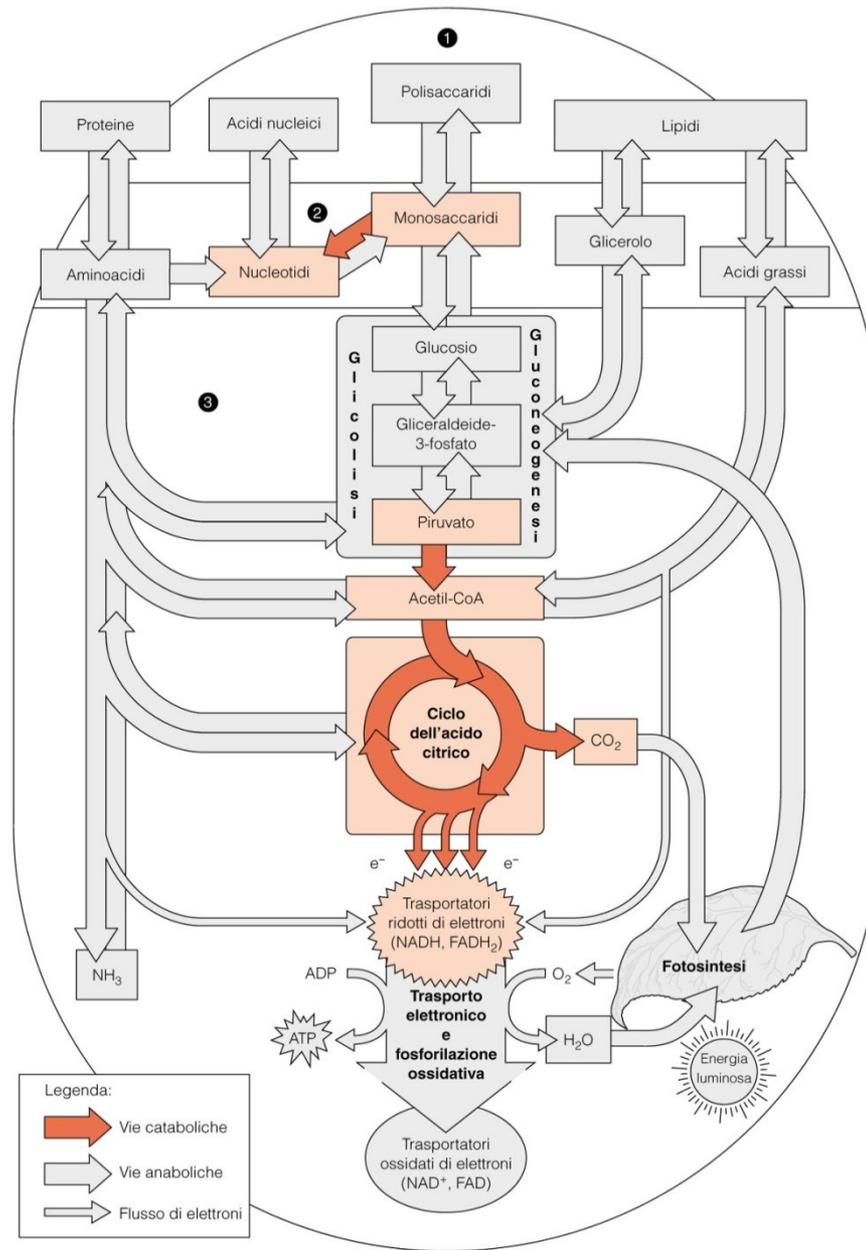
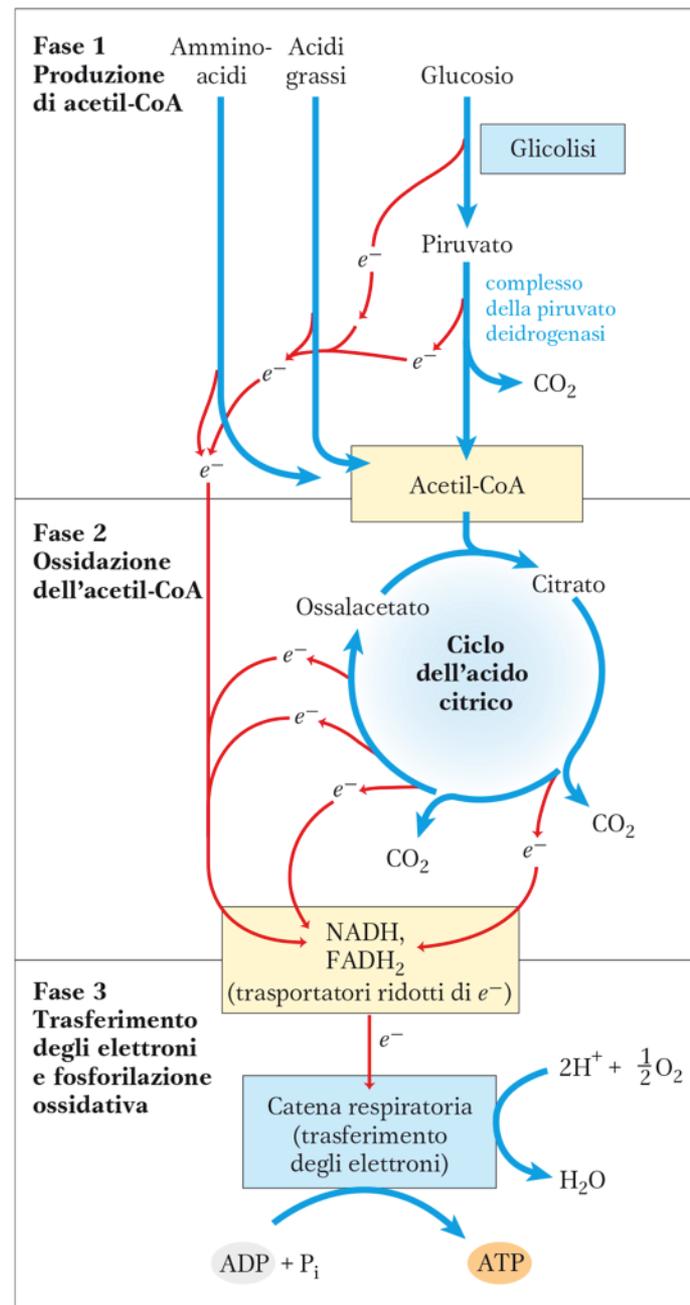


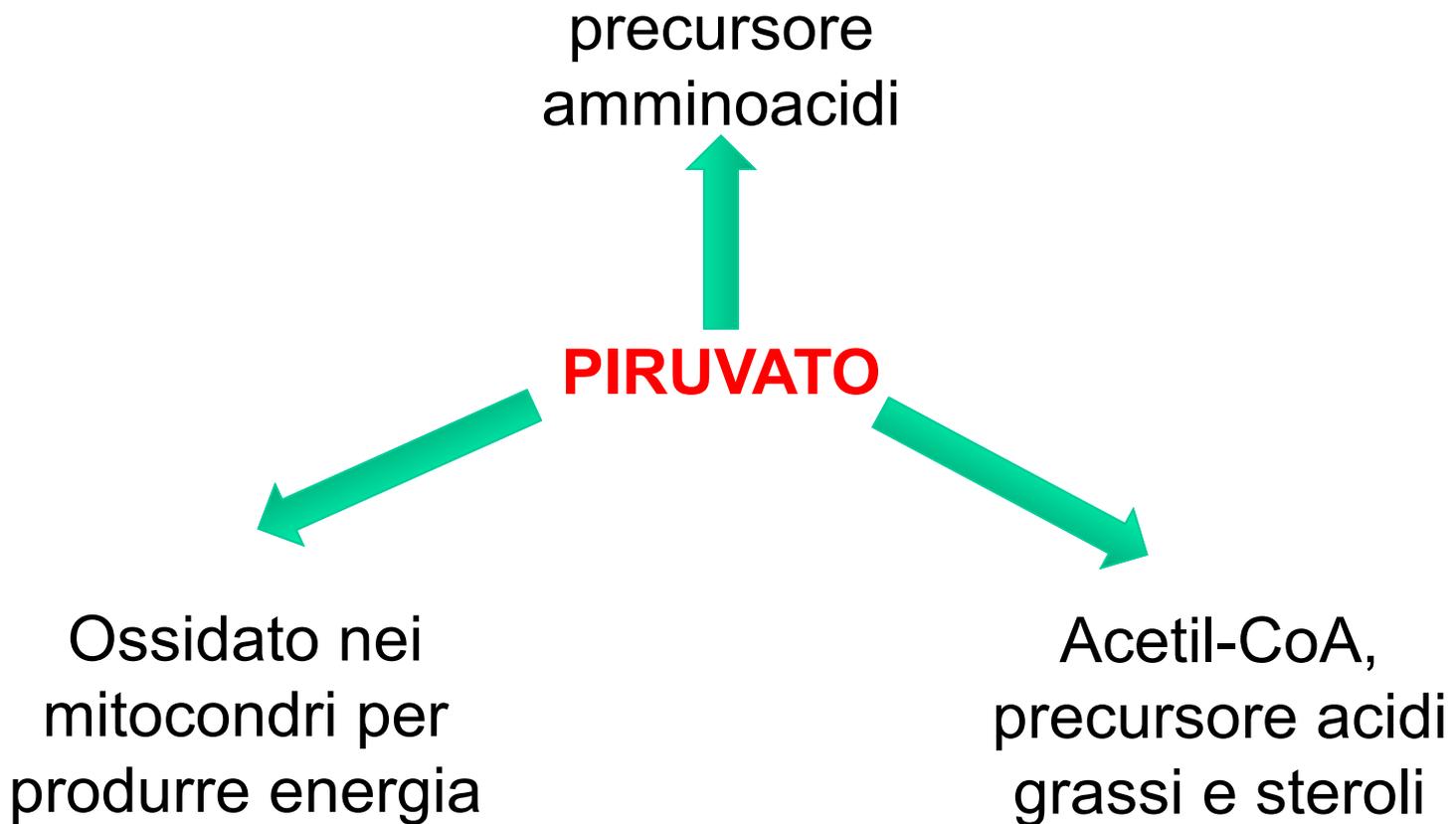
IL CICLO DI KREBS



RESPIRAZIONE CELLULARE



DESTINO DEL PIRUVATO CHE PROVIENE DALLA GLICOLISI



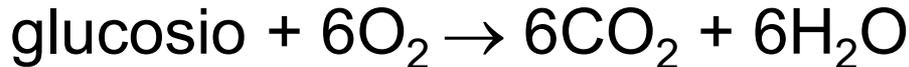
Ossidazione del glucosio a CO₂ e H₂O

condizioni anaerobiche



$$\Delta G'^{\circ} = -197.0 \text{ kJ/mol}$$

condizioni aerobiche

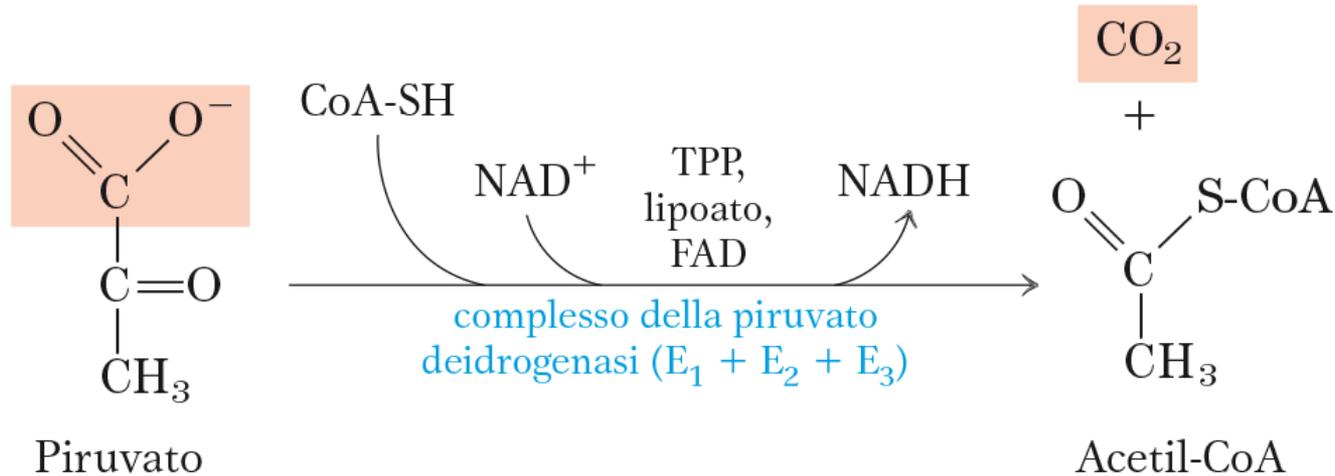


$$\Delta G'^{\circ} = -2870 \text{ kJ/mol}$$

Carboidrati, acidi grassi e molti amminoacidi sono ossidati a CO₂ e H₂O attraverso il ciclo dell'acido citrico (Krebs).

Devono essere degradati ad acetile (Acetil-CoA).

PIRUVATO DEIDROGENASI



$$\Delta G'^{\circ} = -33,4 \text{ kJ/mole}$$



Reazione irreversibile nella cellula. Il piruvato subisce una decarbossilazione ossidativa.

Coinvolge l'azione sequenziale di **3 enzimi diversi:**

piruvato deidrogenasi (E1)

diidrolipoil transacetilasi (E2)

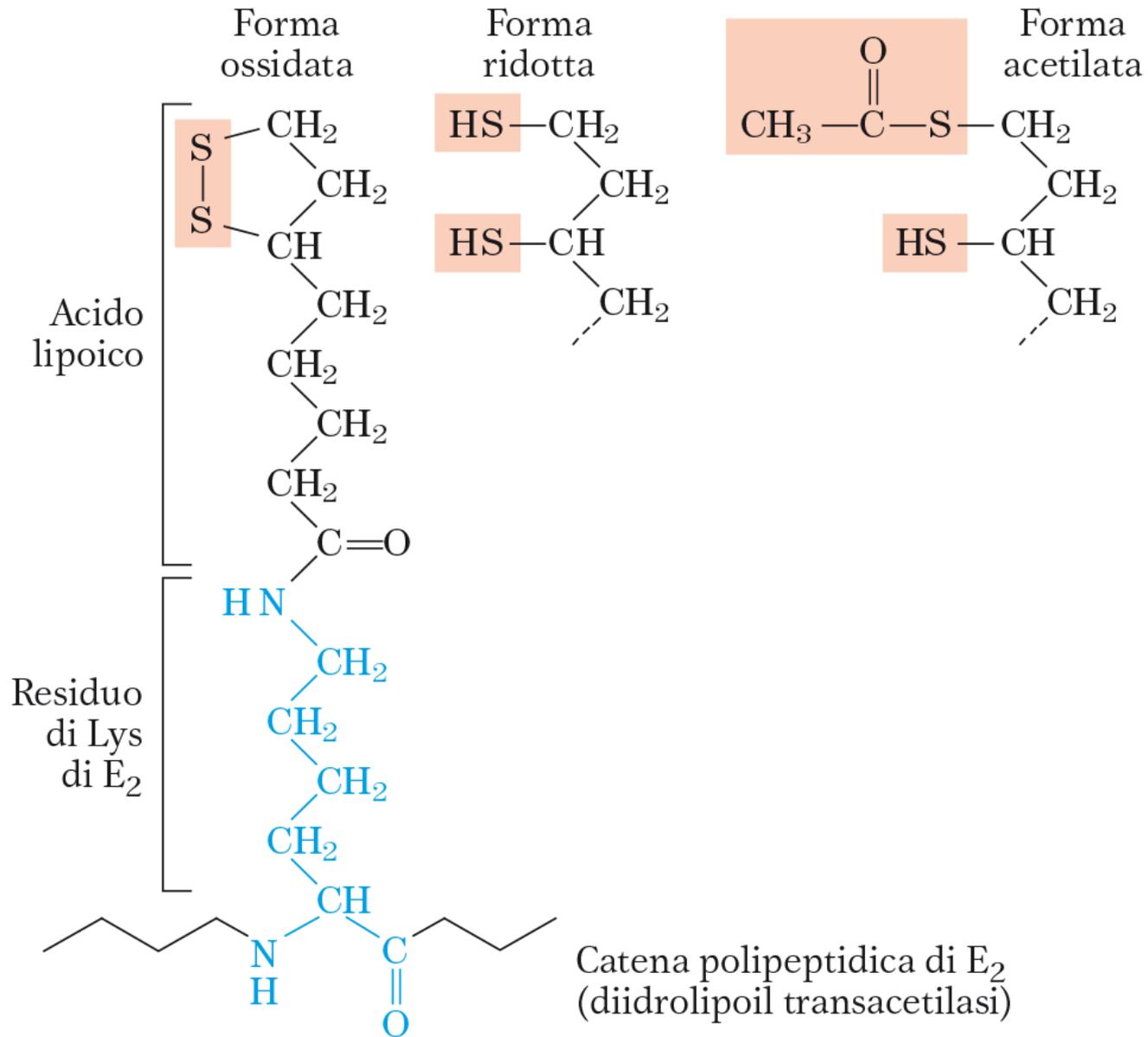
diidrolipoil deidrogenasi (E3)

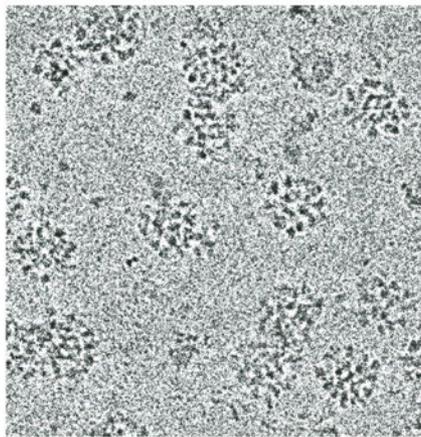
e 5 coenzimi:

TPP, FAD, CoA-SH, NAD⁺ e acido lipoico

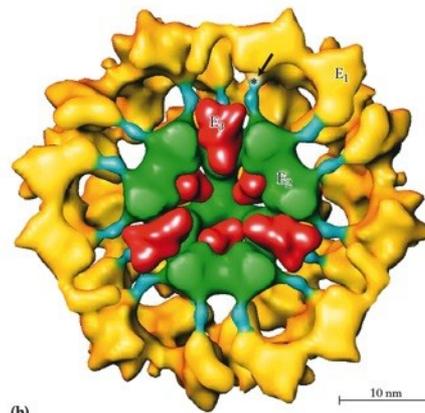
Sono organizzati in un complesso multienzimatico che si trova nei mitocondri.

Il complesso contiene anche 2 proteine regolatrici (una chinasi e una fosfatasi)

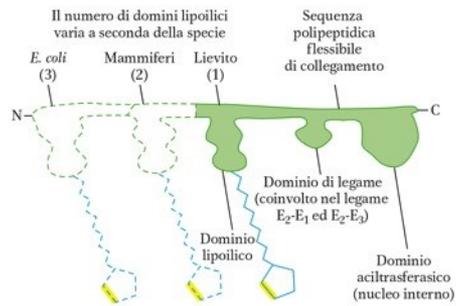




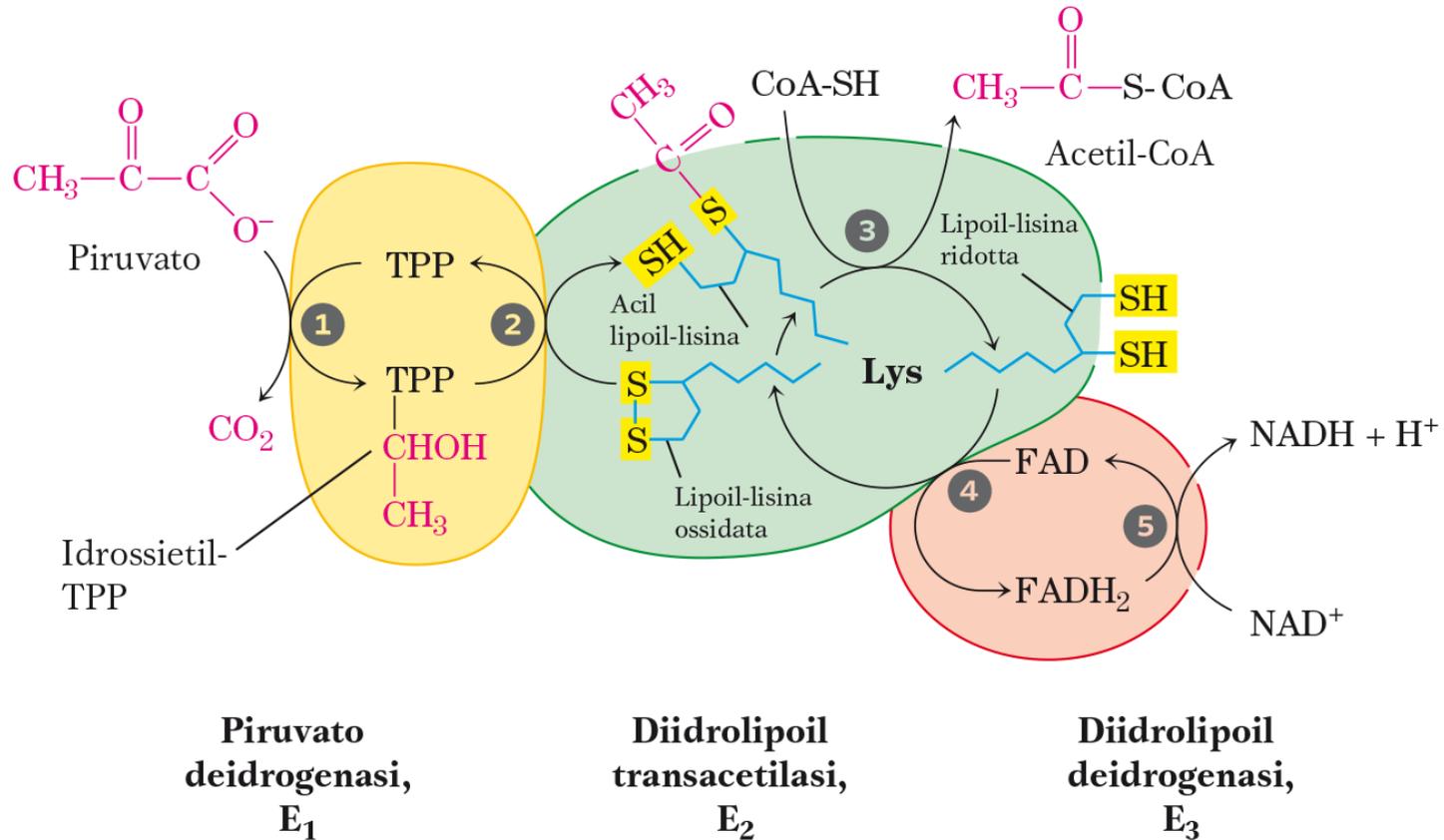
(a)



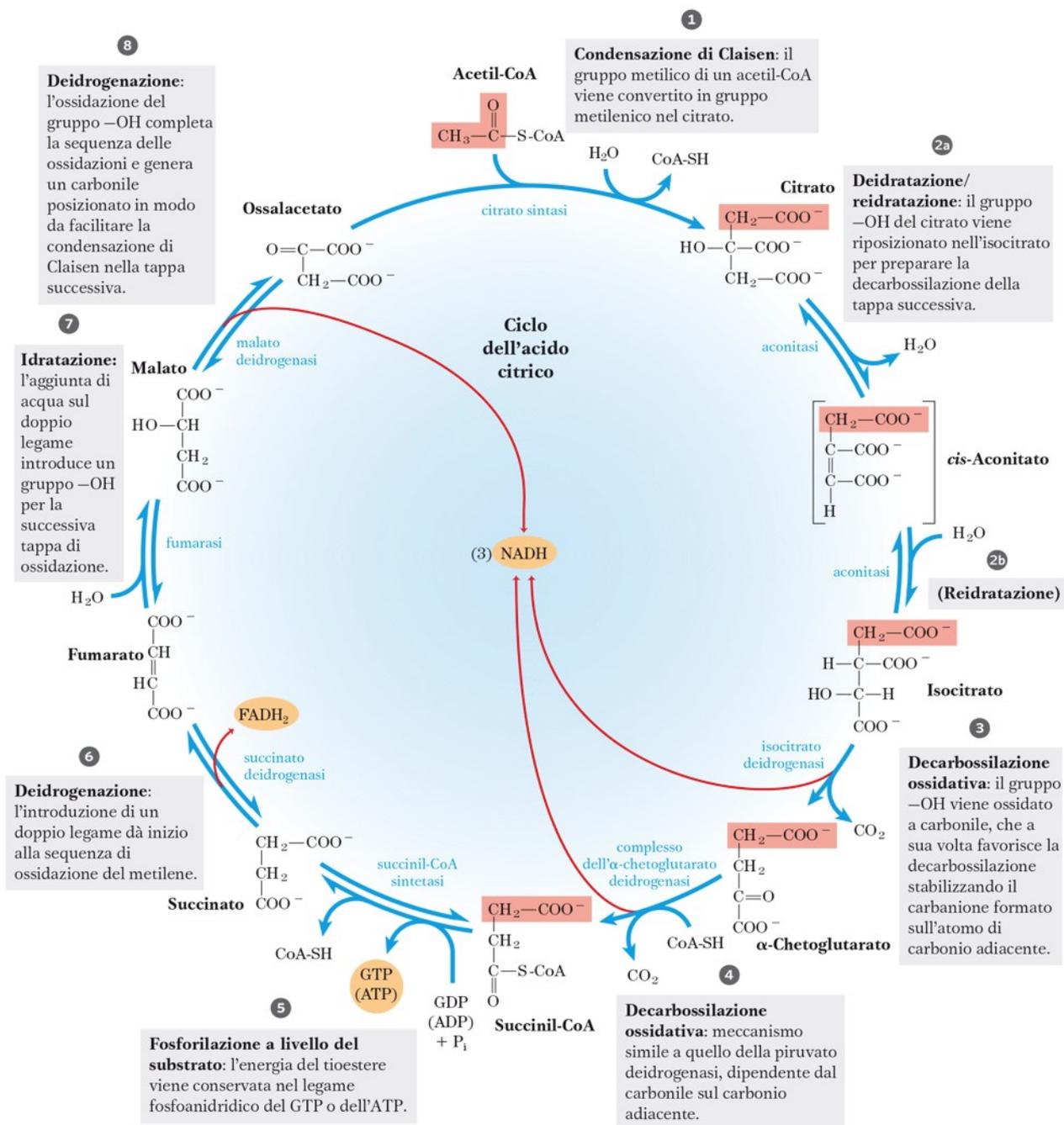
(b)

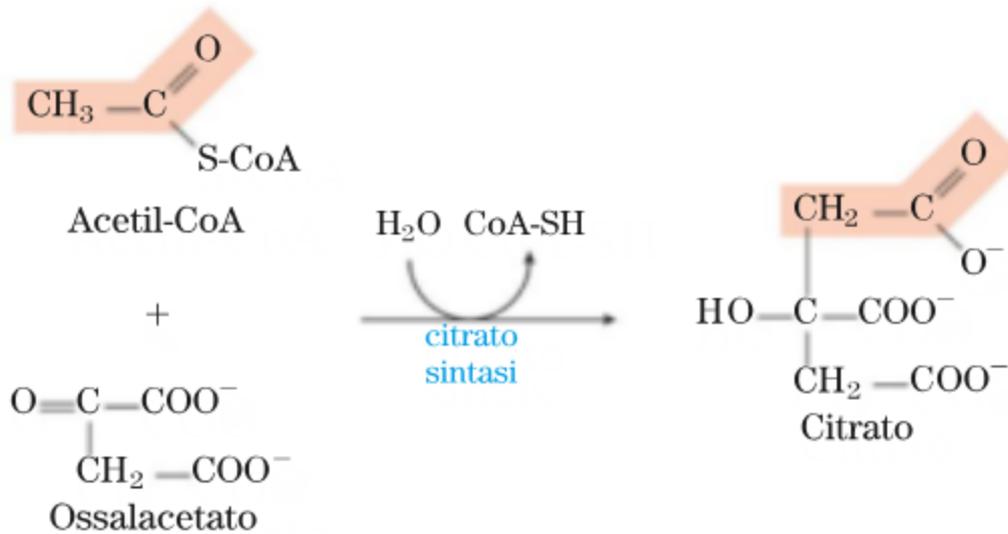


(c)

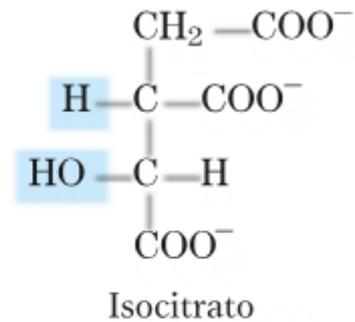
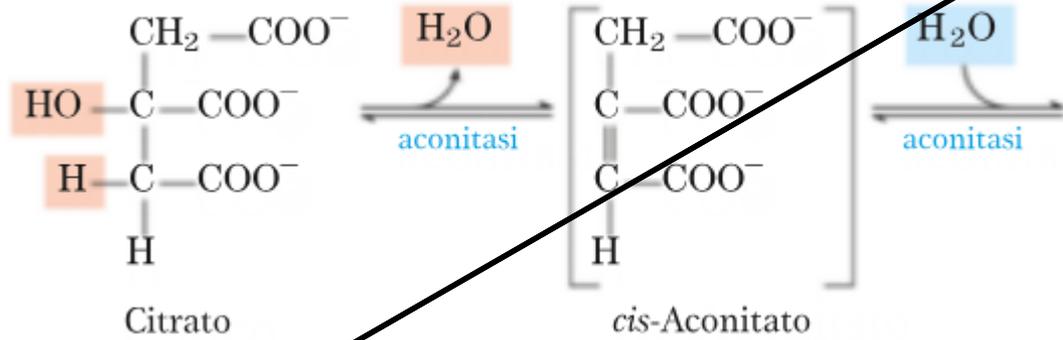


incanalamento dei substrati: gli intermedi non si allontanano mai dal complesso. L'incanalamento impedisce anche la sottrazione del gruppo acetilico attivato da parte di altri enzimi che lo utilizzano come substrato

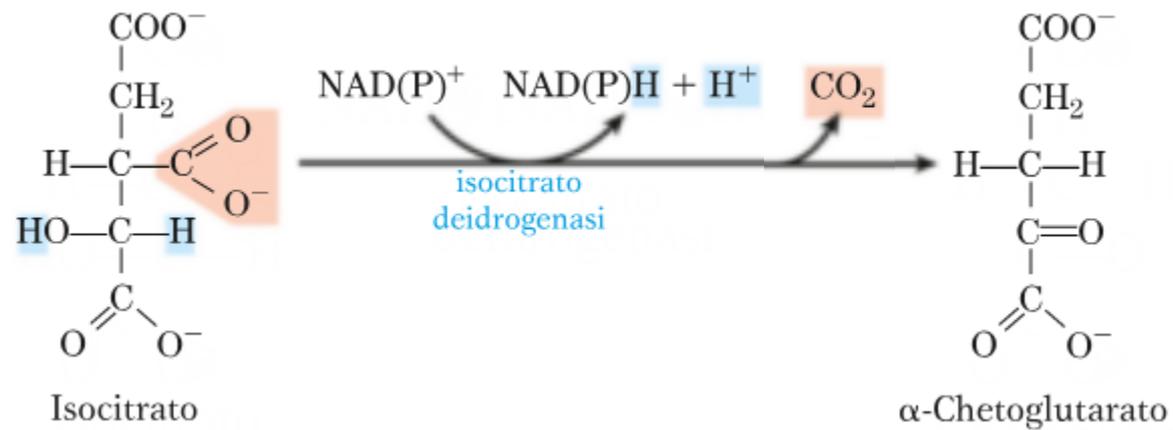


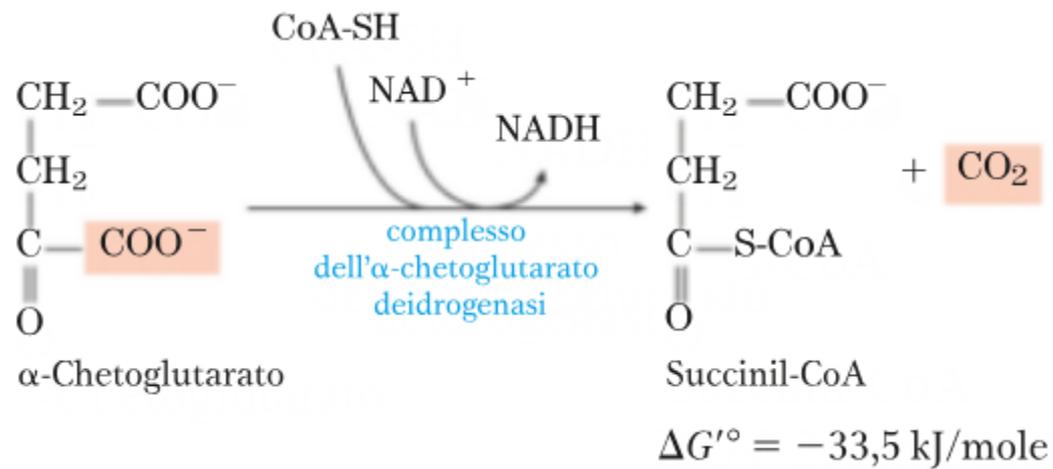


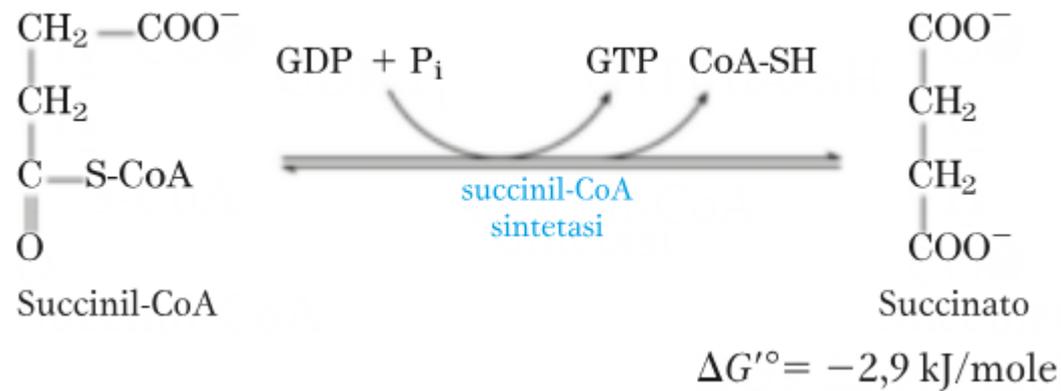
$$\Delta G'^{\circ} = -32,2 \text{ kJ/mole}$$



$$\Delta G'^{\circ} = 13,3 \text{ kJ/mole}$$

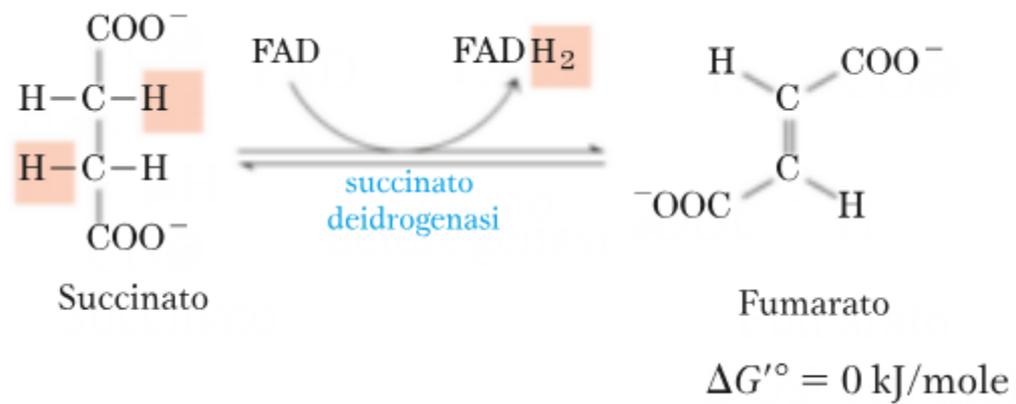


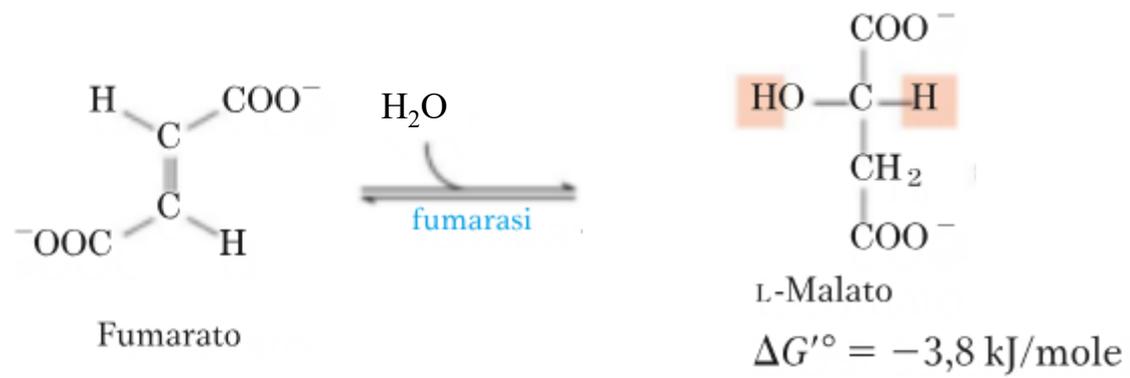


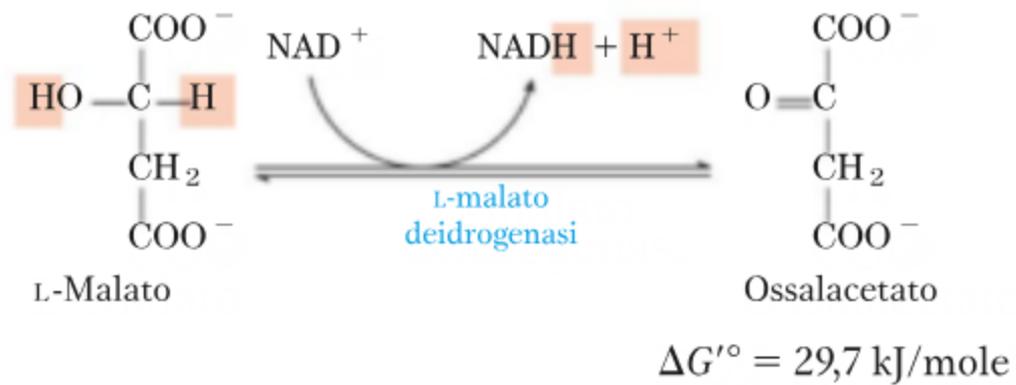


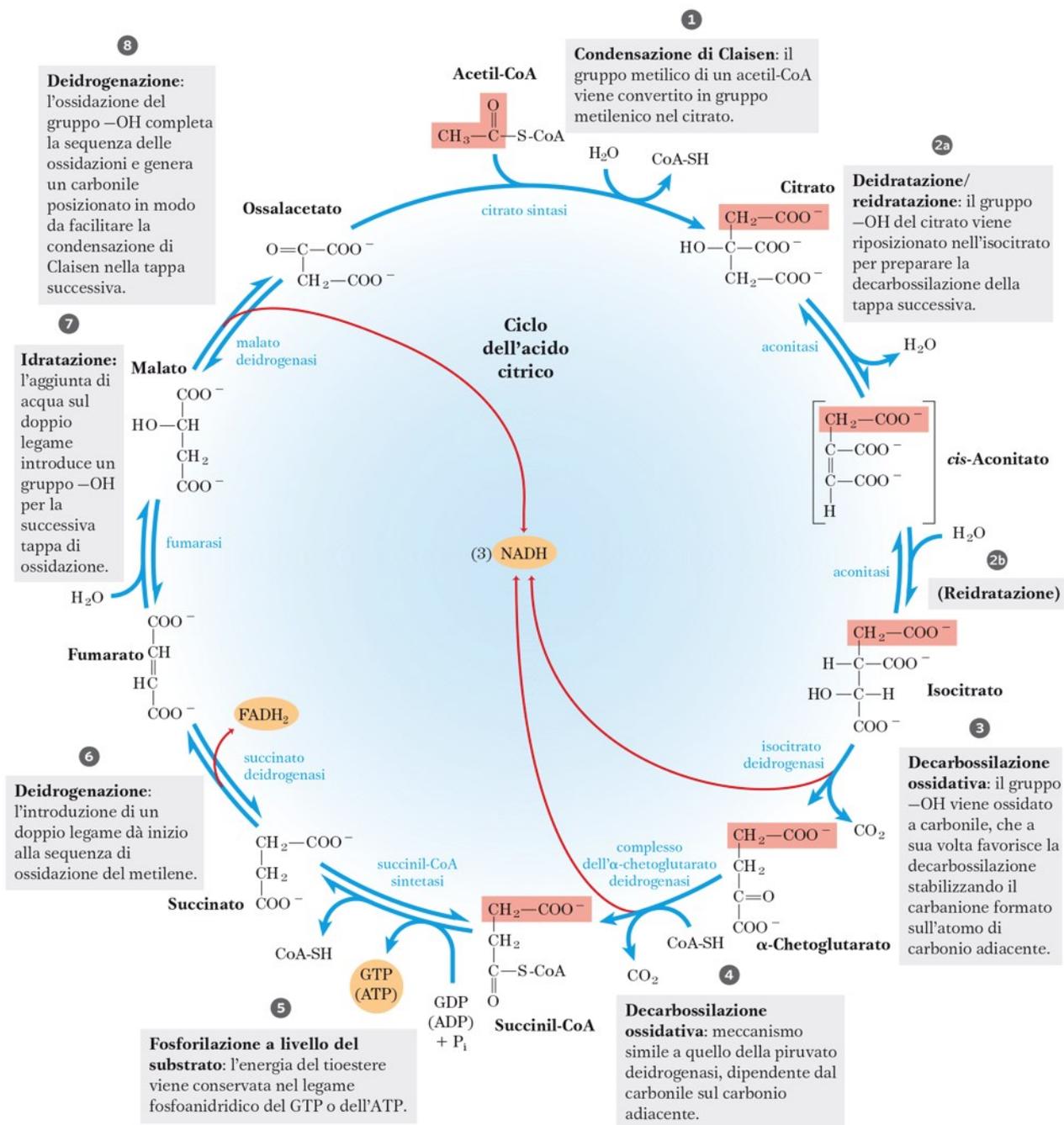
$$\Delta G'^{\circ} = 0 \text{ kJ/mole}$$

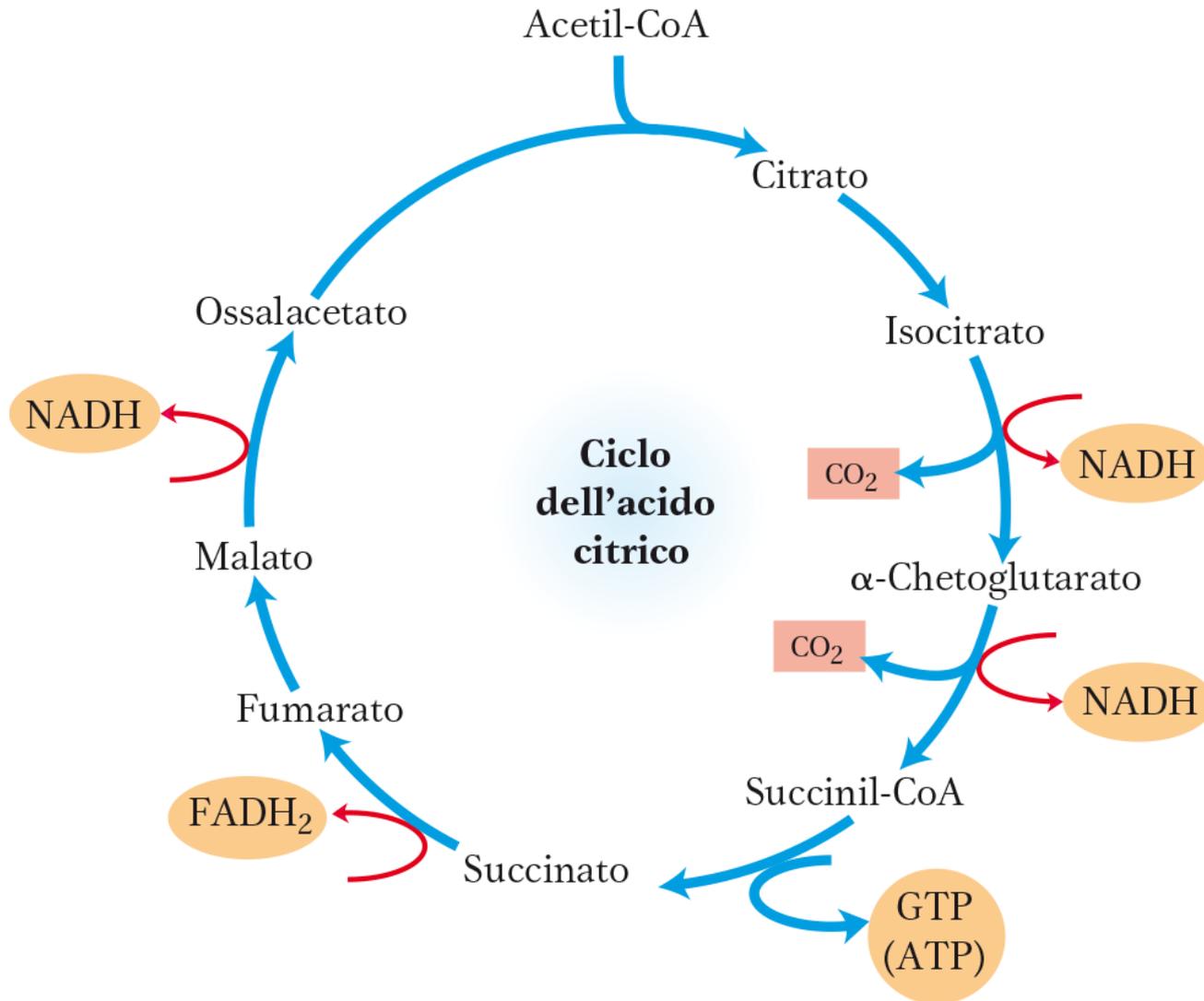
nucleoside difosfato chinasi











RIASSUNTO

1 CH_3COO^- è inserito nel ciclo

2 C escono come CO_2

4 paia di H sono rimossi ($3 \text{NADH} + \text{H}^+$ e 1FADH_2)

prodotti:

- 1 GTP o 1 ATP (dipende dal tipo cellulare)

- flusso di elettroni ricchi di energia che passano alla catena respiratoria fino ad O_2 per formare H_2O

PERCHE' ESISTE IL CICLO?

L'acido acetico è molto resistente all'ossidazione del carbonio metilico. Per ossidarlo direttamente sono necessarie condizioni drastiche incompatibili con le condizioni cellulari. Il citrato è più facile da deidrogenare e decarbossilare di CH_3COO^-

REGOLAZIONE DEL CICLO DI KREBS

In generale:

Il rifornimento di acetil-CoA da carboidrati e ac grassi è cruciale nel determinare la velocità del ciclo.

Le reazioni deidrogenasiche dipendono da $[NAD^+]$ e $[FAD]$, quindi le loro attività sono controllate dalla catena respiratoria mitocondriale che è responsabile dell'ossidazione di $NADH$ e $FADH_2$. L'attività della catena respiratoria è accoppiata alla produzione di ATP , ne consegue che l'attività del ciclo di Krebs è influenzata dalla disponibilità di $ADP + P_i$ e O_2 . Quindi, in generale, qualunque fattore che interrompe il rifornimento di O_2 , di ADP o di NAD^+ e FAD , blocca l'attività del ciclo.

REGOLAZIONE DEL CICLO DI KREBS

Trasporto di piruvato nei mitocondri

Il ciclo è regolato a livello di enzimi specifici.

La regolazione principale avviene a livello delle reazioni catalizzate da:

- **Complesso della piruvato DH**
- **citrato sintasi**
- **isocitrato DH**
- **α -chetoglutarato DH**

REGOLAZIONE DEL COMPLESSO PIRUVATO DEIDROGENASI

Regolazione allosterica:

Inibito dei prodotti della reazione:

Acetil-CoA

NADH

ATP

Attivato da:

AMP

CoA-SH

NAD⁺

Ca²⁺

L'inibizione è aumentata da ac. grassi a lunga catena.

L'enzima viene spento quando sono disponibili grandi quantità di combustibile sotto forma di ac. grassi o di acetil-CoA, quando la conc. di ATP è elevata, quando il rapporto NADH/NAD⁺ è elevato.

REGOLAZIONE COVALENTE DELLA PIRUVATO DEIDROGENASI (E1)

Inibizione mediante fosforilazione di E1 (Pir DH). Una specifica chinasi (PDH chinasi) fosforila E1 e una PDH fosfatasi lo defosforila. La chinasi è attivata allostericamente da ATP. Questi due enzimi fanno anch'essi parte del complesso della piruvato deidrogenasi.

REGOLAZIONE COVALENTE DELLA PIRUVATO DEIDROGENASI

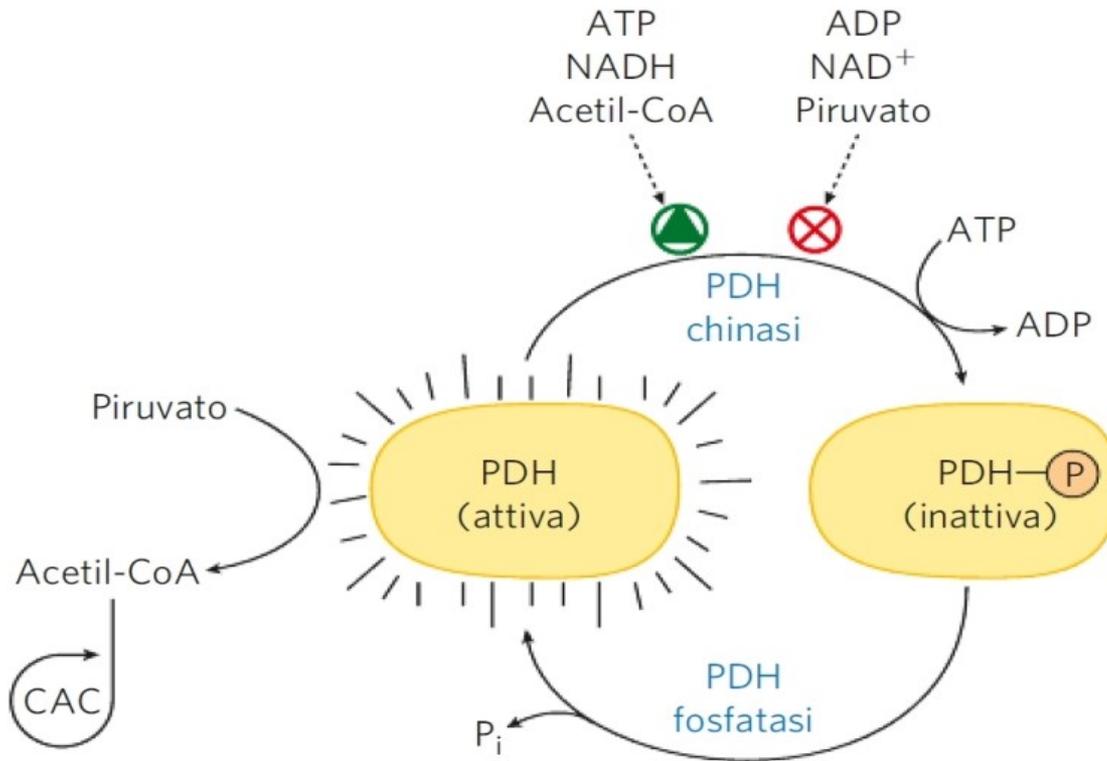


Figura 16.19 La piruvato deidrogenasi viene inattivata dalla fosforilazione catalizzata dalla piruvato deidrogenasi chinasi. La chinasi è regolata dai metaboliti che segnalano lo stato di disponibilità energetica della cellula. I metaboliti che si accumulano in uno stato di disponibilità energetica sufficiente attivano la PDH chinasi, che fosforila e inattiva la PDH. Il piruvato viene quindi allontanato dal ciclo dell'acido citrico (CAC), il cui scopo è produrre energia. I metaboliti che indicano una necessità di energia o un accumulo di piruvato hanno l'effetto contrario: mantengono la PDH attiva e indirizzano l'acetil-CoA nel CAC.

REGOLAZIONE DELLA PIRUVATO DH (E1) NEL FEGATO

PDH fosfatasi è sotto controllo ormonale.

L'adrenalina, attraverso il fosfoinositolo, causa un aumento di $[Ca^{2+}]$ intracellulare, che attiva la fosfatasi.

L'insulina stimola la fosfatasi nel fegato e nel tessuto adiposo, aumentando la conversione di PIR in acetyl-CoA. Quest'ultimo è il precursore degli acidi grassi

REGOLAZIONE DEL CICLO DI KREBS

La velocità del flusso attraverso il ciclo è regolata da 3 fattori:

- 1) Disponibilità di substrato
- 2) Inibizione da accumulo di prodotto
- 3) Inibizione retroattiva (da parte degli ultimi intermedi)

3 tappe fortemente esoergoniche:

citrato sintasi

isocitrato DH

α -chetoglutarato DH

Ognuna può divenire la tappa che regola la velocità di tutto il ciclo

2) citrato sintasi

La velocità dipende dalla disponibilità dei substrati OA e acetil-CoA

Inibito da: ATP, NADH, succinil-CoA, citrato

Attivato da: ADP

3) isocitrato DH

Inibito da: ATP

Attivato da: ADP, Ca^{2+}

4) α -chetoglutarato DH

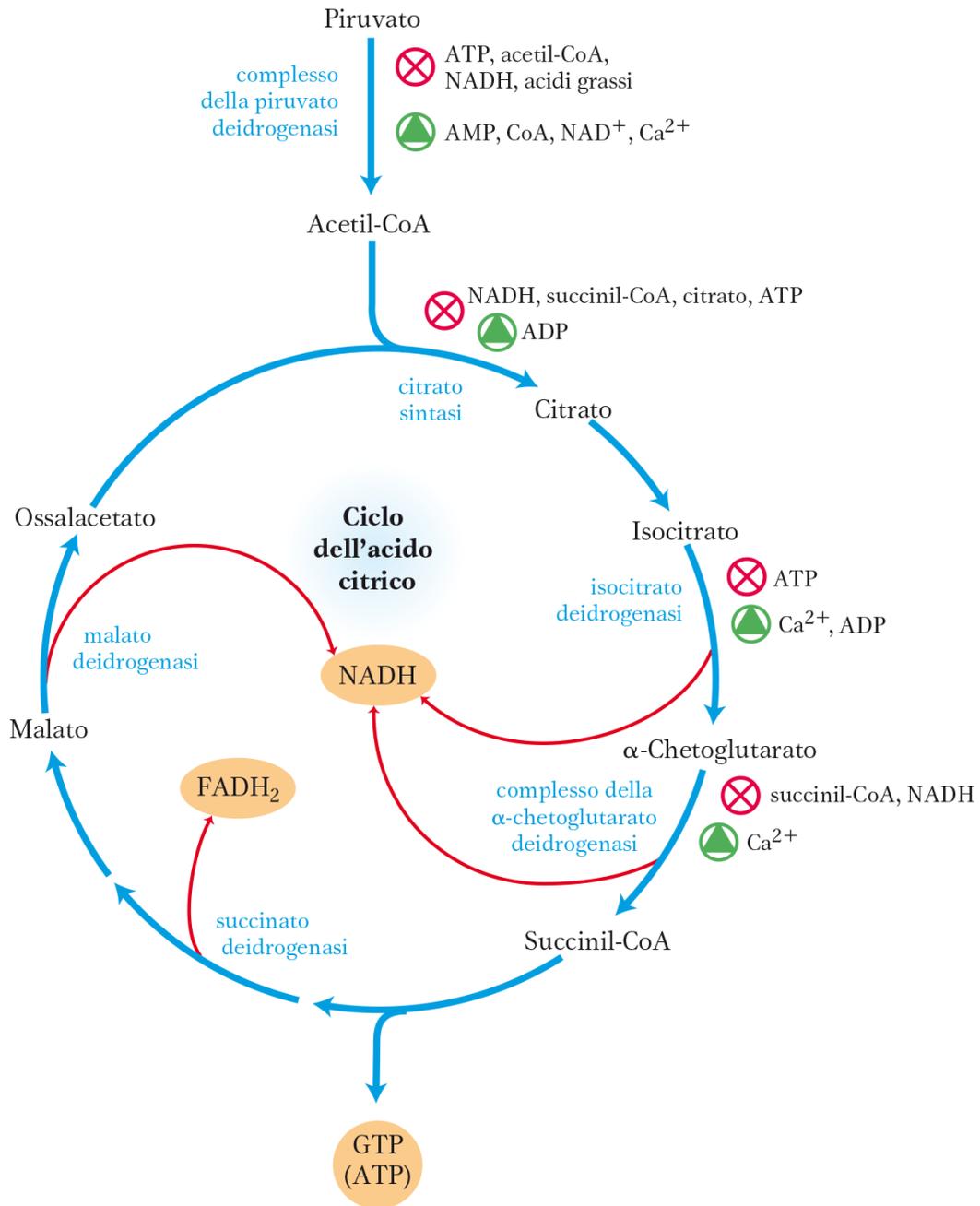
Inibito da: NADH, succinil-CoA

Attivato da: Ca^{2+} (messaggero metabolico, aumenta quando [ATP] bassa)

In condizioni normali la velocità di glicolisi e la velocità del ciclo dell'acido citrico sono regolate in modo che viene demolito a Pir solo il Glc necessario per rifornire il ciclo di acetil-CoA. Le concentrazioni di piruvato, lattato e acetil-CoA sono costanti. Non c'è accumulo. I due processi sono accoppiati da inibizione di alti livelli di ATP e NADH e dalla concentrazione di citrato. Il citrato è inibitore allosterico della PFK-1 che catalizza la fosforilazione del fruttosio 6-fosfato.

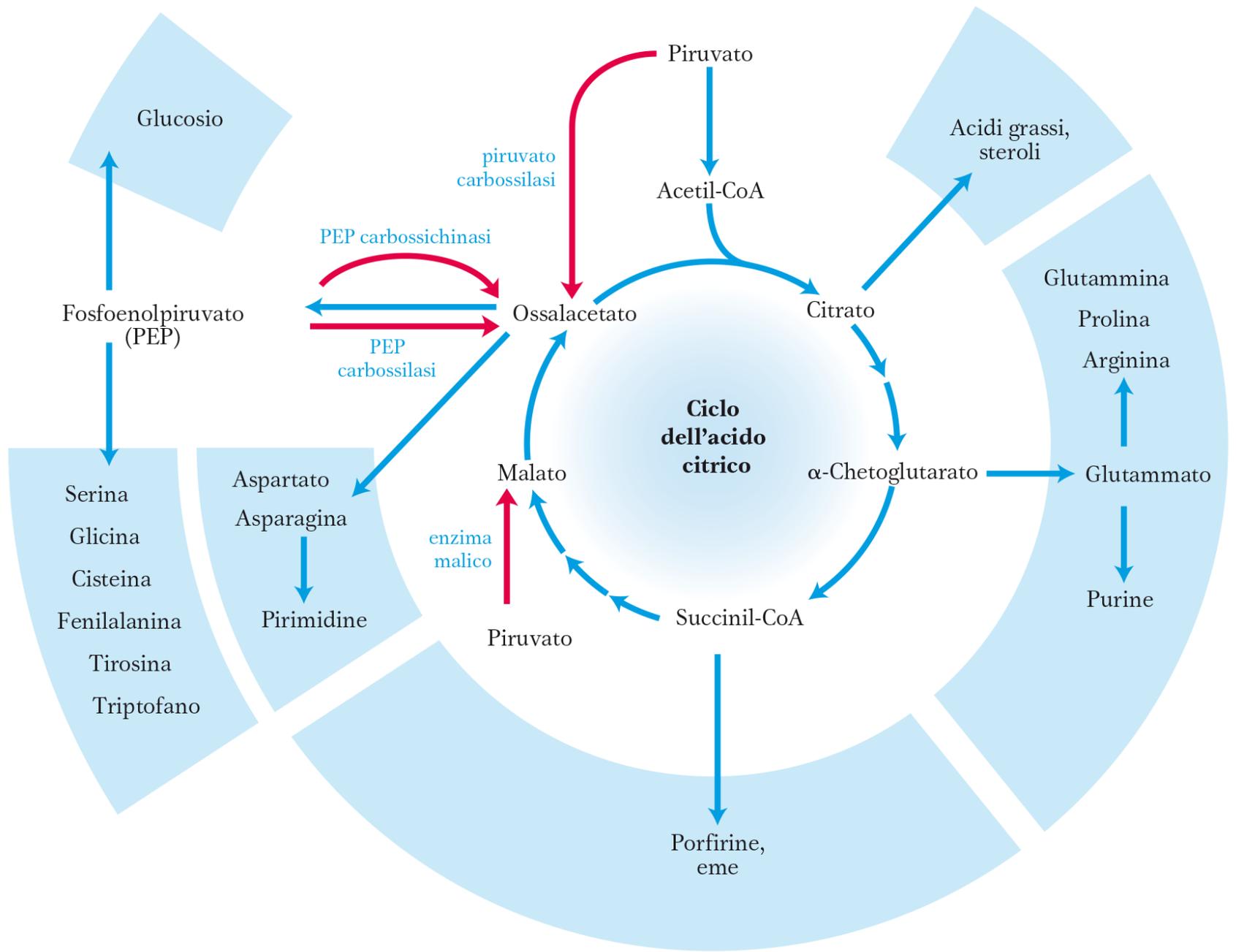
$[NADH]/[NAD^+]$

ATP/ADP



Il ciclo dell'acido citrico è una via anfibolica.

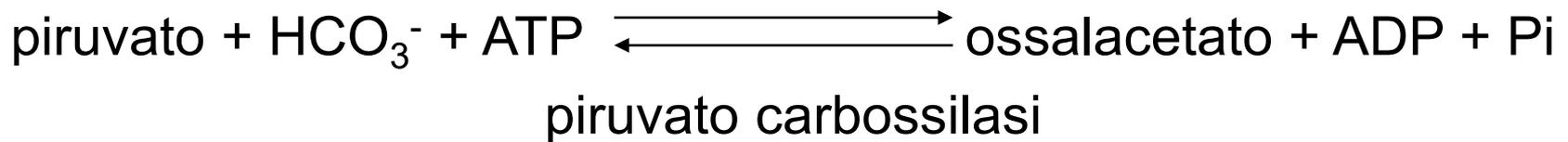
Significa che serve sia ai processi anabolici che a quelli catabolici. Produce precursori per molte vie biosintetiche. Mediante l'azione di altri enzimi, alcuni intermedi come α -chetoglutarato e ossalacetato, vengono sottratti al ciclo per essere utilizzati come precursori di amminoacidi (ad es per formare glutammato e aspartato mediante transamminazione). Vengono usati anche per sintetizzare altri amminoacidi. Il succinil-CoA è un intermedio della sintesi dell'anello porfirinico (eme).



Reazioni anaplerotiche

Le reazioni anaplerotiche riforniscono il ciclo di Krebs di intermedi. In condizioni normali, le reazioni che tolgono intermedi al ciclo di Krebs e quelle che li rimpiazzano sono in equilibrio dinamico. La concentrazione degli intermedi è costante nei mitocondri.

Una reazione importante è la carbossilazione reversibile del piruvato.



La piruvato carbossilasi è inattiva in assenza di acetil-CoA (suo modulatore allosterico +). Quando $[\text{Acetil-CoA}] \gg \text{PIR carbossilasi}$ viene attivata, viene prodotto più OA che reagisce con Acetil-CoA per formare citrato.

REAZIONI ANAPLEROTICHE

Table 15–3 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

Link al video sul ciclo di Krebs

<https://www.youtube.com/watch?v=JPCs5pn7UNI>