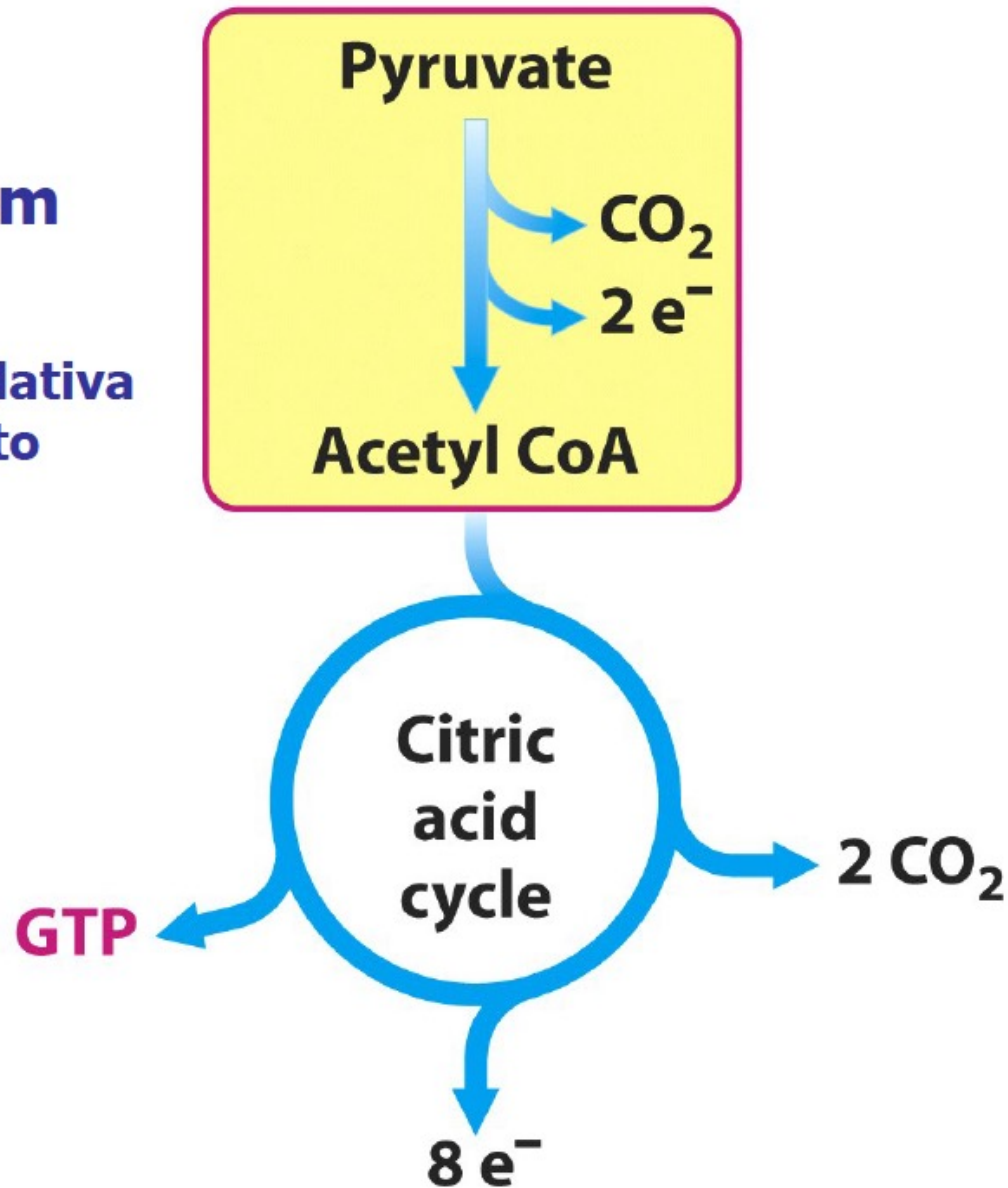


É o caminho final comum para a **oxidação completa** das moléculas que fornecem energia (açúcares, ácidos gordos, aminoácidos). Os electrões de alta energia removidos dos nutrientes são transportados para a cadeia respiratória onde reduzem o oxigénio a água. A energia libertada é utilizada para gerar um gradiente electroquímico de protões que é convertido em ATP (fosforilação oxidativa).

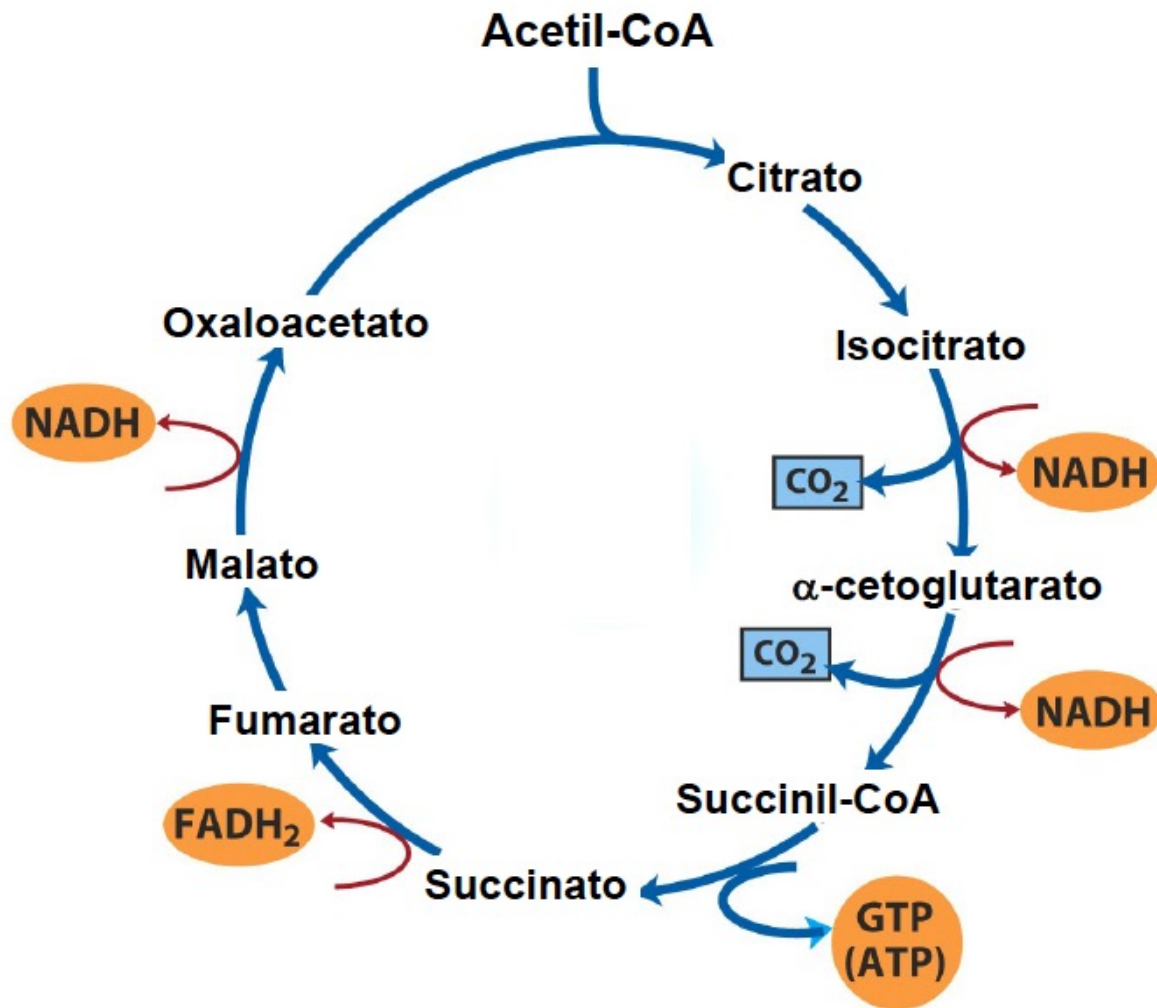
Ligação entre a glicólise e o ciclo do ácido cítrico

Conversão do piruvato em Acetil-CoA e CO_2

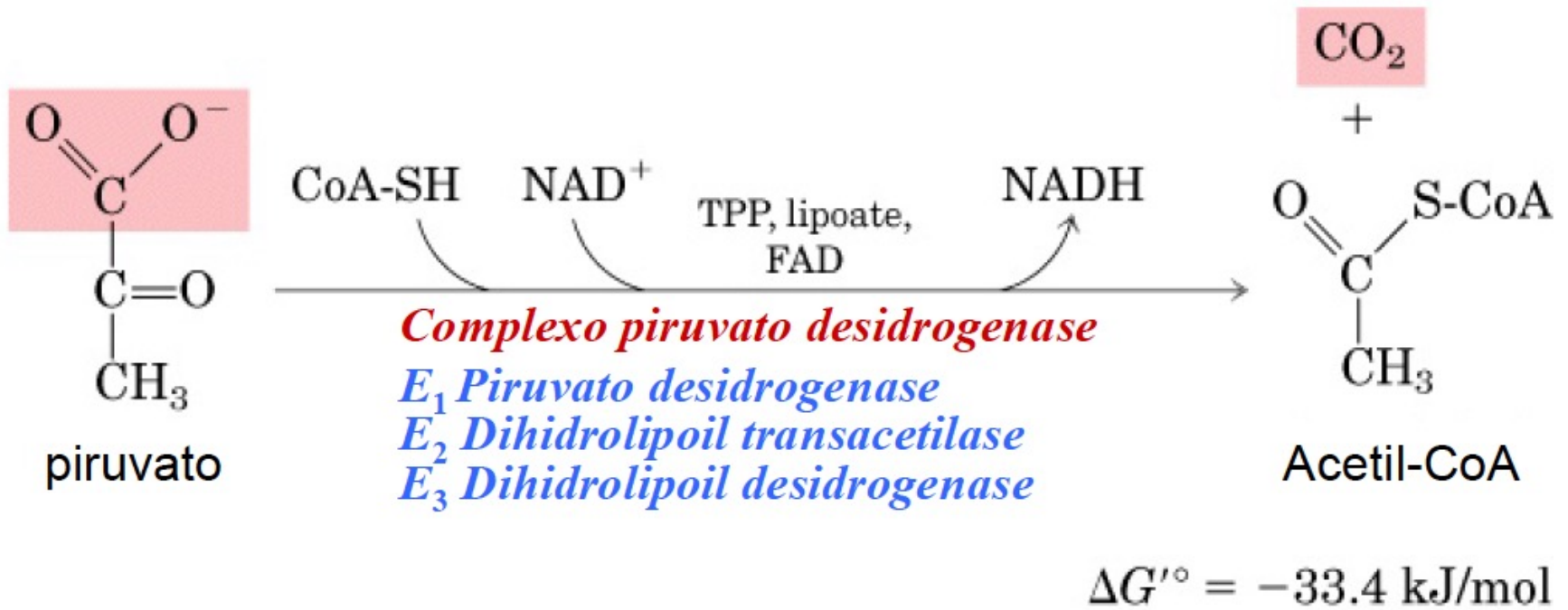
Reacção de descarboxilação oxidativa catalisada pelo complexo piruvato desidrogenase.



Balanço global do ciclo de Krebs



Formação do Acetil-CoA



A reacção de descarboxilação oxidativa do piruvato a acetato é uma reacção irreversível catalisada por um complexo multienzimático. Liberta-se CO_2 e NADH .



A conversão do piruvato em acetilCoA envolve 3 passos:

(1) descarboxilação

(2) oxidação

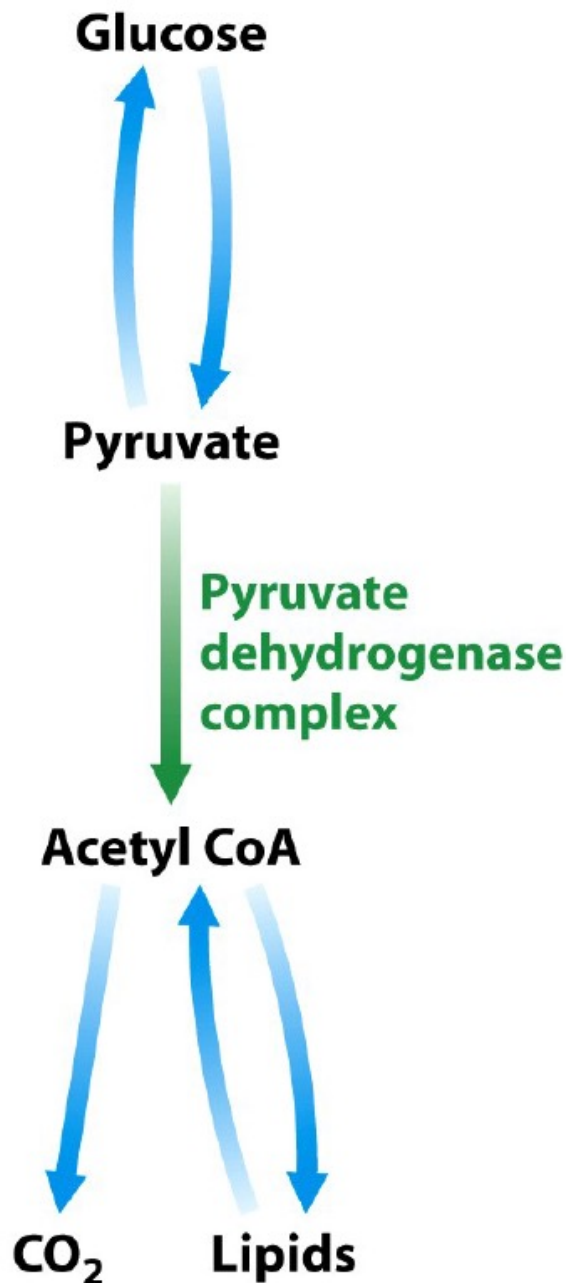
(3) transferência para a coenzima A

Os passos têm que ser acoplados para que a energia resultante da descarboxilação seja conservada na formação do acetil-CoA (composto que tem uma ligação tioéster rica em energia).

O acoplamento é conseguido pela integração estrutural dos 3 tipos de enzimas no complexo multienzimático.

TABLE 17.1 Pyruvate dehydrogenase complex of *E. coli*

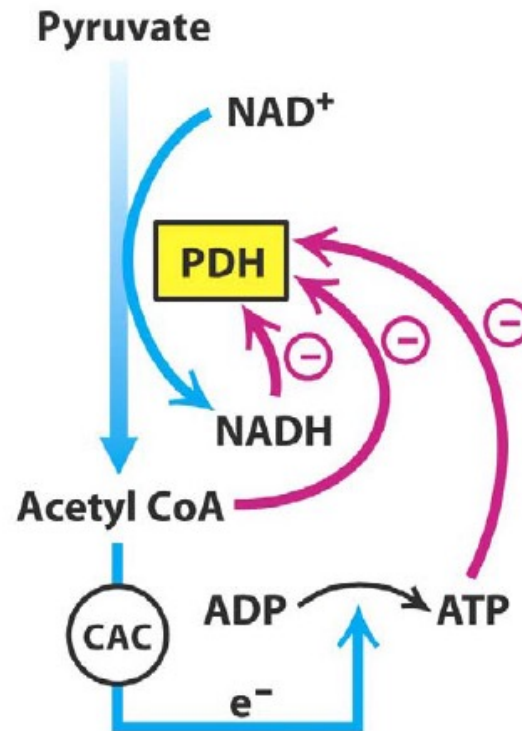
Enzyme	Abbreviation	Number of chains	Prosthetic group	Reaction catalyzed
Pyruvate dehydrogenase component	E ₁	24	TPP	Oxidative decarboxylation of pyruvate
Dihydrolipoyl transacetylase	E ₂	24	Lipoamide	Transfer of acetyl group to CoA
Dihydrolipoyl dehydrogenase	E ₃	12	FAD	Regeneration of the oxidized form of lipoamide



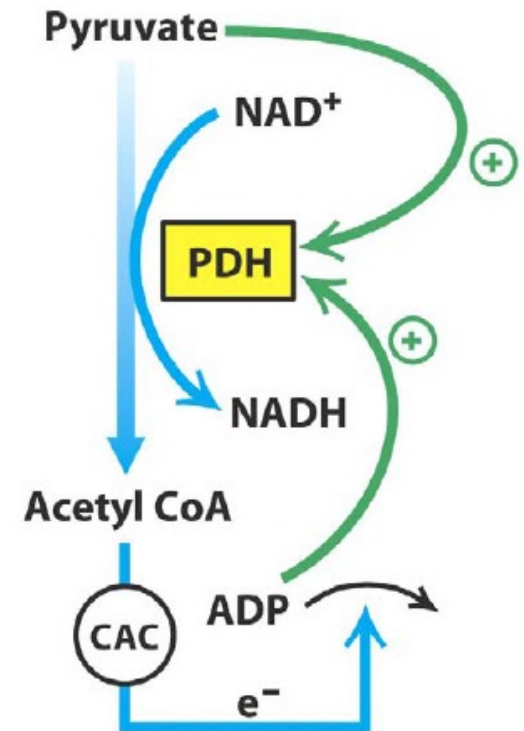
A conversão de piruvato a acetil-CoA é regulada

Nos animais o acetil-CoA não pode ser convertido em glucose

(A) HIGH ENERGY CHARGE

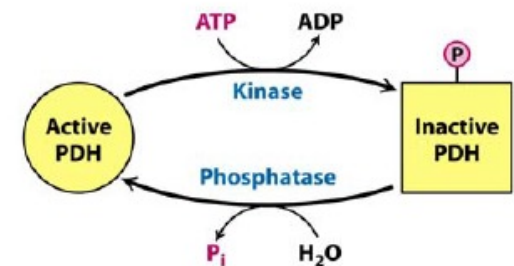


(B) LOW ENERGY CHARGE

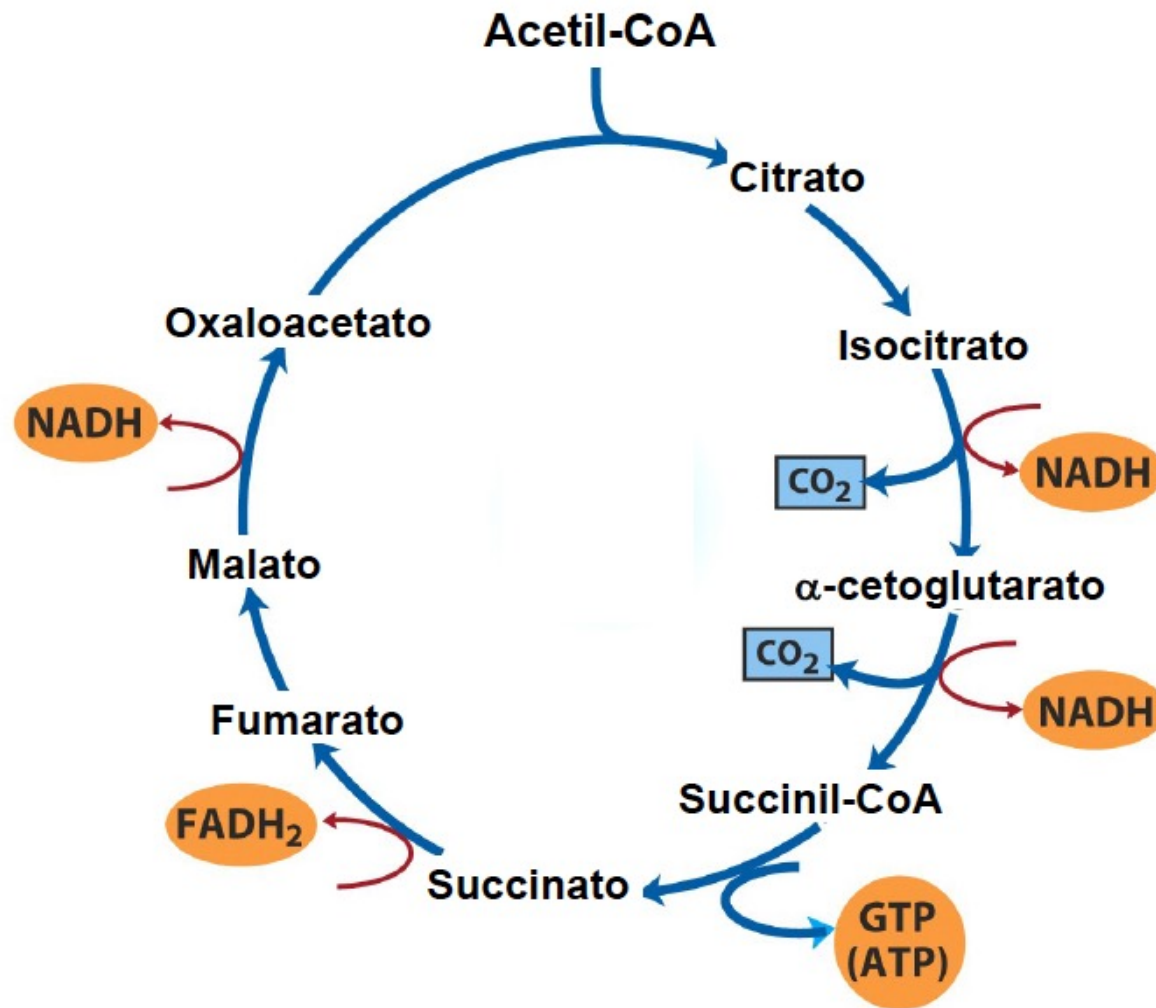
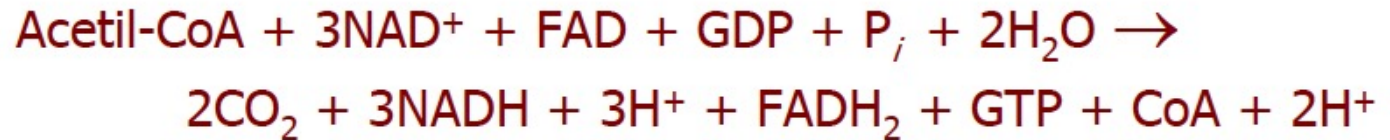


PDH também é regulada por fosforilação

razões elevadas $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$; $[\text{ATP}]/[\text{ADP}]$ e $[\text{acetilCoA}]/[\text{CoA}]$ activam a cinase inibindo a PDH.

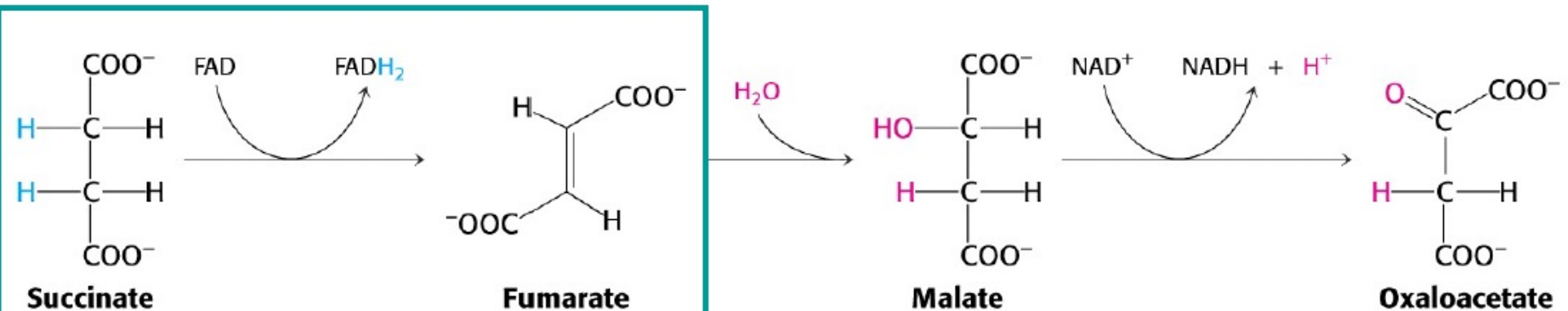


Balanco global do ciclo de Krebs



Regeneração do oxaloacetato em 3 passos: Oxidação, hidratação, oxidação.

Este motivo metabólico é também encontrado na síntese e degradação dos ácidos gordos e na degradação de alguns aminoácidos.



Enzima:

succinato desidrogenase

O cofactor FAD está covalentemente ligado a uma His.

A succinato desidrogenase está inserida na membrana da mitocôndria e está directamente associada à cadeia de transporte de electrões (complexo II).

Contém centros de ferro-enxofre: 2Fe-2S, 3Fe-4S e 4Fe-4S.

Enzima: fumarase

Cataliza a adição de H₂O à dupla ligação.

Enzima: malato desidrogenase

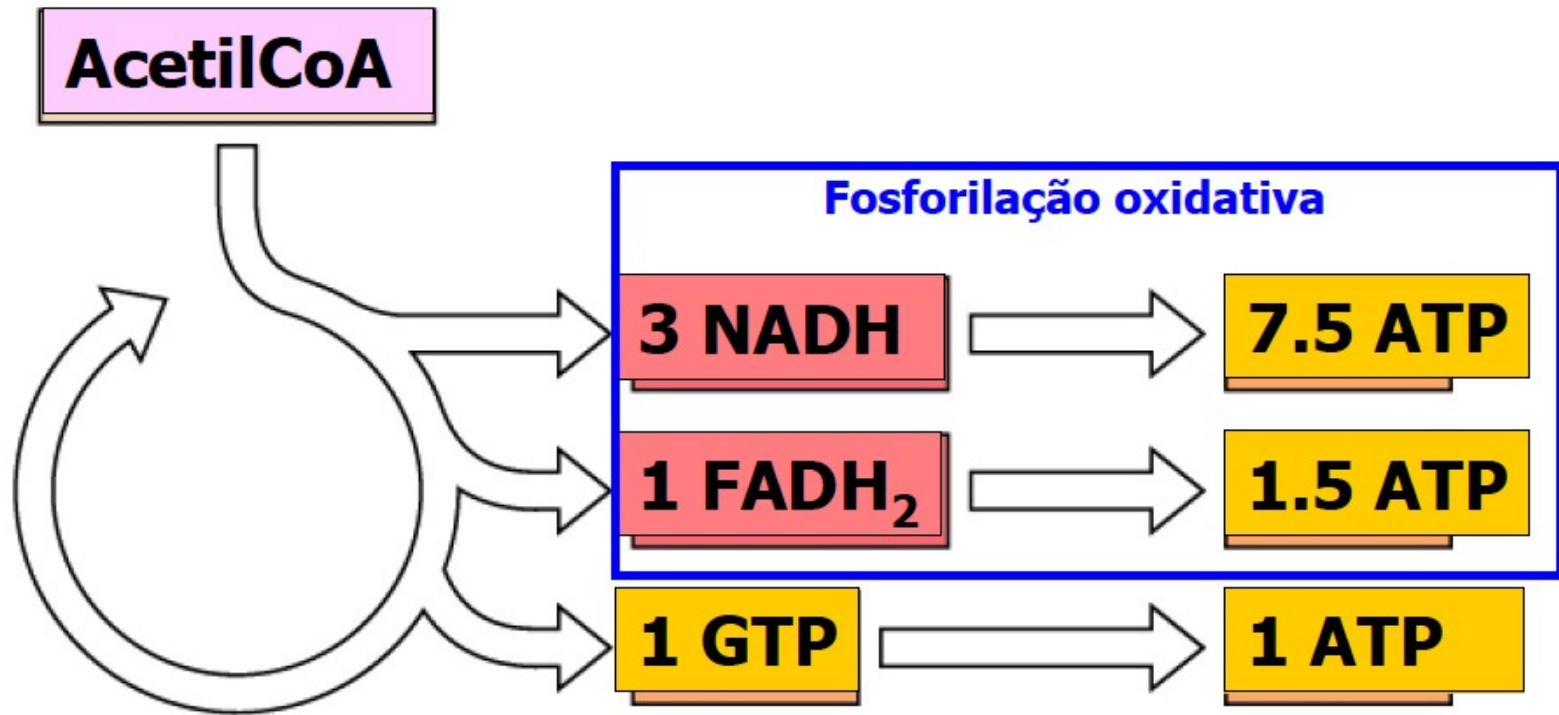
Cataliza a oxidação do malato a oxaloacetato, numa reacção em que o NAD⁺ é aceitador dos electrões. Esta reacção tem $\Delta G^{0'} > 0$. Dá-se porque o escoamento do oxaloacetato mantém a sua concentração baixa dentro da mitocôndria.

A reoxidação dos cofactores reduzidos está acoplada à síntese de ATP por fosforilação oxidativa, na cadeia respiratória.

1 NADH \longrightarrow 2.5 ATP

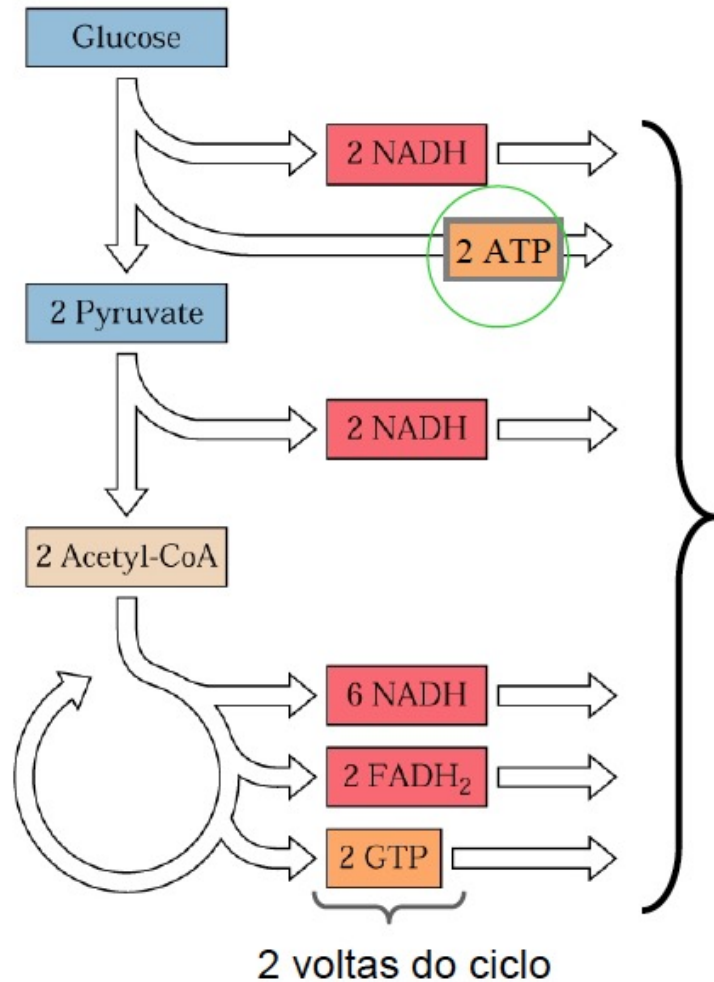
1 FADH₂ \longrightarrow 1.5 ATP

BALANÇO ENERGÉTICO DO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO



Cada unidade acetato dá origem a 10 ATP

Glucose \rightarrow CO_2 : balanço energético



Os cofactores reduzidos **NADH** e **FADH_2** são reoxidados na cadeia respiratória e a energia é aproveitada para formar ATP por fosforilação oxidativa:

$10 \text{ NADH} \rightarrow 25 \text{ ATP}$

$2 \text{ FADH}_2 \rightarrow 3 \text{ ATP}$

Balanço energético global (1 glucose \rightarrow CO_2)

28 ATP (fosforilação oxidativa)

4 ATP (fosforilação a nível do substrato)

Formam-se 32 ATP em resultado da oxidação completa da glucose na presença de oxigénio.

**(Fermentação em condições anaeróbias
1 glucose \rightarrow 2 ATP)**

O ciclo do ácido cítrico é controlado nas reacções irreversíveis

Isocitrato desidrogenase

Activação alostérica por ADP, inibição por NADH e ATP

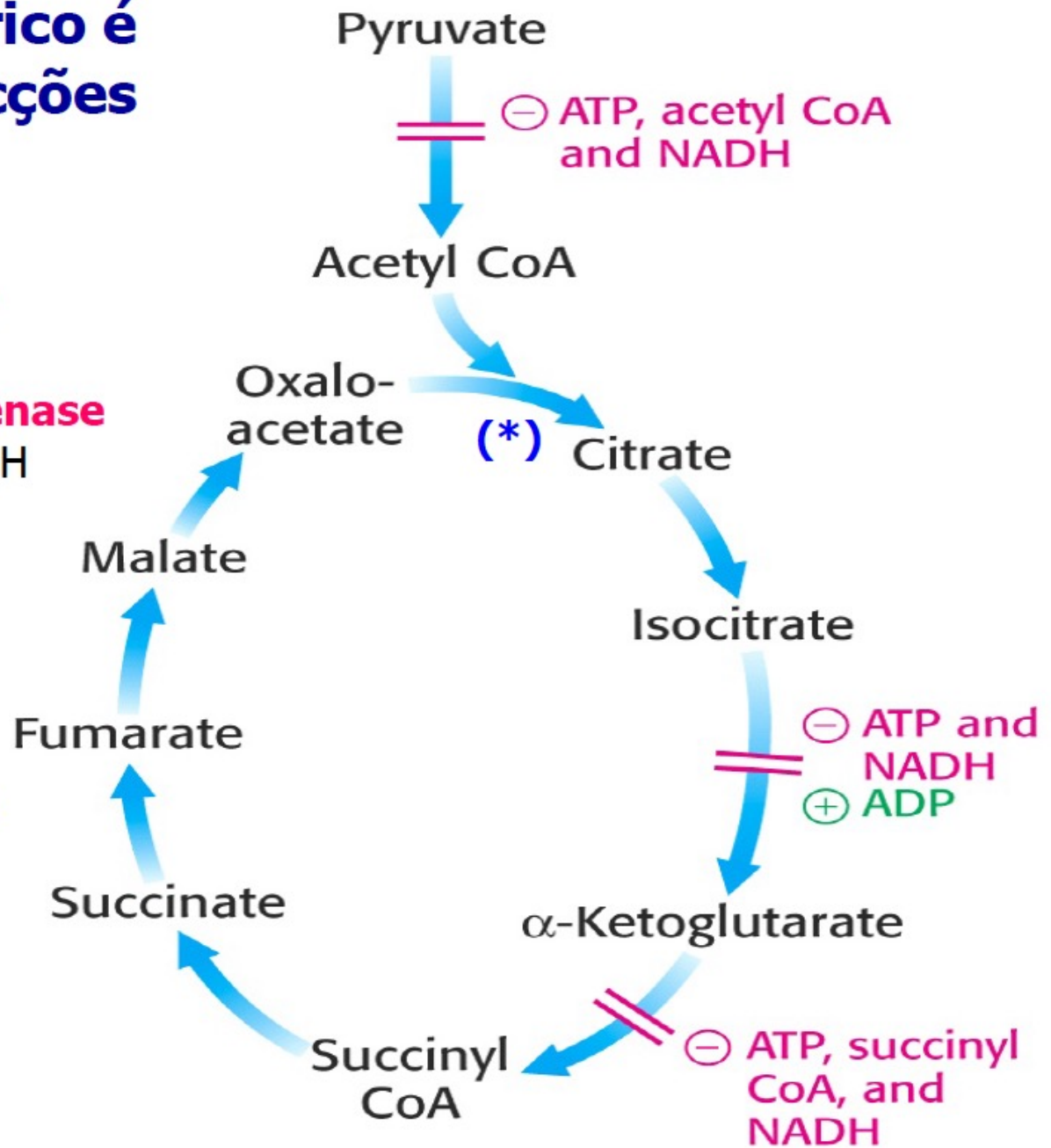
α -cetoglutarato desidrogenase

Inibição por succinilCoA, NADH e ATP

(*) Em muitas bactérias a entrada no ciclo também é controlada:

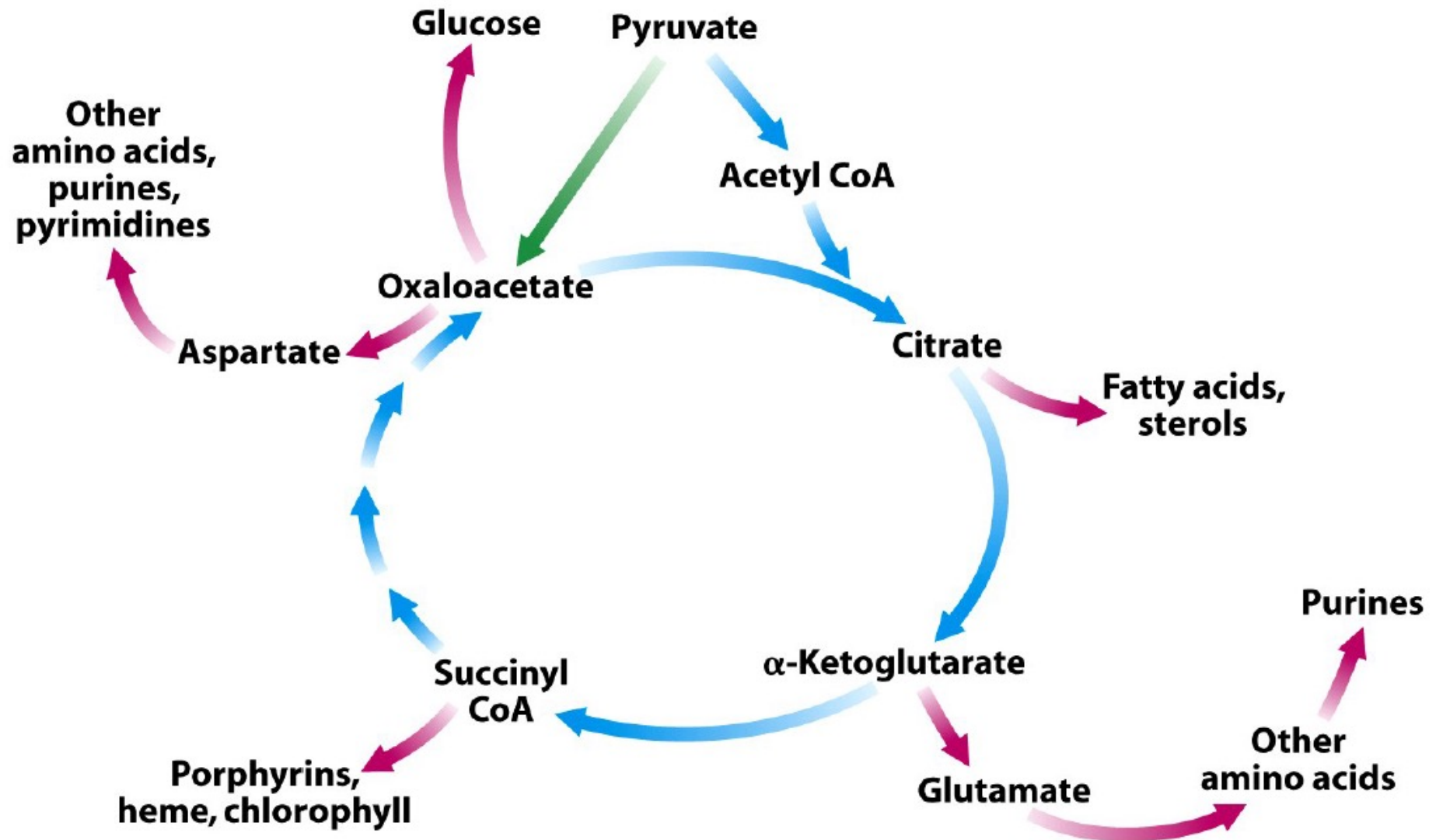
Citrato sintase

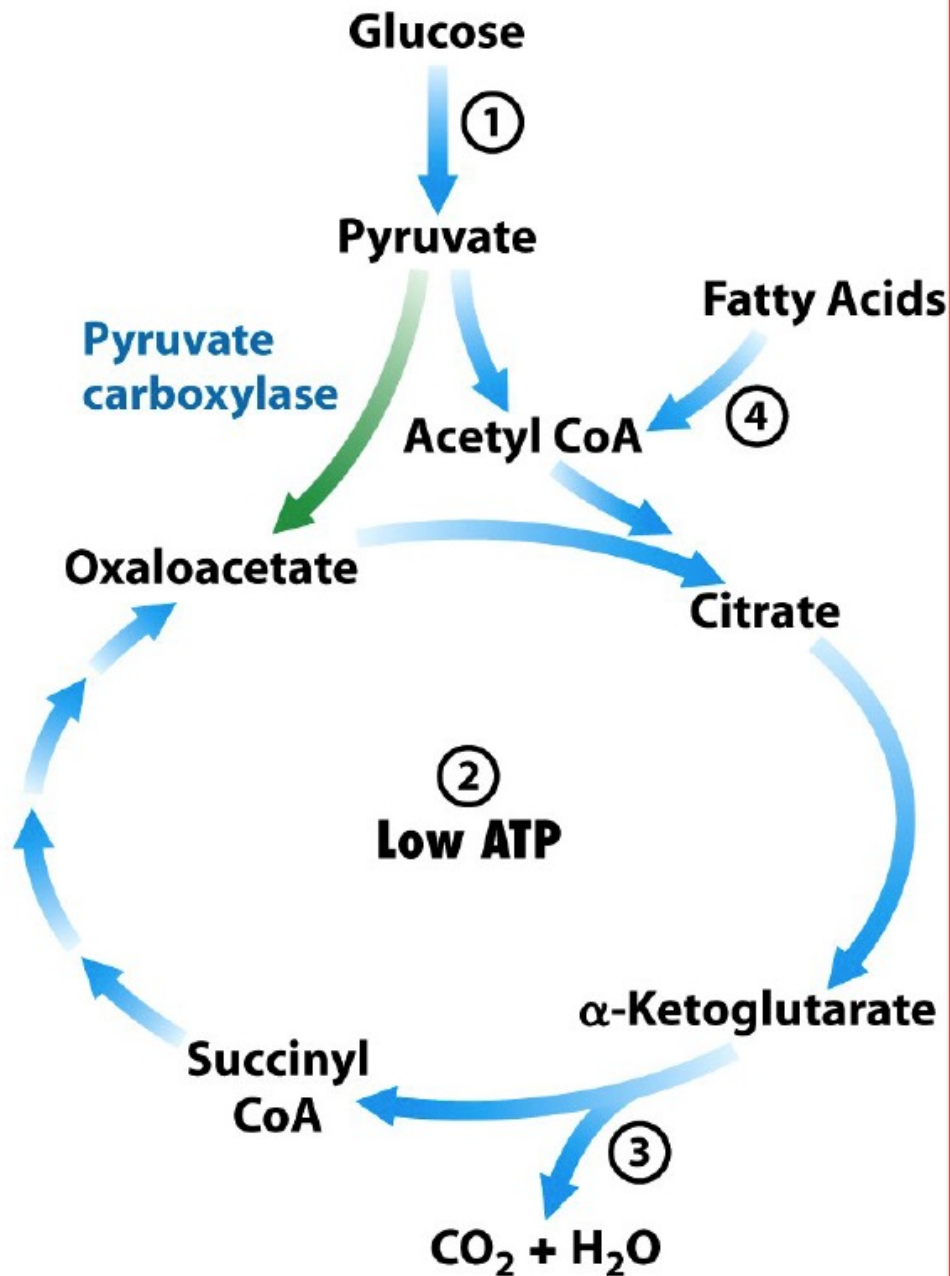
Inibição alostérica por ATP (aumenta K_M para Acetil CoA).



Em condições normais as velocidades da glicólise e do ciclo do ácido cítrico estão coordenadas pelos níveis de ATP e NADH que são componentes comuns aos dois caminhos e também pela concentração de citrato que é um inibidor da fosfofrutocinase (enzima que cataliza o primeiro passo irreversível exclusivo da glicólise).

Carácter anfibólico do ciclo de Krebs: o ciclo também fornece intermediários para a biossíntese.





Caminhos metabólicos activos quando se inicia o exercício depois de uma noite de sono

O aumento de actividade do ciclo requer acetil-CoA e oxaloacetato

Active pathways

- ① Glycolysis, Ch. 16
- ② Citric acid cycle, Ch. 17
- ③ Oxidative phosphorylation, Ch. 18
- ④ Fatty acid oxidation, Ch. 22

Uma criança de 3 anos apresenta uma sintomatologia de acidose láctica e um lento desenvolvimento das capacidades motoras, bem como atraso no desenvolvimento mental. A determinação da actividade enzimática do sistema piruvato desidrogenase num homogenato de uma cultura de fibroblastos provenientes de uma biopsia revela apenas 15% da actividade comparativamente com os valores normais.

- a) Como é que uma deficiência no sistema piruvato desidrogenase pode explicar estes sintomas?
- b) Uma forma de terapia para estes casos é a administração de doses elevadas de tiamina, nicotinamida, lipoato e riboflavina. Qual a explicação para a utilização desta terapêutica?

Quando se adiciona O_2 a uma suspensão de células em condições de anaerobiose e em meio rico em glucose, a velocidade de consumo de glucose diminui significativamente assim que o oxigénio começa a ser consumido. Adicionalmente a acumulação de lactato cessa. Este efeito foi inicialmente observado por Louis Pasteur na década de 1860 e trata-se de um efeito característico da maioria das células que são capazes de oxidar a glucose em condições de aerobiose e anaerobiose.

- a) Qual a explicação para a acumulação de lactato cessar após a adição de O_2 ao meio?
- b) Porque é que a adição de O_2 ao meio provoca a diminuição no consumo de glucose?

- a) Na ausência de oxigênio, o NADH produzido não é oxidado a NAD^+ , exercendo uma inibição por produto no sistema piruvato desidrogenase. Desta forma, o piruvato acumulado é convertido a lactato. Com a adição de oxigênio, torna a ser possível a reoxidação do NADH a NAD^+ na mitocôndria, pelo que o sistema piruvato desidrogenase retoma a descarboxilação do piruvato a acetil-CoA, cessando assim a produção de lactato.
- b) Na presença de oxigênio, a fosforilação oxidativa produz uma maior quantidade de ATP por molécula de glucose. Os elevados níveis de ATP formados são inibidores da via glicolítica nos seus variados pontos de regulação como no sistema piruvato desidrogenase. No entanto, o efeito do excesso de ATP é particularmente pronunciado no fosfofrutocinase.

4

Quantas moléculas de ATP são geradas quando duas moléculas de acetil-CoA são convertidas em quatro moléculas de CO_2 através do ciclo do ácido cítrico?

4

Duas moléculas de acetil-CoA originam 20 moléculas de ATP no ciclo do ácido cítrico (6 moléculas de NADH, 2 moléculas de GTP e uma molécula de FADH_2).