

Цикл Кребса

План лекції

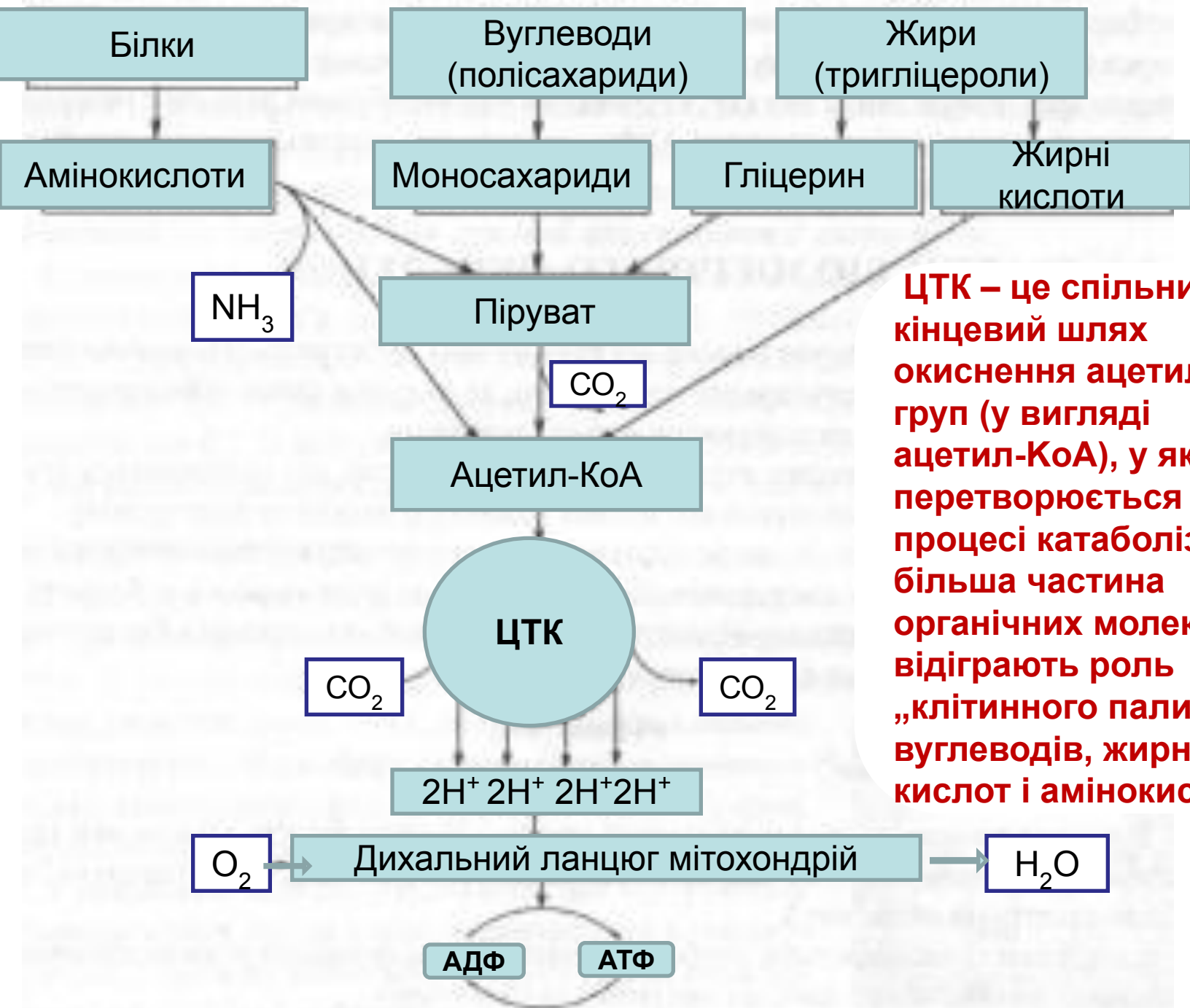
1. Цикл Кребса – центральний метаболічний шлях окиснення органічних молекул, що відіграють роль „клітинного палива”.
2. Хімізм реакцій циклу Кребса.
3. Регуляція швидкості ферментативних реакцій циклу трикарбонових кислот.



Ганс Адольф Кребс

Цикл трикарбонових кислот був відкритий біохіміком Г. Кребсом, який за це відкриття отримав у 1953 р. разом із Ф. Ліпманом Нобелівську премію. ЦТК належить провідна роль у проміжному метаболізмі клітини. Поряд із катаболічними і анаболічними цикл виконує і амфіболічні функції – він виступає тим центром, у якому сходяться практично всі метаболічні шляхи.





ЦТК – це спільний кінцевий шлях окиснення ацетильних груп (у вигляді ацетил-КоА), у які перетворюється в процесі катаболізму більша частина органічних молекул, що відіграють роль „клітинного палива” – вуглеводів, жирних кислот і амінокислот.



Hans Krebs
1900–1981

Ханс Адольф Кребс народився 25 серпня 1900 року в Хільдесхаймі (Німеччина), в родині отоларинголога Георга Кребса та Алми Кребс (Давидсон). В 1918 р. закінчив гімназію і в останні місяці першої світової війни він служив у полку зв'язку пруської армії. Потім Кребс вивчав медицину у Геттінгенському, Фрейбурзькому, Мюнхенському і Берлінському університетах і в 1925 р. отримав медичний диплом в Гамбургському університеті. Пізніше вивчав хімію в Інституті патології Берлінського університету, а потім у якості асистента – лаборанта почав працювати у Отто Варбурга в Інституті біології кайзера Вільгельма в Берліні. В 1930 р. Кребс знову зайнявся клінічною медициною і почав працювати асистентом в муніципальному госпіталі в Гамбургу і приват-доцентом у клініці Фрейбурзького університету. У цей час він продовжував біохімічні дослідження, використовуючи обладнання, подібне до установок Варбурга. У 1932 році він описав цикл утворення сечовини і розробив концепцію циклічності процесів у хімії живих систем, яка принесла йому всесвітнє визнання.



Hans Krebs
1900–1981

У 1933 р. до влади в Германії прийшов Гітлер і Кребс, єврей по національності, втратив свою посаду у Фрейбургському університеті. Але Рокфеллерівське дослідницьке товариство надало йому можливість займатися біохімією під керівництвом Фредеріка Гоуланда Хопкінса в Інституті біохімії Кембриджського університету у Великобританії. В 1933 р. Кребс прибув до Кембріджа не захопивши з собою « практично нічого, крім зітхання полегшення, кількох книжок та 16 упаковок склянок Варбурга».

Він почав працювати біохіміком-демонстратором, а у 1935 р. він вже був призначений викладачем фармакології Шеффілдського університету. В 1937 р., вивчаючи проміжні стадії обміну вуглеводів, він відкрив цикл трикарбонових кислот, який тепер називають циклом лимонної кислоти або циклом Кребса.

В Нобелівській лекції Кребс проаналізував більш широко значення своїх відкриттів. Він сказав: « Наявність одного і того ж механізму утворення енергії у всіх живих істот дозволяє зробити висновок про те, що, по-перше – цей механізм виник на дуже ранніх етапах еволюції, і, по-друге – життя у його теперішньому вигляді зародилось лише один раз».



Hans Krebs
1900–1981

Через рік після отримання Нобелівської премії Кребс був призначений на посаду професора біохімії Наффілдського відділу клінічної медицини Оксфордського університету.

Кребс був удостоєний дуже багатьох нагород серед яких : премія Ласкера Американської асоціації охорони здоров'я (1953), Королівська медаль (1954) і медаль Коплі (1961), медаль Королівського наукового товариства, а також золота медаль Королівського медичного товариства (1965). **В 1958 р. Кребсу королевою Єлизаветою II бул пожалуваний титул лорда.**

carbohydrate
metabolism

lipid (= fat)
metabolism

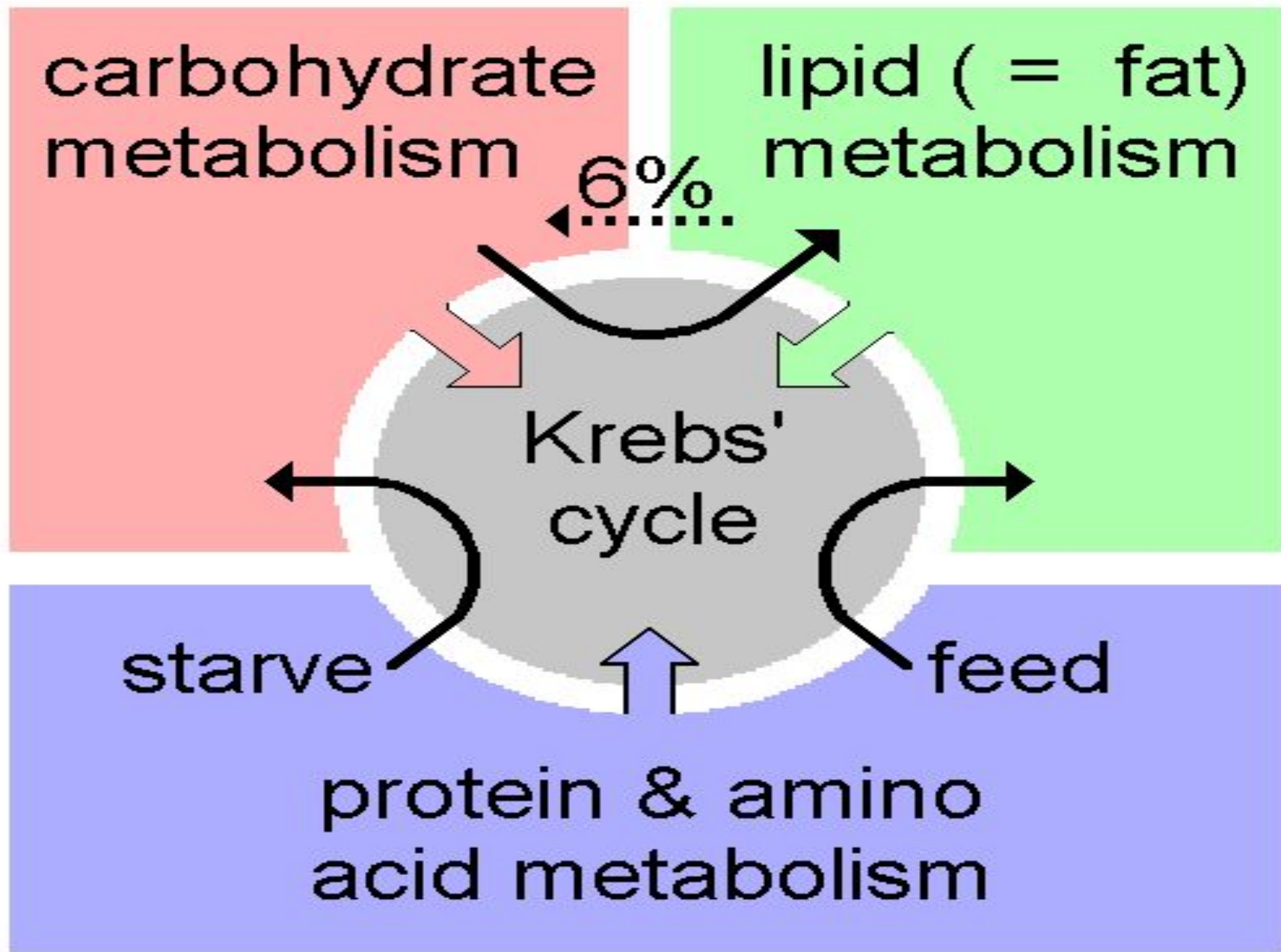
6%
.....

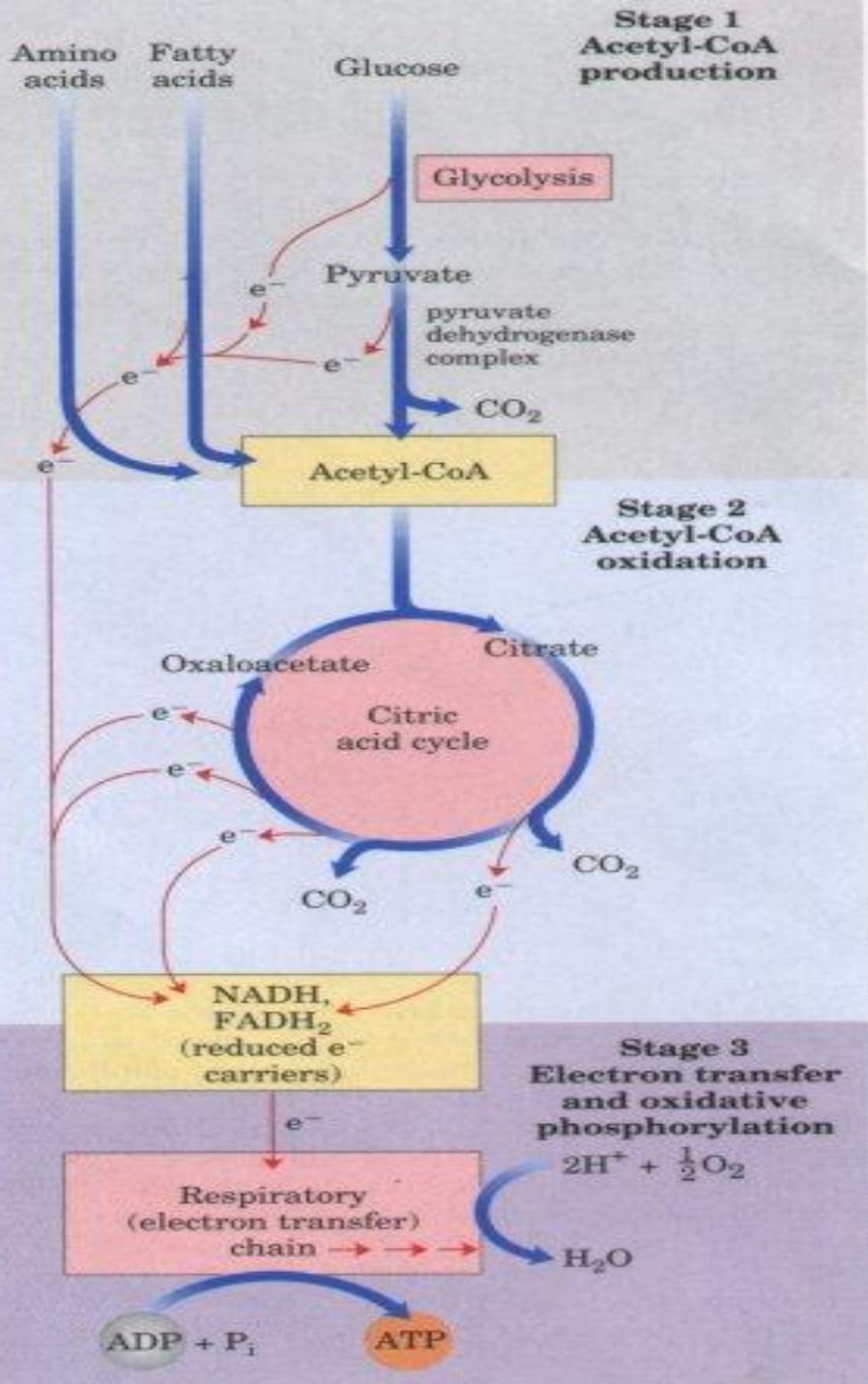
Krebs'
cycle

starve

feed

protein & amino
acid metabolism

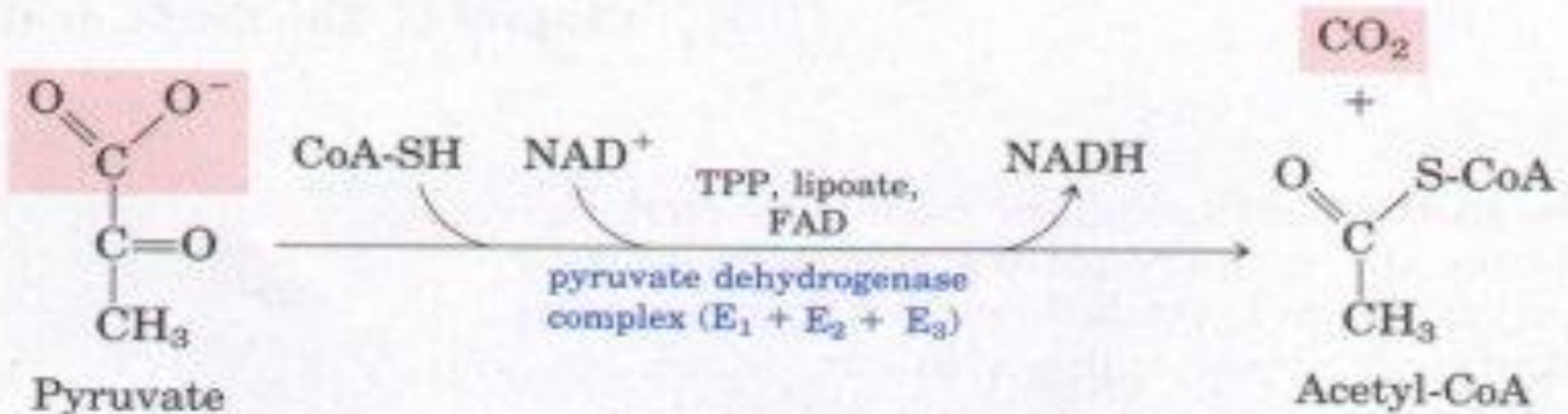




Катаболізм білків, жирів і вуглеводів веде до повного окиснення у клітинному диханні

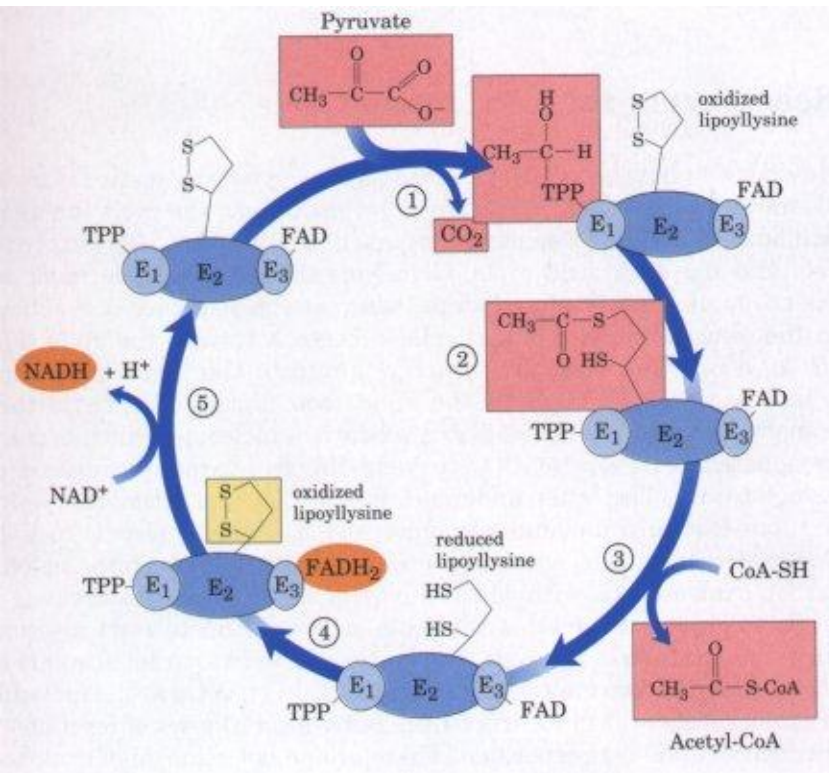
- Catabolism of proteins, fats, and carbohydrates occurs in the three stages of cellular respiration.
- Stage 1: Oxidation of fatty acids, glucose, and some amino acids yields acetyl-CoA.
- Stage 2: Oxidation of acetyl groups via the citric acid cycle includes four steps in which electrons are abstracted.
- Stage 3: Electrons carried by NADH and $FADH_2$ are funneled into a chain of mitochondrial (or plasma membrane-bound, in bacteria) electron carriers—the respiratory chain—ultimately reducing O_2 to H_2O . This electron flow drives the synthesis of ATP, in the process of oxidative phosphorylation.

- В аеробних умовах утворений при гліколітичному розщепленні глюкози (глікогену) піруват не відновлюється до лактату, а поступово повністю окиснюється до CO_2 і H_2O . При цьому спочатку відбувається окиснювальне декарбоксилювання пірувату з утворенням ацетил-КоА.
- Окиснення пірувату до ацетил-КоА відбувається в матриці мітохондрій за участю низки ферментів і коферментів, об'єднаних структурно в мультиензимну систему, яка отримала назву **піруватдегідрогеназний комплекс (ПДГК)**. До складу ПДГК входять три ферменти (піруватдегідрогеназа, дигідроліпоїлацетилтрансфераза, дигідроліпоїлдегідрогеназа) і п'ять коферментів (тіамінпірофосфат, амід ліпоєвої кислоти, коензим А, ФАД, НАД+).



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

Окислювальне декарбоксилювання пірувату



E1, піруватдегідрогеназа;

E2, дигідроліпоїлацетилтрансфераза;

E3, дигідроліпоїлдегідрогеназа

- **На I стадії** цього процесу піруват втрачає свою карбоксильну групу в результаті взаємодії з тіамінпірофосфатом (ТПФ) у складі активного центру фермента піруватдегідрогенази (E1).
- **На II стадії** оксиетильна група комплексу E1–ТПФ–СНОН–СН₃ окиснюється з утворенням ацетильної групи, яка одночасно переноситься на амід ліпоєвої кислоти (кофермент), зв'язаної з ферментом дигідроліпоїлацетилтрансферазою (E2).

Цей фермент каталізує **III стадію** – перенос ацетильної групи на коензим - А (HS-КоА) з утворенням кінцевого продукту ацетил-КоА, є високоенергетичною сполукою.

На IV стадії регенерується окиснена форма ліпоаміду з відновленого комплексу дигідроліпоамід–E2. За участю фермента дигідроліпоїлдегідрогенази (E3) здійснюється перенос атомів Гідрогену від відновлених сульфгідрильних груп дигідроліпоаміду на ФАД, який виконує роль простетичної групи даного ферменту і міцно з ним зв'язаний.

- **На V стадії** відновлений ФАДН₂ дигідроліпоїлдегідрогенази передає Гідроген на кофермент НАД з утворенням НАДН + Н⁺.

Піруватдегідрогеназний КОМПЛЕКС

Сумарно реакцію, яка каталізується піруватдегідрогеназним комплексом, можна представити так:



Реакція супроводжується значним зменшенням стандартної вільної енергії та є практично необоротною.

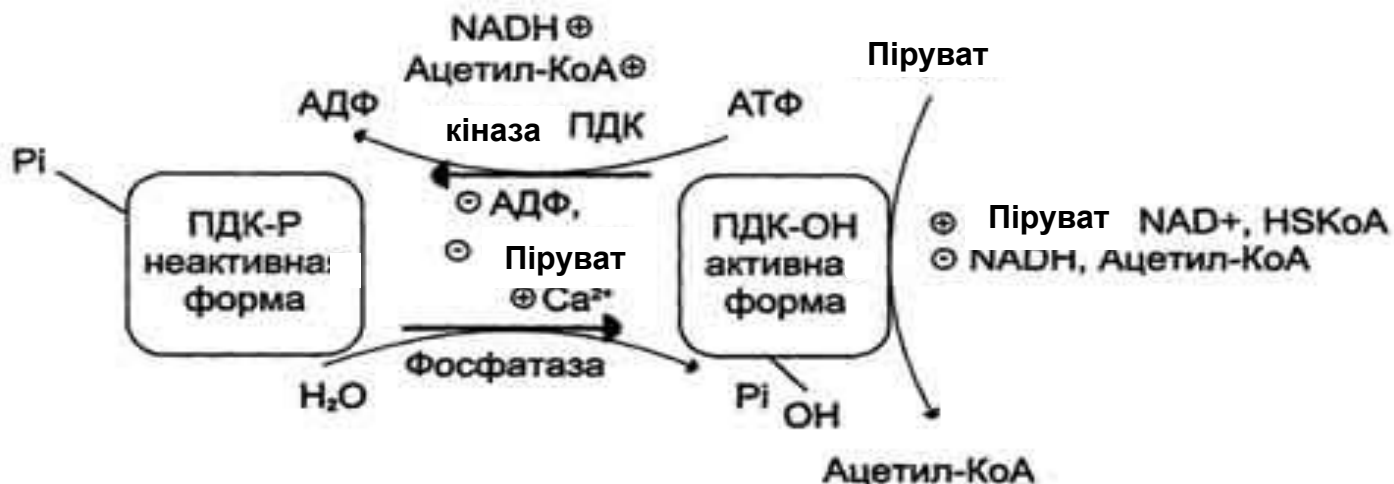
Утворений ацетил-CoA піддається подальшому окисненню у мітохондріях в циклі трикарбонних кислот.

Регуляція активності піруватдегідрогеназного комплексу

Регульованим ферментом ПВК-дегідрогеназного комплексу є перший фермент – **піруватдегідрогеназа** (E_1). Два допоміжних ферменти – **кіназа** та **фосфатаза** забезпечують регуляцію активності піруватдегідрогенази шляхом її **фосфорилування** і **дефосфорилування**.

Допоміжний фермент **кіназа** активується при надлишку кінцевого продукту біологічного окиснення **АТФ** і продуктів ПВК-дегідрогеназного комплексу – **НАДН** і **ацетил-S-CoA**. Активна кіназа фосфорилує піруватдегідрогеназу, інактивуючи її, в результаті перша реакція процесу зупиняється.

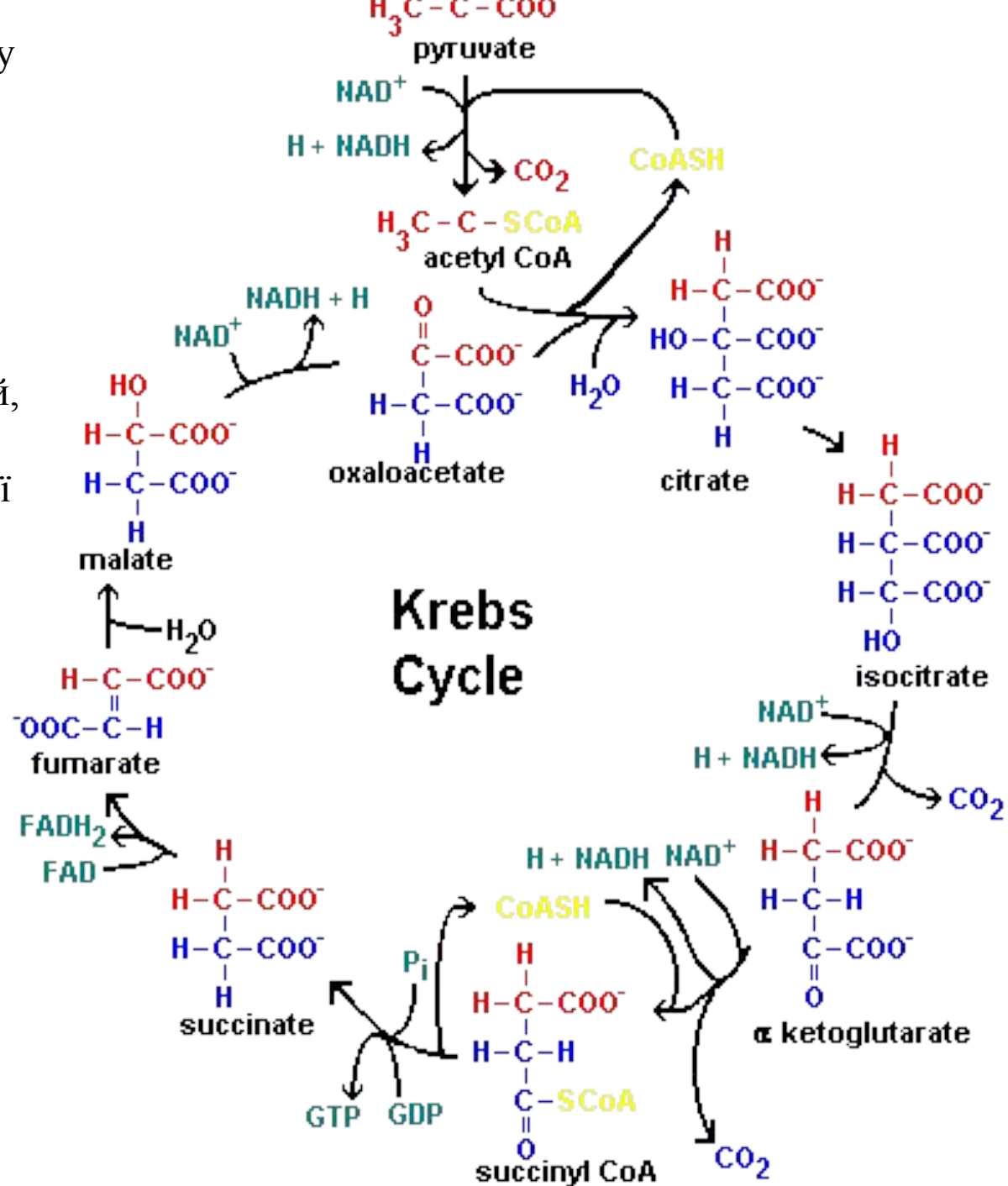
Фермент **фосфатаза**, активуючись іонами **кальцію** та **інсуліном**, відщеплює фосфат і активує піруватдегідрогеназу.



Таким чином, робота піруватдегідрогенази пригнічується при **надлишку** в мітохондрії (в клітині) **АТФ** і **НАДН**, що дозволяє знизити окиснення пірувату і, відповідно, глюкози у випадку, коли енергії достатньо.

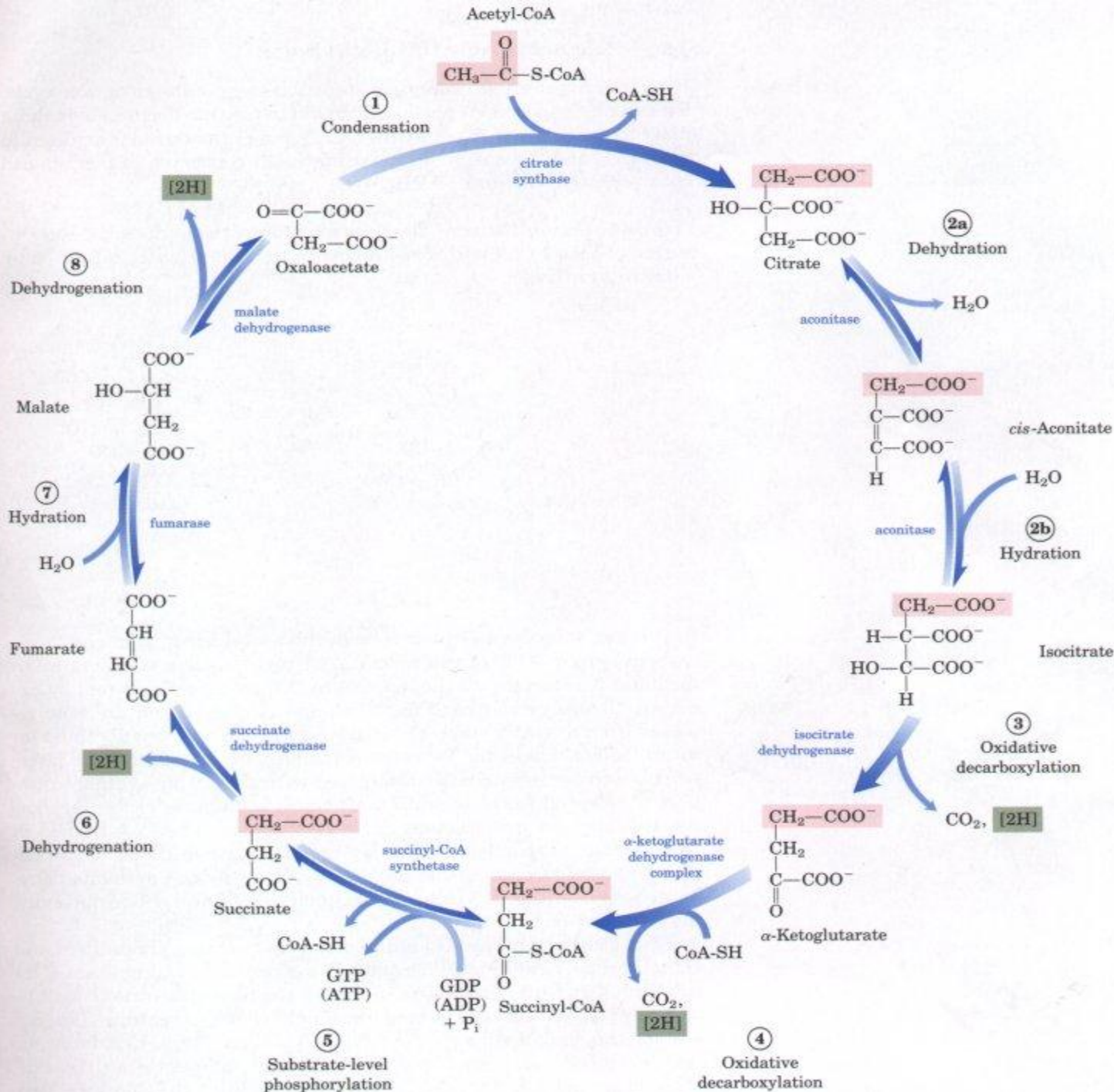
Якщо **АТФ мало** або є вплив інсуліну, то утворюється ацетил-S-CoA. Останній в залежності від умов буде направлятися або у ЦТК з утворенням енергії АТФ, або на синтез холестерину і жирних кислот.

Для прямого окиснення ацетату до двох молекул CO_2 необхідні дуже жорсткі умови, зовсім не схожі на ті, що існують у клітинах. Тому в процесі еволюції живі клітини пристосувалися використовувати хоч і обхідний, але більш легкий шлях, який не вимагає такої високої енергії активації. Клітини набули здатності приєднувати ацетат до іншої сполуки — **щавлевооцтової кислоти** (оксалоацетат) і одержувати таким чином продукт — **лимонну кислоту** (цитрат), яка значно легше, ніж сам ацетат, дегідрується та декарбоксилюється.

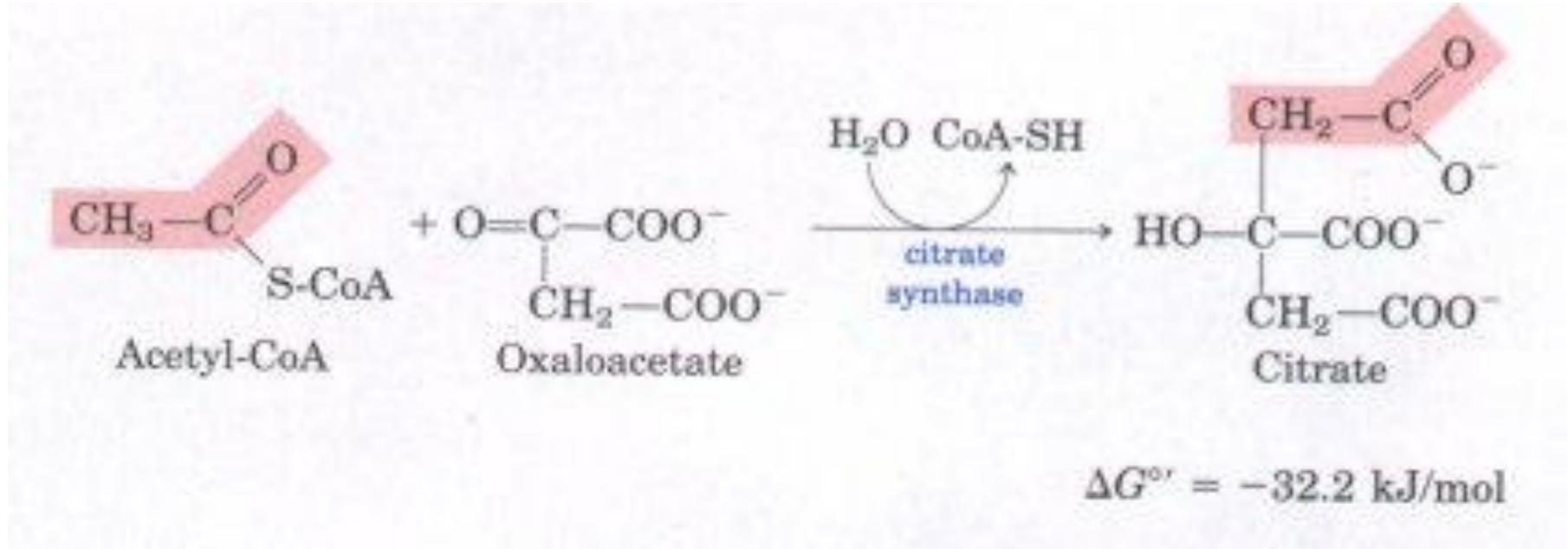


Цикл Кребса

Садії 1,3 та 4 є
необоротними.
Всі інші – оборотні.

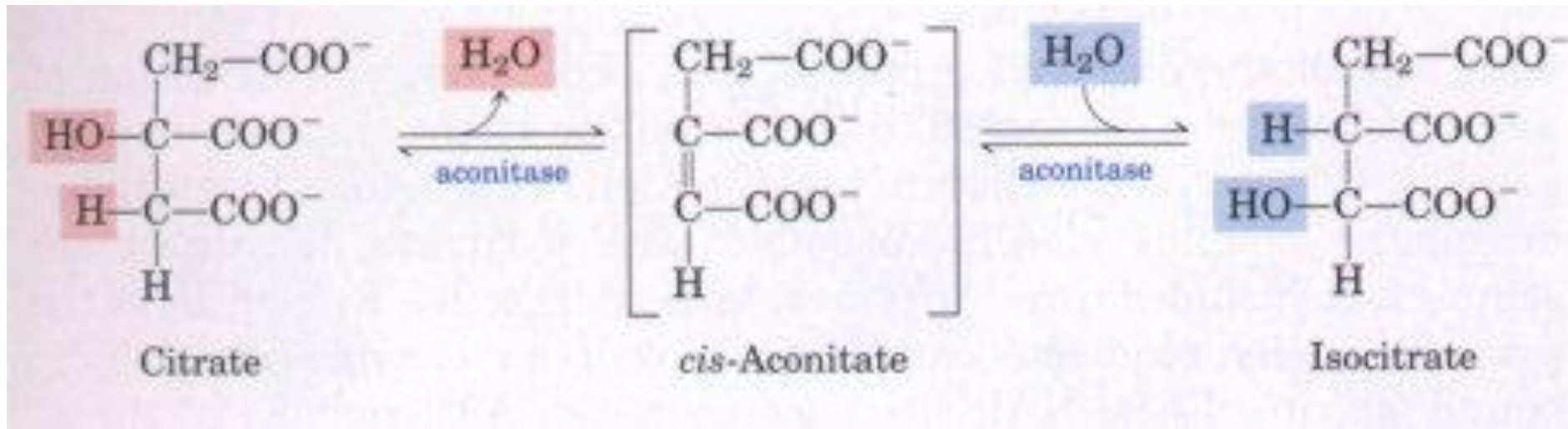


(1) Утворення лимонної кислоти



Утворення лимонної кислоти (цитрату) відбувається за рахунок конденсації ацетил-КоА з щавлевоцтовою кислотою (оксалоацетатом). Реакція каталізується ферментом **цитратсинтазою**. Цей фермент є регуляторним. Його активність інгібується АТФ, НАДН(H^+), сукциніл-КоА та довголанцюговими ацил-КоА. У даній реакції у якості проміжного продукту утворюється зв'язаний з ферментом цитрил-КоА. Потім ця сполука самовільно і необоротньо гідролізується з утворенням цитрату і S-КоА.

(2) Перетворення (ізомеризація) цитрату на ізоцитрат



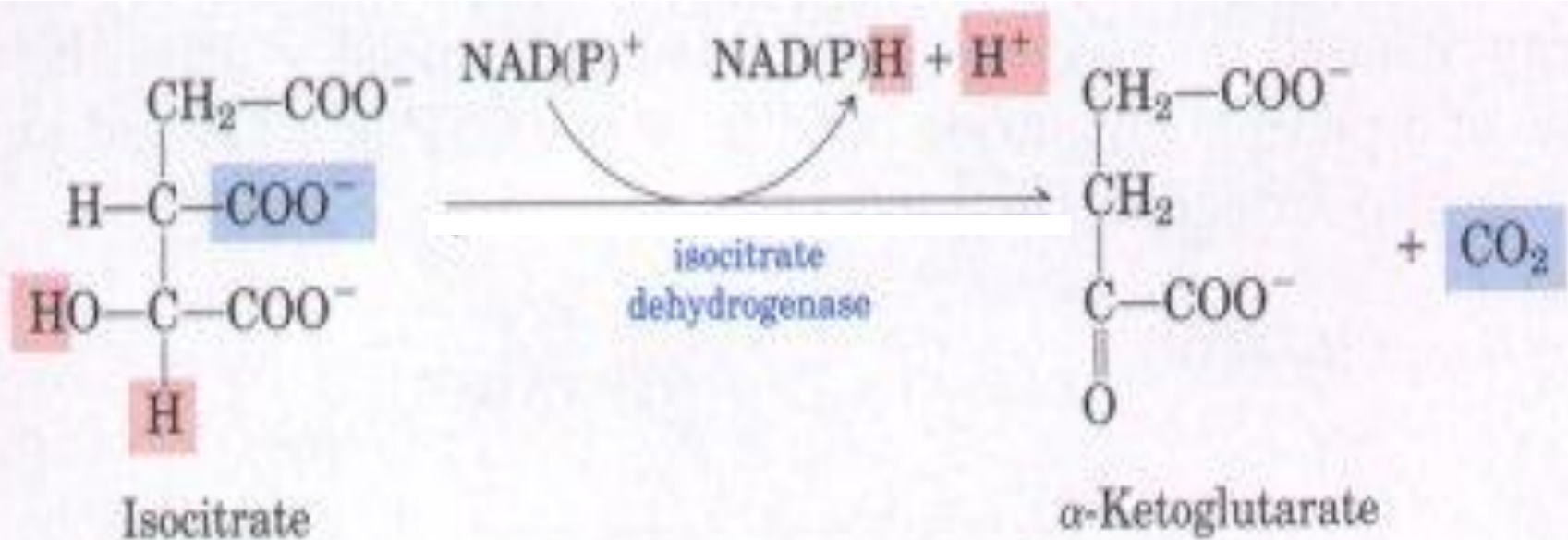
У результаті цієї реакції відбувається взаємопереміщення H і OH у молекулі цитрату.

Реакція каталізується ферментом **аконітазою** та складається з двох етапів:

- дегідратація лимонної кислоти з утворенням цис-аконітової кислоти - цисаконітату;
- приєднання до цис-аконітату молекули води. При приєднанні по подвійному

зв'язку у складі цис-аконітату H^+ та OH^- у транс-положенні утворюється ізолимонна кислота (ізоцитрат).

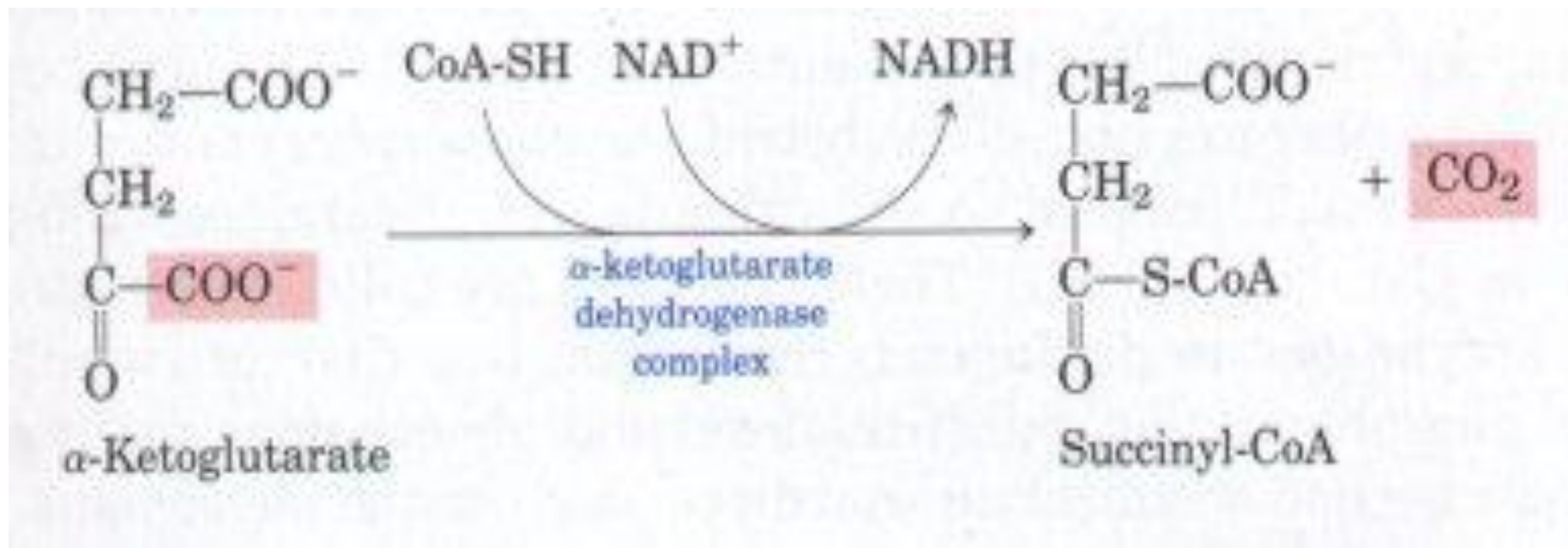
(3) Дегідрування та декарбоксилювання ізоцитрату



Третя реакція, імовірно, лімітує швидкість циклу Кребса.

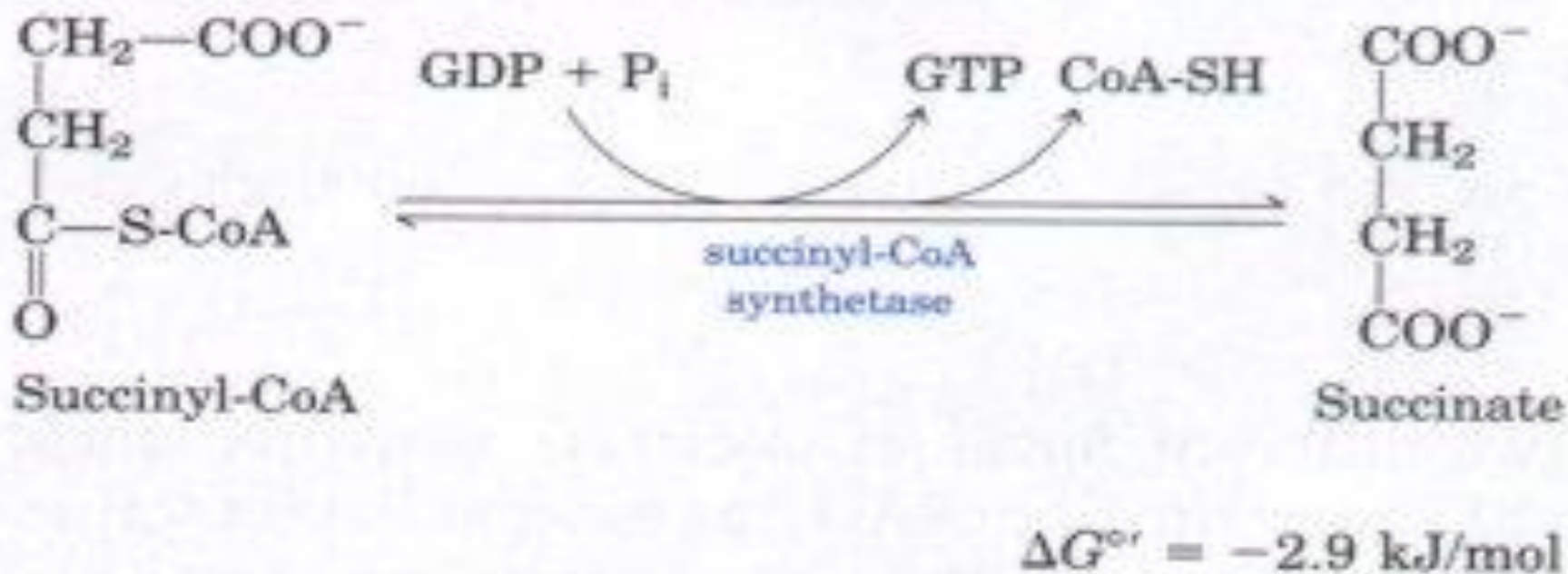
Реакція каталізується НАД-залежною **ізоцитратдегідрогеназою** і призводить до утворення α-кетоглутарової кислоти (α-кетоглутарату). Ізолимонна кислота дегідрується і одночасно декарбоксилюється. НАД-залежна ізоцитратдегідрогеназа є регуляторним ферментом, позитивний модулятор якого – АДФ, а негативний – НАДН(Н⁺). Крім того, фермент для виявлення своєї активності вимагає наявності іонів Mg²⁺ або Mn²⁺.

(4) Окиснення α -кетоглутарату до сукциніл-КоА та CO_2



Під час четвертої реакції відбувається окиснювальне декарбоксілювання α -кетоглутарової кислоти з утворенням високоенергетичної сполуки сукциніл-КоА. Механізм цієї реакції подібний до такого у реакції окиснювального декарбоксілювання пірувату до ацетил-КоА. α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс нагадує за своєю структурою піруватдегідрогеназний комплекс. В обох випадках у реакції беруть участь 5 коферментів: ТПФ, амід ліпоевої кислоти, HS-КоА, ФАД і НАД⁺.

(5) Перетворення сукциніл-КоА до сукцинату (реакція субстратного фосфорилування)



П'ята реакція каталізується ферментом **сукциніл-КоА-синтетазою**. У ході цієї реакції сукциніл-КоА за участю ГДФ і неорганічного фосфату перетворюється на янтарну кислоту (сукцинат). Одночасно відбувається утворення високоенергійного фосфатного зв'язку ГТФ за рахунок високоенергійного тіоефірного зв'язку сукциніл-КоА.

(5) Перетворення сукциніл-КоА до сукцинату (реакція субстратного фосфорилування)



На першому етапі фосфатна група заміщає КоА у зв'язаному з ферментом сукциніл-КоА, формуючи високоенергетичну ацилфосфатну сполуку.

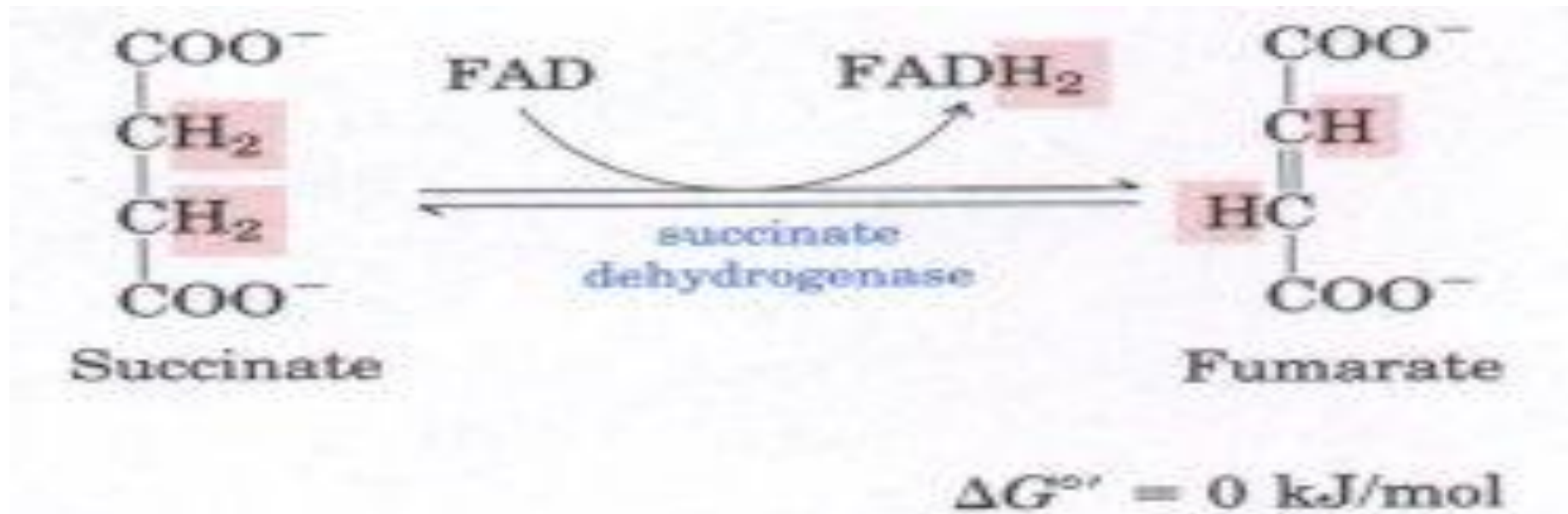
На другому етапі сукцинілфосфат виступає донором фосфатної групи для залишку гістидину у складі білкової частини ферменту, формуючи при цьому високоенергетичний фосфогістидилензим.

І лише **на третьому етапі** фосфатна група переноситься на ГДФ, утворюючи ГТФ.

ГТФ передає свою фосфатну групу на АДФ у нуклеозидфосфокіназній реакції з утворенням АТФ:

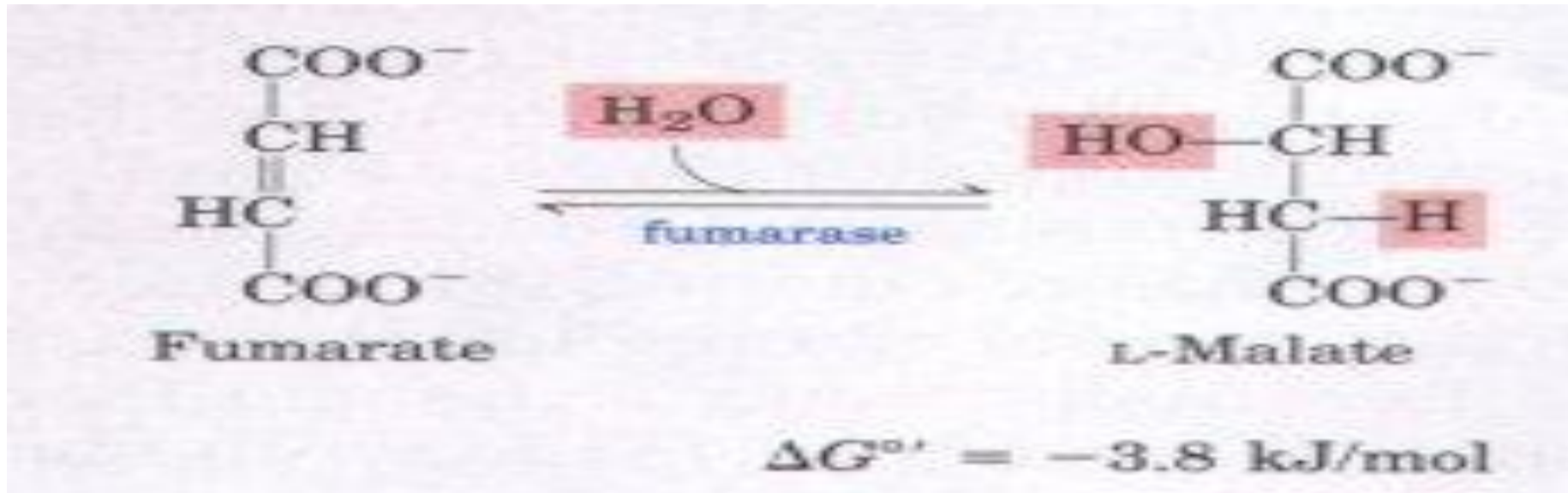
ГТФ + АДФ → ГДФ + АТФ

(6) Окиснення сукцинату до фумарової кислоти



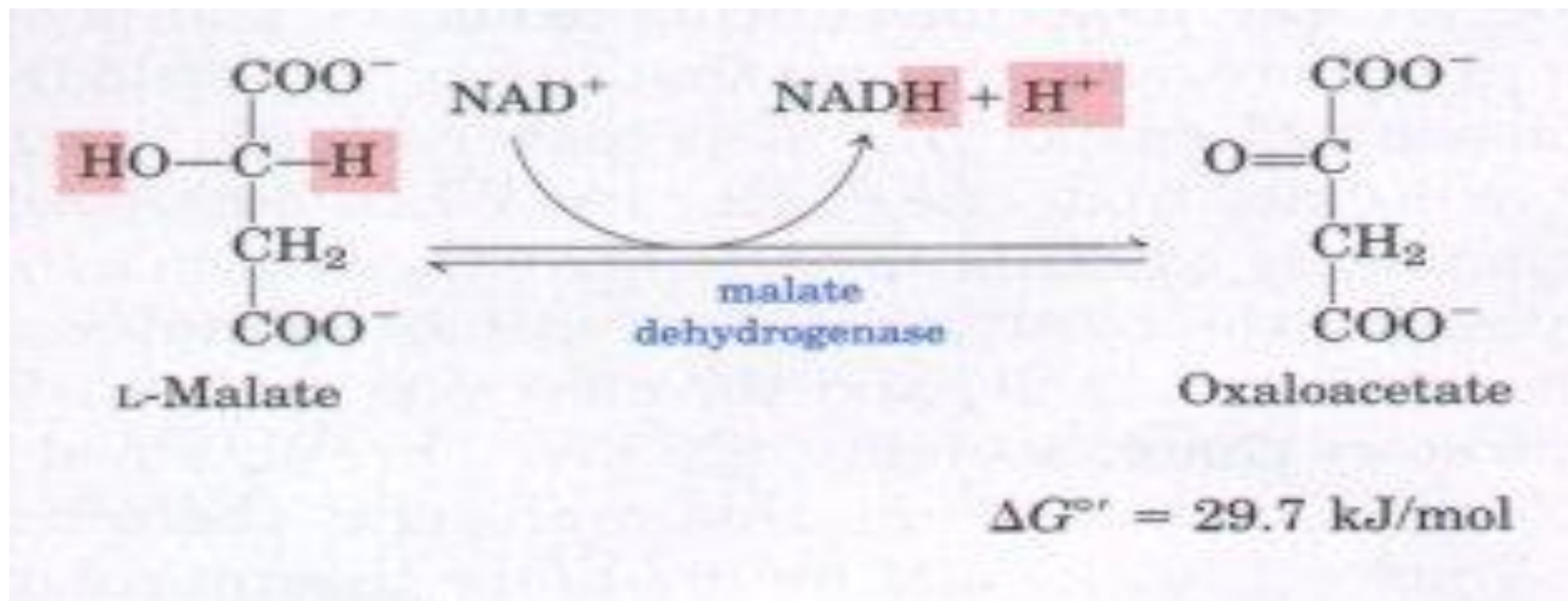
- Реакція каталізується ФАД-залежним ферментом **сукцинатдегідрогеназою**. У результаті шостої реакції сукцинат дегідується в фумарову кислоту. Окислення сукцинату каталізується ферментом, в молекулі якого з білком ковалентно зв'язаний кофермент - ФАД. В свою чергу сукцинатдегідрогеназа міцно зв'язана з внутрішньою мітохондріальною мембраною.

(7) Гідратація фумарової кислоти до яблучної

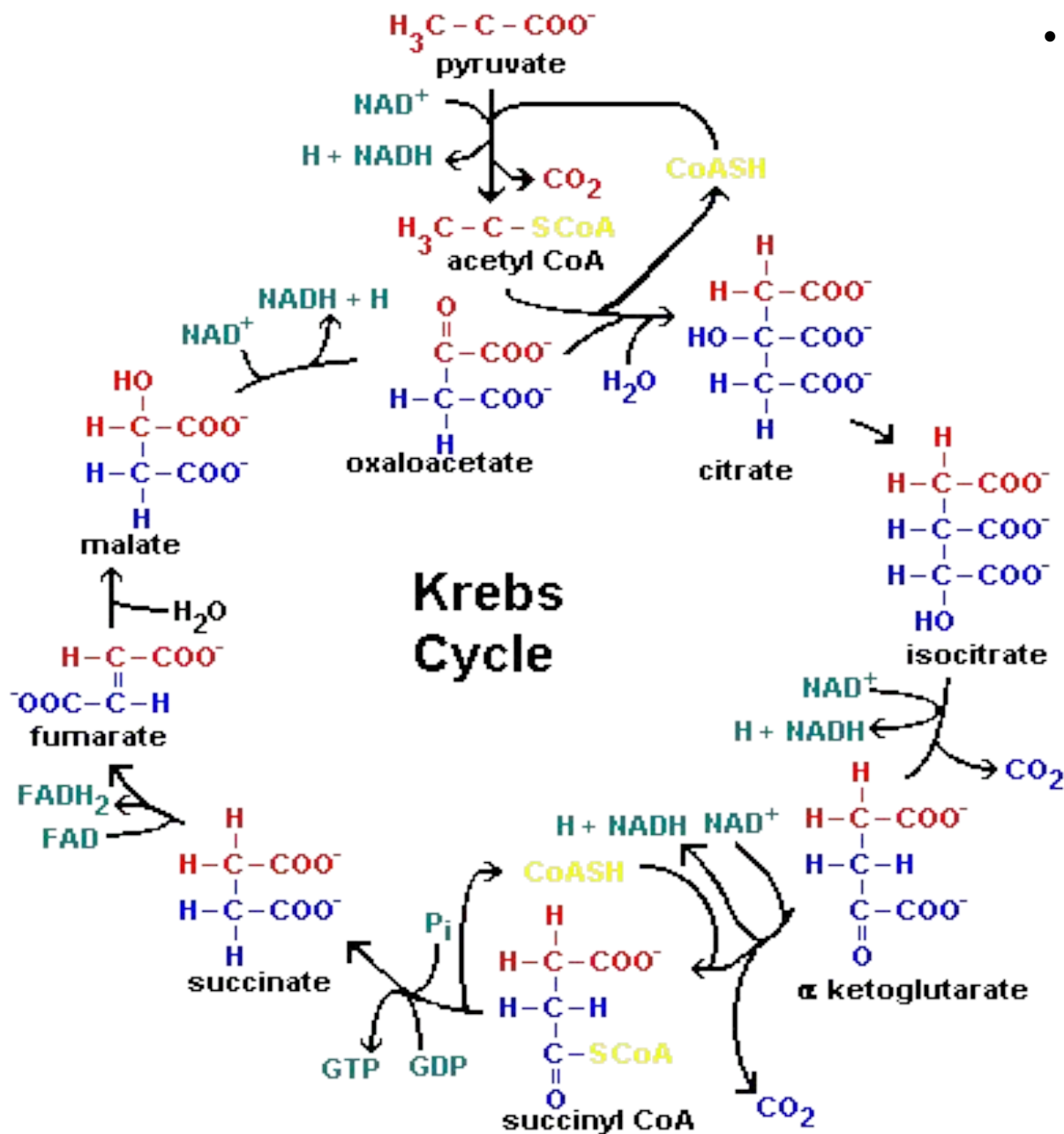


Реакція каталізується **фумаратгідратазою** (фумаразою). При цьому фумарова кислота гідратується, продуктом реакції є яблучная кислота (малат). Важливим є те, для фумаратгідратази притаманною є стереоспецифічність – в ході реакції утворюється L-яблучная кислота.

(8) Окиснення яблучної кислоти до оксалоацетату

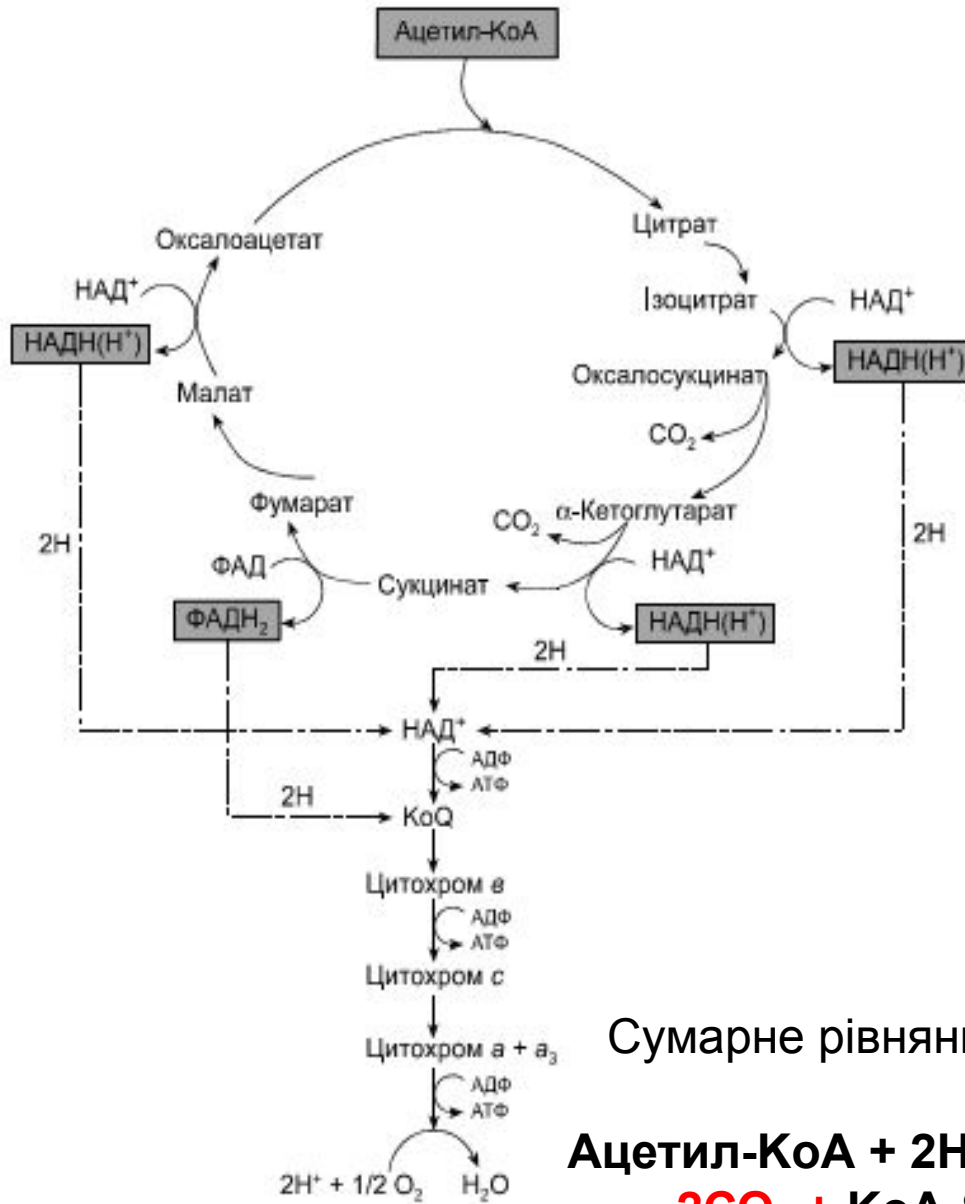


Реакція каталізується НАД-залежним ферментом – **малатдегідрогеназою** мітохондрій.

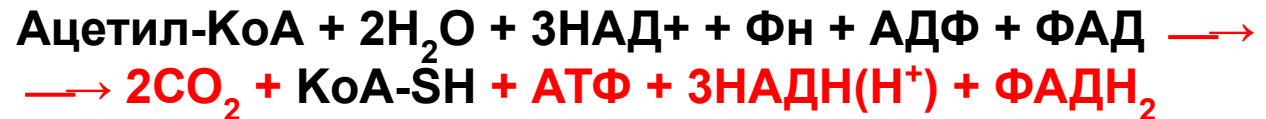


- За один оберт циклу, який складається із восьми послідовних ферментативних реакцій, відбувається повне окиснення однієї молекули ацетил-КоА. Для безперервної роботи циклу необхідним є постійне поступання у систему ацетил-КоА, а коферменти (NAD^+ і ФАД), які перейшли у відновлений стан, повинні знову і знову окиснюватися. Це окиснення здійснюється у системі переносників електронів у дихальному ланцюгу (в ланцюгу дихальних ензимів), який локалізується у мембранах мітохондрій.

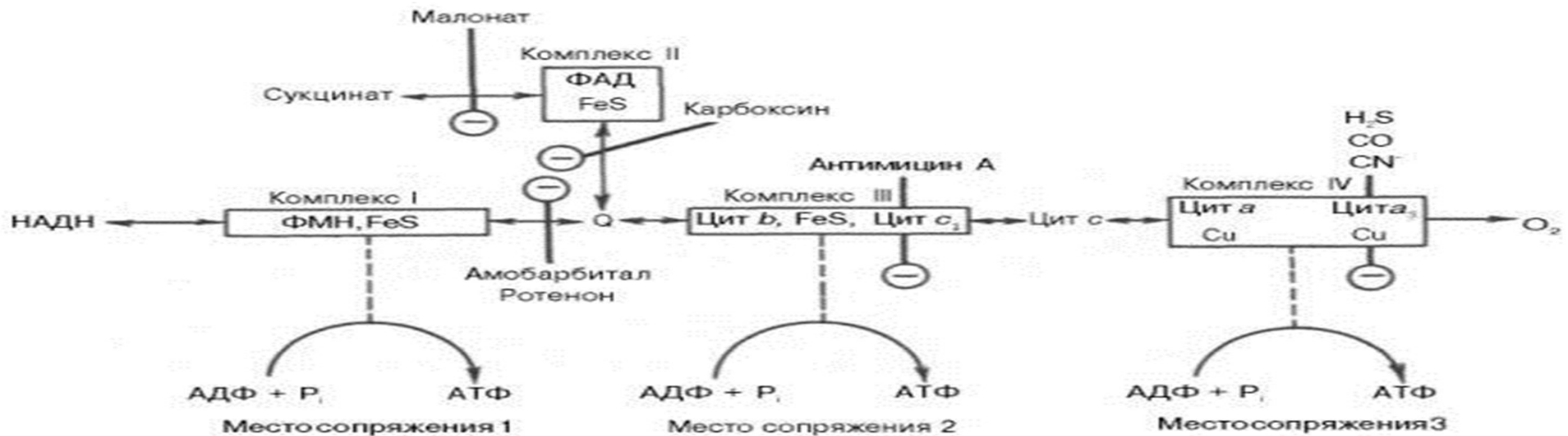
Метаболічна карта циклу трикарбонових кислот і зв'язок ЦТК із дихальним ланцюгом



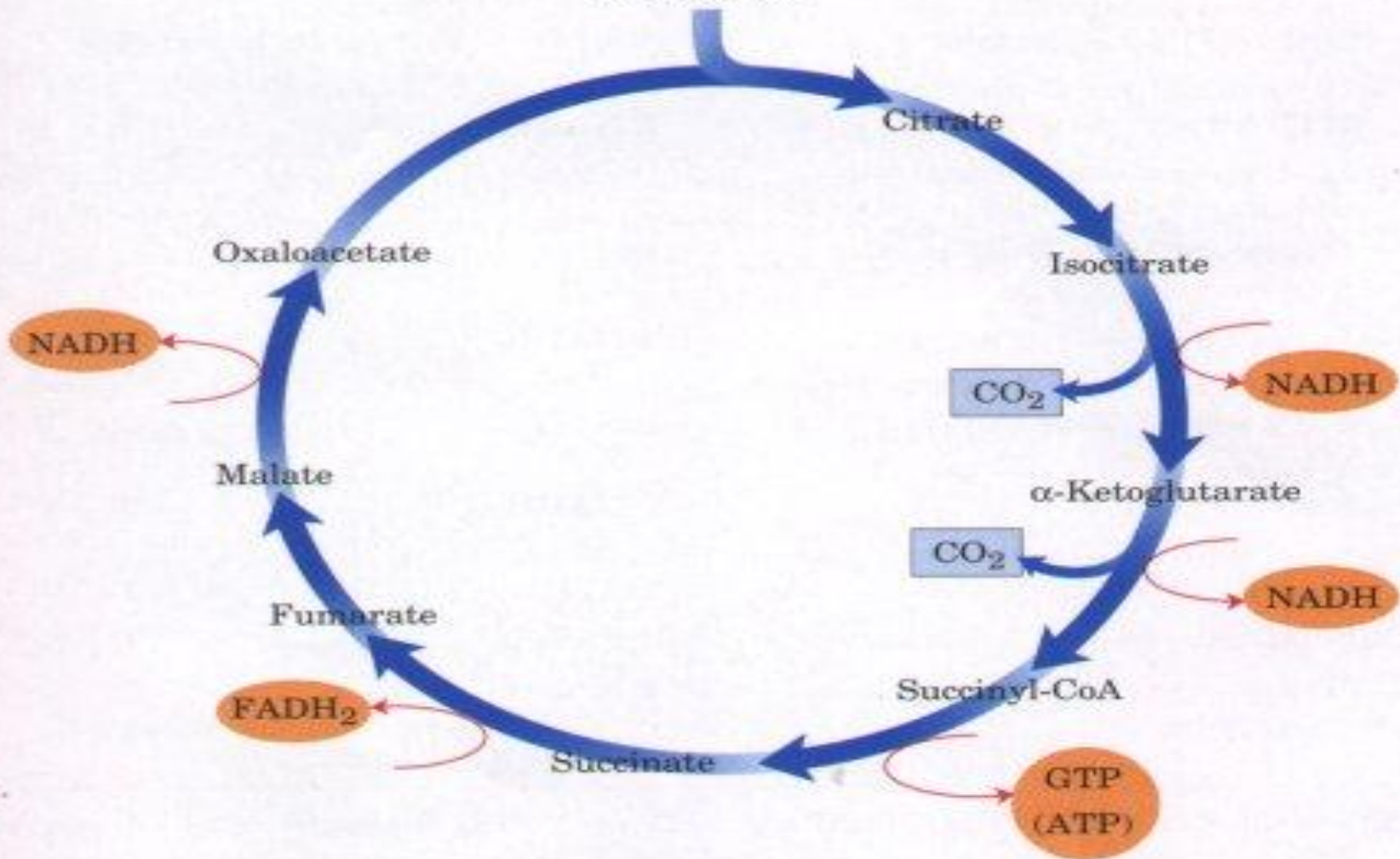
Сумарне рівняння перетворення ацетил-КоА у ЦТК:



- Вивільнена у результаті окиснення ацетил-КоА енергія в значній мірі зосереджується в макроергічних фосфатних зв'язках АТФ. З 4 пар атомів Гідрогену 3 пари переносять НАДН на систему транспорту електронів; при цьому у розрахунку на кожну пару у системі біологічного окиснення утворюється 3 молекули АТФ (в процесі спряженого окиснювального фосфорилування), а всього, відповідно, 9 молекул АТФ. Одна пара атомів від ФАДН₂ потрапляє в систему транспорту електронів через КоQ, в результаті чого утворюється лише 2 молекули АТФ. В ході циклу Кребса синтезується також одна молекула ГТФ (субстратне фосфорилування), що прирівнюється до однієї молекули АТФ. Отже, при окисненні однієї молекули ацетил-КоА в циклі Кребса і системі окиснювального фосфорилування може утворитися 12 молекул АТФ.



Acetyl-CoA



3 ATP per NADH and 2 ATP per FADH₂

(12 ATP)

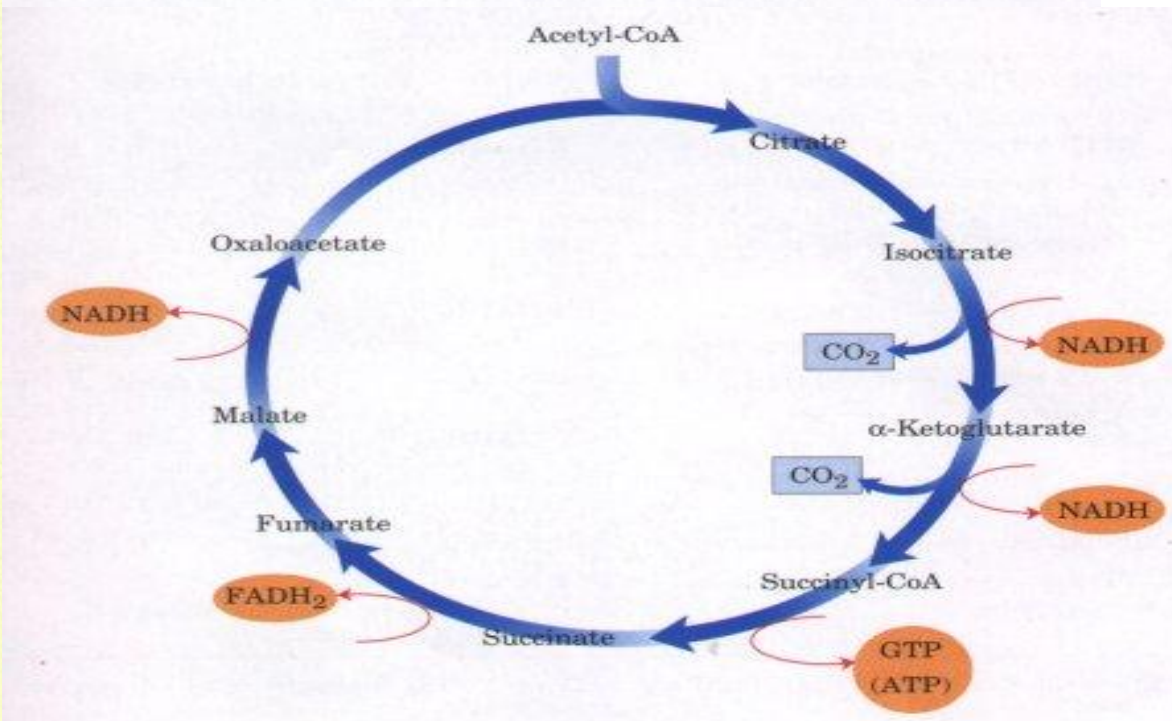
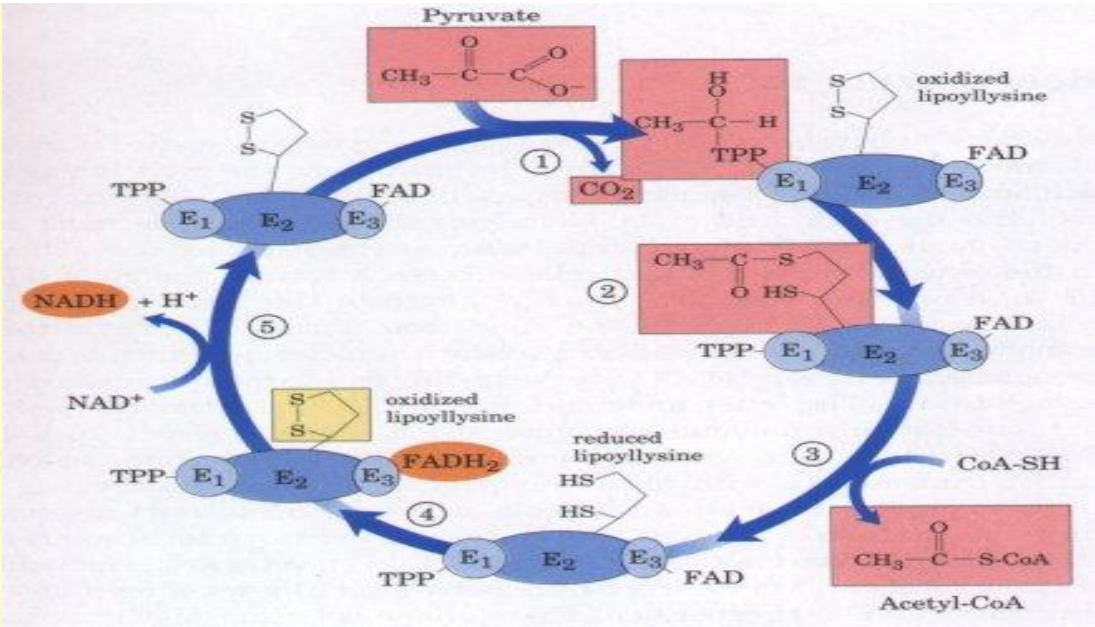
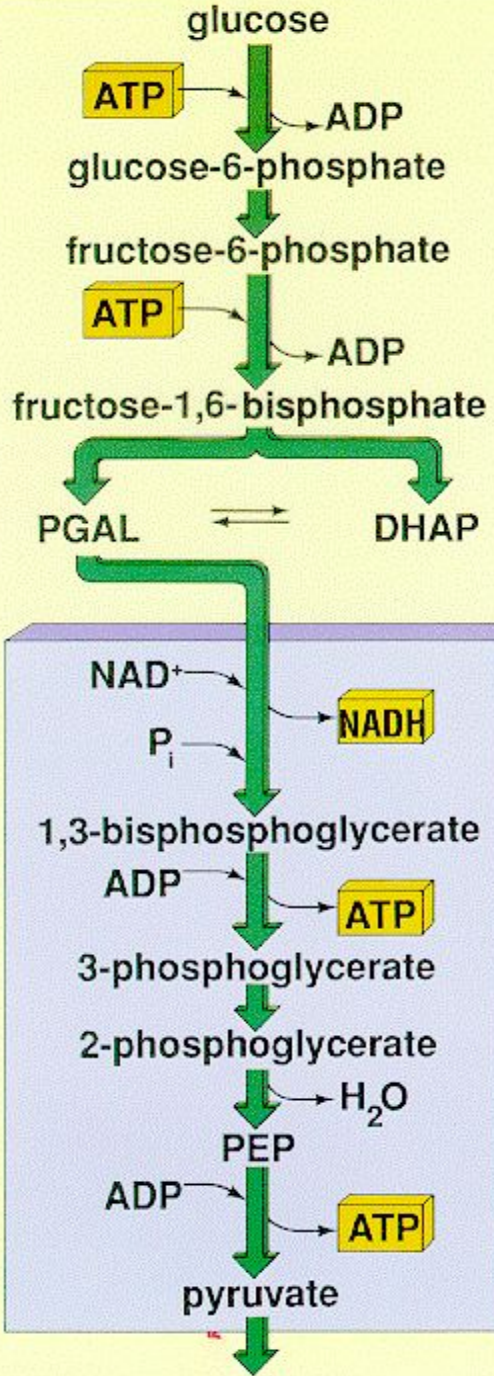
Якщо підрахувати повний енергетичний ефект гліколітичного розщеплення глюкози та наступного окиснення двох утворених молекул пірувату до CO_2 і H_2O , то він виявиться значно більшим.

Як було вже відмічено, одна молекула НАДН(H^+) (3 молекули АТФ) утворюється при окиснювальному декарбоксилюванні пірувату в ацетил-КоА. **(12+3=15 АТФ -** отже, окиснення молекули пірувату до CO_2 і H_2O дає 15 молекул АТФ).

При розщепленні однієї молекули глюкози утворюються 2 молекули пірувату, а при їхньому окисненні до 2 молекул ацетил-КоА і в результаті наступних 2-ох обертів циклу трикарбонових кислот синтезується **30 молекул АТФ**. До цієї кількості необхідно додати **2 молекули АТФ**, які утворюються при аеробному гліколізі, і **6 молекул АТФ**, які синтезуються за рахунок окиснення 2 молекул позамітохондріального НАДН(H^+), які утворюються при окисненні 2 молекул гліцеральдегід-3-фосфату у дегідрогеназній реакції гліколізу. Отже, при розщепленні у тканинах однієї молекули глюкози за рівнянням



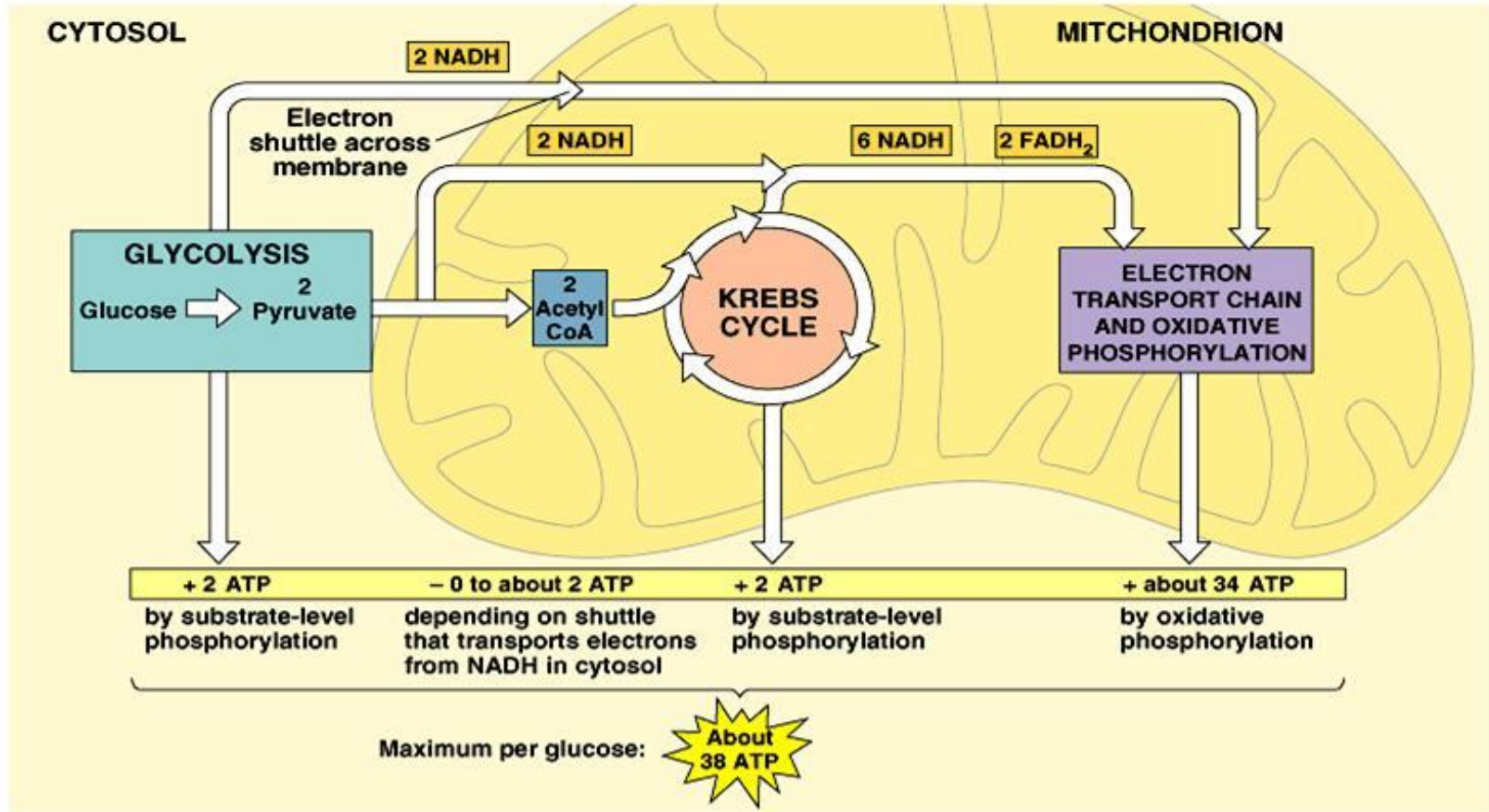
синтезується **38 молекул АТФ**. Без сумніву, в енергетичному сенсі повне розщеплення глюкози є ефективнішим процесом, ніж анаеробний гліколіз.



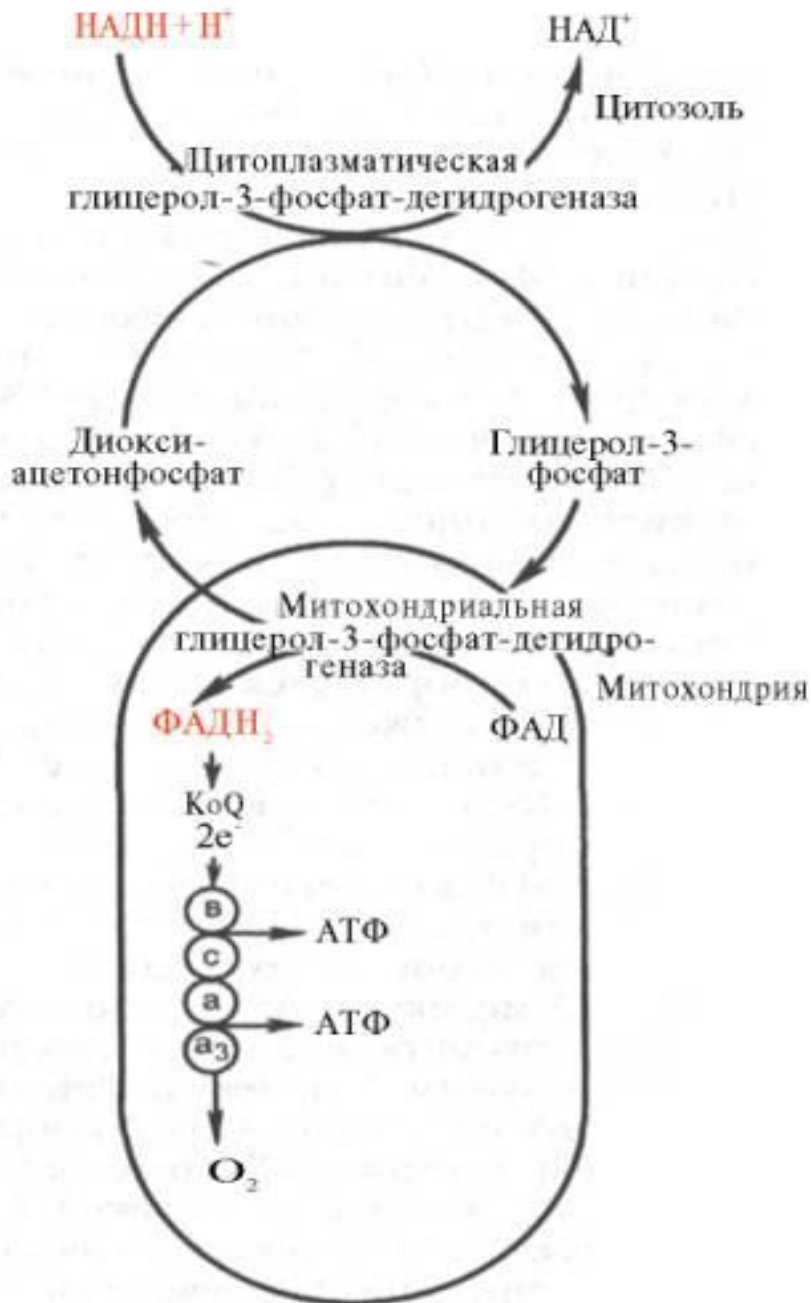
Енергетичний баланс при повному окисненні глюкози

Послідовність реакцій	Баланс АТФ
I. Гліколіз: перетворення глюкози у піруват (у цитозолі) <ul style="list-style-type: none"> • Фосфорилування глюкози; • Фосфорилування фруктозо-6-фосфату; • Дефосфорилування 2 молекул гліцероїл-3-фосфату; • Дефосфорилування 2 молекул фосфоенолпірувату; • Утворення 2 молекул НАДН(H^+) при окисненні 2 молекул гліцеральдегід-3-фосфату. 	<p>-1</p> <p>-1</p> <p>+2</p> <p>+2</p>
II. Перетворення пірувату в ацетил-КоА (у мітохондріях) <ul style="list-style-type: none"> • Утворення 2 молекул НАДН(H^+) в процесі окиснювального декарбоксилування пірувату. 	
III. ЦТК (у мітохондріях) <ul style="list-style-type: none"> • Утворення 2 молекул ГТФ із 2 молекул сукциніл-КоА; • Утворення 6 молекул НАДН(H^+) при окисненні 2 молекул ізоцитрату, α-кетоглутарату і малату; • Утворення 2 молекул ФАДН₂ при окисненні 2 молекул сукцинату. 	<p>+2</p>
IV. Окиснювальне фосфорилування (у мітохондріях) <ul style="list-style-type: none"> • В результаті перетворення глюкози на I, II та III етапах утворюється 10 молекул НАДН(H^+), кожна з яких дає по 3 молекули АТФ; • 2 молекули ФАДН₂, що утворилися в ЦТК дають по 2 молекули АТФ кожна. 	<p>+30</p> <p>+4</p>
Загальний вихід АТФ на одну молекулу глюкози	38

Енергетичний баланс повного окиснення глюкози



Гліцеролфосфатний човниковий механізм



Потрібно відзначити, що утворені у результаті перетворення гліцеральдегід-3-фосфату 2 молекули НАДН в подальшому при окисненні можуть давати не 6 молекул АТФ, а лише 4.

Справа у тому, що самі молекули позамітохондріального НАДН не здатні проникати через мембрану в середину мітохондрій. Однак електрони, які вони транспортують, можуть досягнути мітохондріального ланцюга транспорту електронів за допомогою так званого гліцеролфосфатного човникового механізму.

Цитоплазматичний НАДН спочатку реагує з **цитоплазматичним дигідроксиацетонфосфатом**, утворюючи **глицерол-3-фосфат**. Реакція каталізується **НАД-залежною** цитоплазматичною глицерол-3-фосфат-дегідрогеназою:



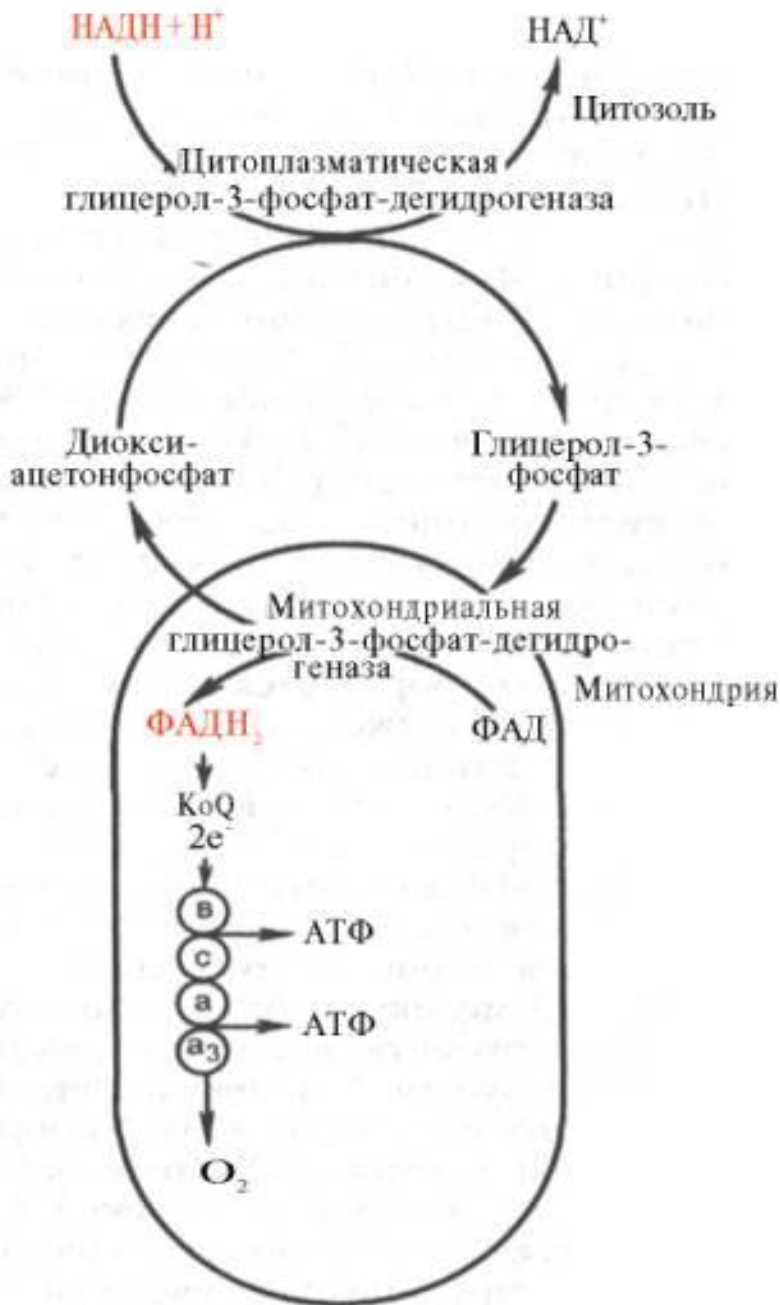
Гліцеролфосфатний човниковий механізм (у скелетних м'язах та мозку)

Утворений гліцерол-3-фосфат легко проникає через мітохондріальну мембрану. Всередині мітохондрії інша (мітохондріальна) гліцерол-3-фосфат-дегідрогеназа (**флавіновий фермент**) знову окиснює гліцерол-3-фосфат до діоксиацетонфосфату:



Відновлений флавопротеїн (фермент-ФАДН₂) вводить на рівні КоQ набуті ним електрони у ланцюг біологічного окиснення і спряженого з ним окиснювального фосфорилування, а діоксиацетонфосфат виходить із мітохондрій в цитоплазму і може знову взаємодіяти з цитоплазматичним НАДН + Н⁺.

Таким чином, пара електронів з однієї молекули цитоплазматичного НАДН + Н⁺, яка вводиться у дихальний ланцюг за допомогою гліцеролфосфатного човникового механізму, дає не 3, а 2 АТФ.



Малат-аспартатна човникова система для переносу відновлюючих еквівалентів від цитозольного НАДН в мітохондріальний матрикс.

- У клітинах **печінки, нирок і серця** діє більш складна малат-аспартатна човникова система. Дія такого механізму стає можливою завдяки присутності малатдегідрогенази та аспартатамінотрансферази як у цитозолі, так і у мітохондріях. Показано, що від цитозольного НАДН + H^+ відновлені еквіваленти спочатку за участю фермента малатдегідрогенази переносяться на цитозольний оксалоацетат. В результаті утворюється малат, який за допомогою системи, що транспортує дикарбонові кислоти, проходить через внутрішню мембрану мітохондрій у матрикс. Тут малат окиснюється до оксалоацетату, а матриксний НАД⁺ відновлюється до НАДН + H^+ , який може тепер передавати свої електрони у ланцюг дихальних ферментів, що розміщений на внутрішній мембрані мітохондрій.
- У свою чергу утворений оксалоацетат за присутності глутамату і фермента АсАТ (аспартатамінотрансферази) вступає у реакцію трансамінування. Утворюється аспарат і α -кетоглутарат за допомогою спеціальних транспортних систем здатні проходити через мембрану мітохондрій.
- У цитозолі вони знов за допомогою АсАТ утворюють оксалоацетат, що спонукає до дії новий цикл. В цілому процес містить легкозворотні реакції, відбувається без затрат енергії, «рушійною силою» його є постійне відновлення НАД⁺ у цитозолі гліцеральдегід-3-фосфатом, який утворюється при катаболізмі глюкози.
- **Отже, якщо функціонує малат-аспартатний механізм, то в результаті повного окиснення однієї молекули глюкози може утворитися 38 молекул АТФ, а якщо функціонує гліцерофосфатний шатл - 36.**

Малат-аспартатна човникова система для переносу відновлюючих еквівалентів від цитозольного НАДН в мітохондріальний матрикс

(у клітинах печінки, нирок та у серцевому м'язі)



Reaction	Number of ATP or reduced coenzymes directly formed	Number of ATP ultimately formed*
Glucose \longrightarrow glucose-6-phosphate	-1 ATP	-1
Fructose-6-phosphate \longrightarrow fructose-1,6-bisphosphate	-1 ATP	-1
2 Glyceraldehyde-3-phosphate \longrightarrow 2 1,3-bisphosphoglycerate	2 NADH (FADH₂)	6(4)
2 1,3-Bisphosphoglycerate \longrightarrow 2 3-phosphoglycerate	2 ATP	2
2 Phosphoenolpyruvate \longrightarrow 2 pyruvate	2 ATP	2
2 Pyruvate \longrightarrow 2 acetyl-CoA	2 NADH	6
2 Isocitrate \longrightarrow 2 α a-ketoglutarate	2 NADH	6
2 α -Ketoglutarate \longrightarrow 2 succinyl-CoA	2 NADH	6
2 Succinyl-CoA \longrightarrow 2 succinate	2 ATP (or 2 GTP)	2
2 Succinate \longrightarrow 2 fumarate	2 FADH₂	4
2 Malate \longrightarrow 2 oxaloacetate	2 NADH	6
Total (3 ATP per NADH and 2 ATP per FADH₂)		38 (36)

Окрім енергетичної функції, ЦТК притаманні інтегративна, амфіболічна і гідрогенгенеруюча функції:

- 1) **інтегративна** полягає в тому, що ЦТК є своєрідним метаболічним «колектором», який об'єднує шляхи катаболізму вуглеводів, ліпідів та білків;
- 2) **амфіболічна** об'єднує: катаболічну, зв'язану з розпадом ацетату, й анаболічну, оскільки субстрати ЦТК використовують і для синтезу інших речовин. Так, щавлевооцтова кислота (оксалоацетат) необхідна для синтезу аспарагінової кислоти та глюкози, α -кетоглутарова — глутамінової кислоти, бурштинова (сукцинат) — для синтезу гему;
- 3) **гідрогенгенеруюча** — ЦТК є основним генератором Гідрогену для дихального ланцюга, причому процесами, які «живлять» цикл залишками оцтової кислоти та іншими проміжними продуктами поряд з обміном вуглеводів є також обмін ліпідів та амінокислот.

Проміжні продукти ЦТК присутні у мітохондріях в незначних кількостях. При окисненні ацетил-КоА вони регенеруються, а анаболічні процеси швидко виснажують пул деяких проміжних продуктів циклу. Тому їхній запас постійно поповнюється за рахунок метаболітів, які надходять з інших джерел. Ферментативні процеси, що поповнюють запас проміжних продуктів циклу, називаються **анаплеротичними реакціями**.

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

Анаплеротичні реакції

Анаплеротичні реакції - реакції клітинного метаболізму, що підвищують концентрацію субстратів трикарбонового циклу, утворюючи їх з інтермедіатів інших метаболічних шляхів (зокрема, амінокислот, пірувату). **Активуючи ЦТК, анаплеротичні реакції сприяють посиленню інтенсивності катаболічних процесів в організмі.**

Утворення субстратів ЦТК в анаплеротичних реакціях:

1. Перетворення амінокислот на дикарбонові кислоти - субстрати ЦТК:

- утворення α -кетоглутарату в реакціях трансамінування;
- утворення оксалоацетату в реакціях трансамінування;
- утворення α -кетоглутарату в глутаматдегідрогеназній реакції;
- утворення сукциніл-КоА з ізолейцину, валіну, метіоніну, треоніну.

Анаплеротичні реакції

- **2. Утворення оксалоацетату з пірувату в піруваткарбоксилазній реакції:**



Коферментом піруваткарбоксилази є біотин (вітамін Н), який у ході реакції оборотно акцептує CO_2 , утворюючи N-карбоксибіотин.

Піруваткарбоксилаза — алостеричний фермент, позитивним модулятором якого є ацетил-КоА. За умов низької внутрішньоклітинної концентрації ацетил-КоА активність ферменту і, відповідно, швидкість піруваткарбоксилазної реакції низькі. Накопичення ацетил-КоА, що спостерігається при активації катаболічних процесів, стимулює через утворення оксалоацетату інтенсивність ЦТК і активність окислення його головного субстрату - ацетил-КоА. **Утворення оксалоацетату з пірувату під дією піруваткарбоксилази є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок.**

Анаплеротичні реакції

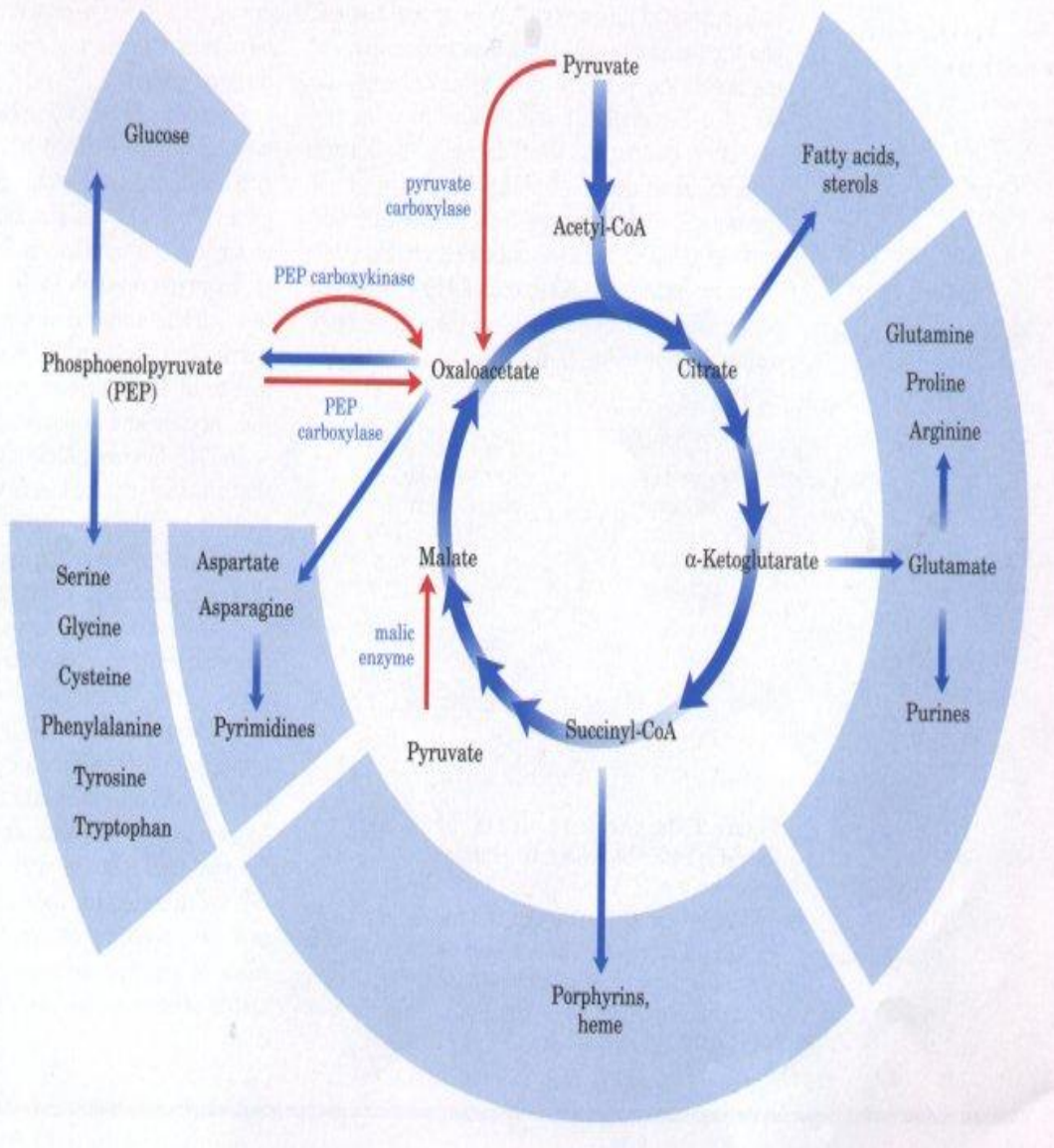
- 3. Утворення оксалоацетату з фосфоенолпірувату:



Реакція каталізується фосфоенолпіруваткарбоксикіназою. При цьому відбувається утворення макроергічного нуклеозидтрифосфату ГТФ за рахунок розщеплення високоенергетичного зв'язку в молекулі фосфоенолпірувату - метаболіту гліколізу.

Фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція є анаплеротичною реакцією ЦТК, що має місце в **міокарді та інших м'язових тканинах**. Ця ж реакція, за умов її перебігу у зворотному напрямку, використовується в процесі синтезу глюкози.

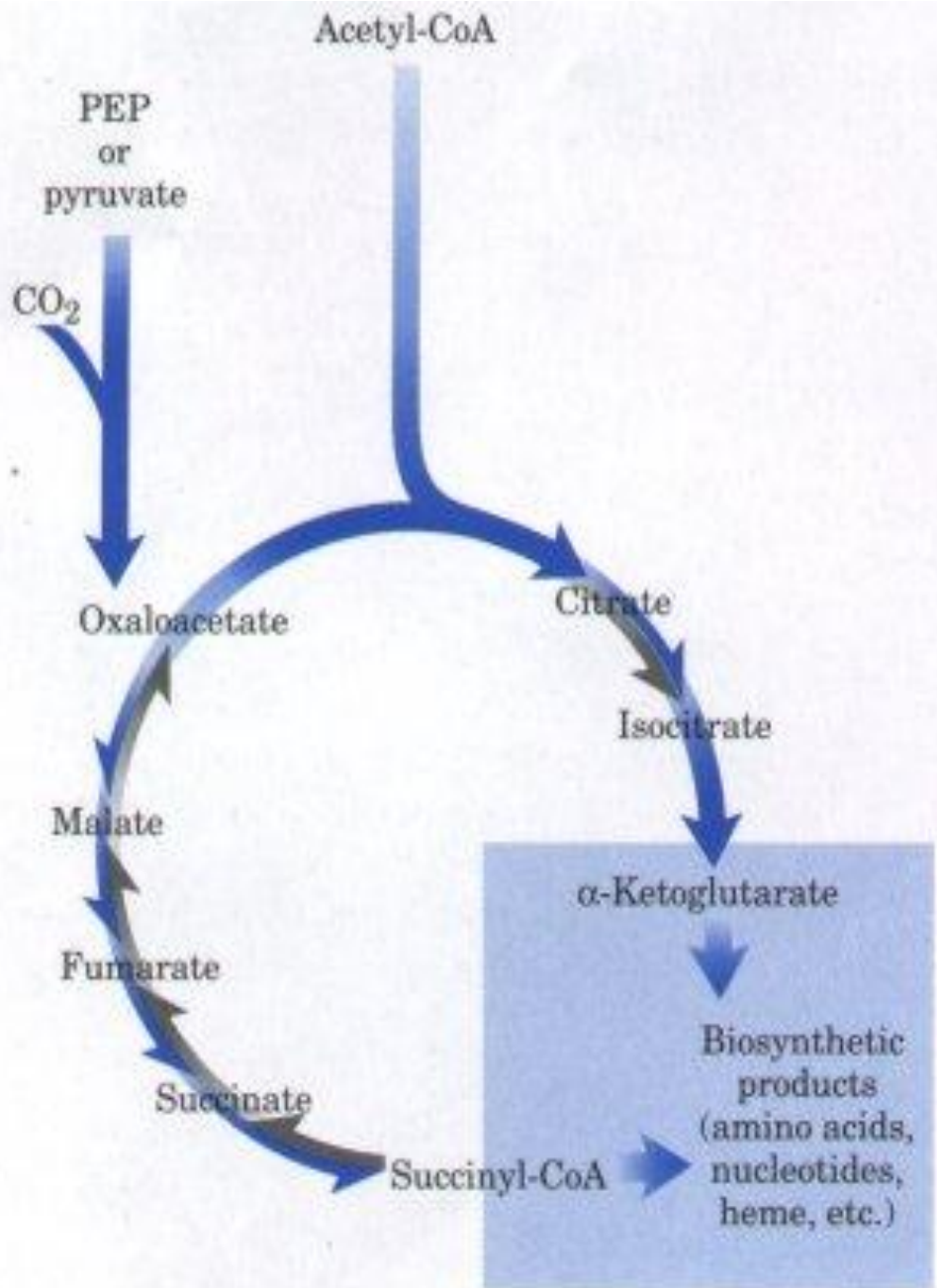
Амфіболічні реакції



Амфіболічні реакції - реакції, що застосовують субстрати ЦТК для утворення інтермедіатів, необхідних для біосинтетичних процесів:

1) у ролі амфіболічних можуть виступати реакції, обернені до розглянутих вище перетворень амінокислот - у цьому випадку дикарбонові кислоти, що утворюються в ЦТК, стимулюють процеси білкового синтезу;

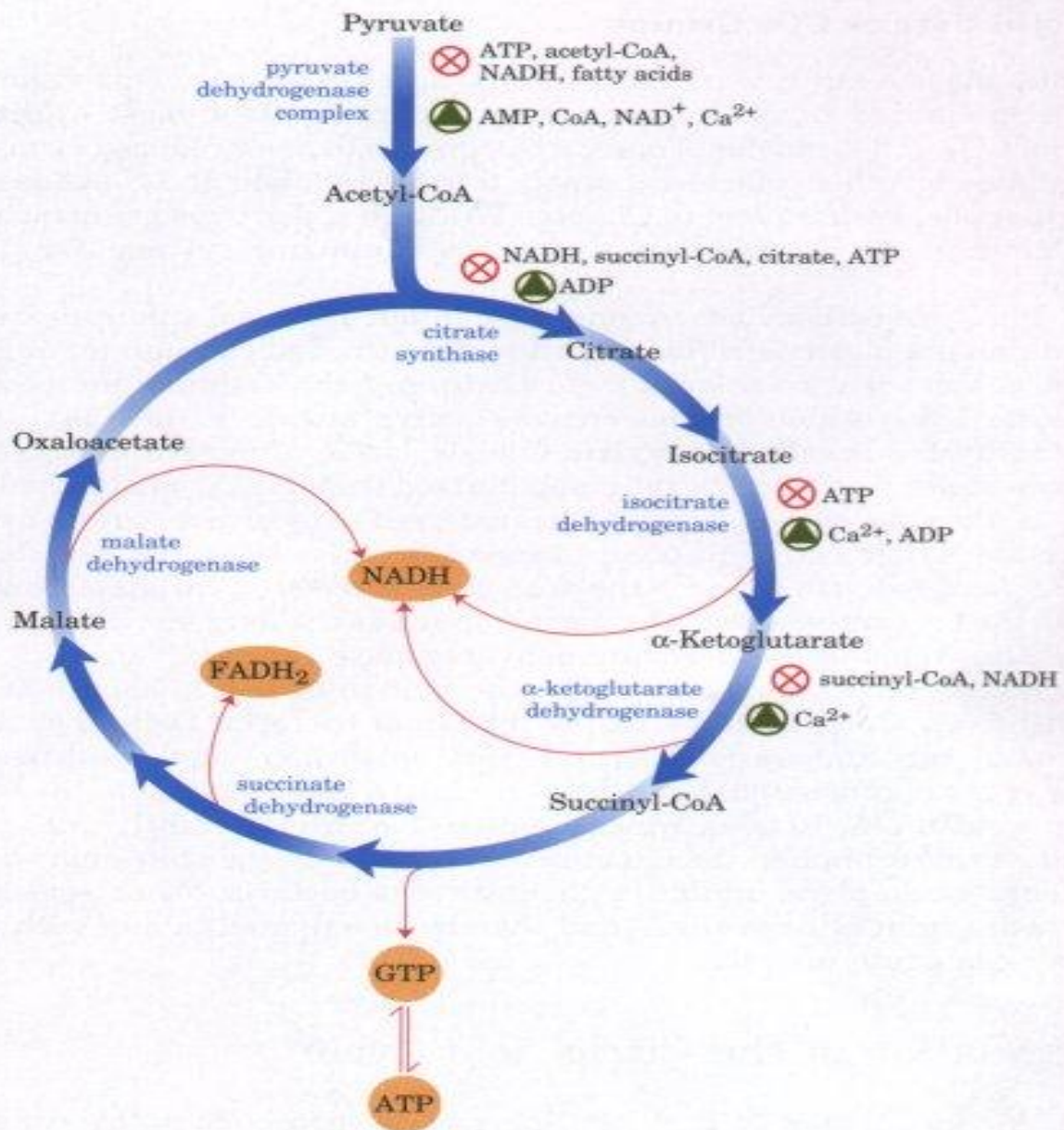
2) важливою реакцією синтезу глюкози (глюконеогенезу) є утворення фосфоенолпірувату з оксалоацетату та ГТФ, тобто фосфоенолпіруват-карбоксікізна реакція за умов її перебігу в напрямку, оберненому до розглянутого вище анаплеротичного процесу.



Використання метаболітів ЦТК в синтезі різноманітних сполук.

Синтез замінимих амінокислот , глюкози , жирних кислот , гема .

Регуляція швидкості реакцій ЦТК



Піруватдегідрогеназний комплекс алостерично інгібується при високих значеннях співвідношень **[ATP]/[ADP], [NADH]/[NAD⁺], and [acetylCoA]/[CoA]**, кожне з яких є ознакою енергетично адекватного метаболічного стану. Коли це співвідношення спадає, настає алостерично забезпечена активація окиснення пірувату. Швидкість реакцій ЦТК може бути лімітована доступністю оксалоацетату і ацетил-КоА або виснаженням пулу NAD⁺ при його відновленні, адже цей кофактор потрібен для проходження аж трьох реакцій. Інгібування по негативному зворотньому типу може здійснюватися сукцинілом-КоА, цитратом та АТФ на ранніх етапах ЦТК. У м'язах зміна концентрації Ca²⁺ при скороченні пов'язана з використанням АТФ, а отже теж впливає на енергогенеруючі процеси.

Регуляція циклу трикарбонових КИСЛОТ

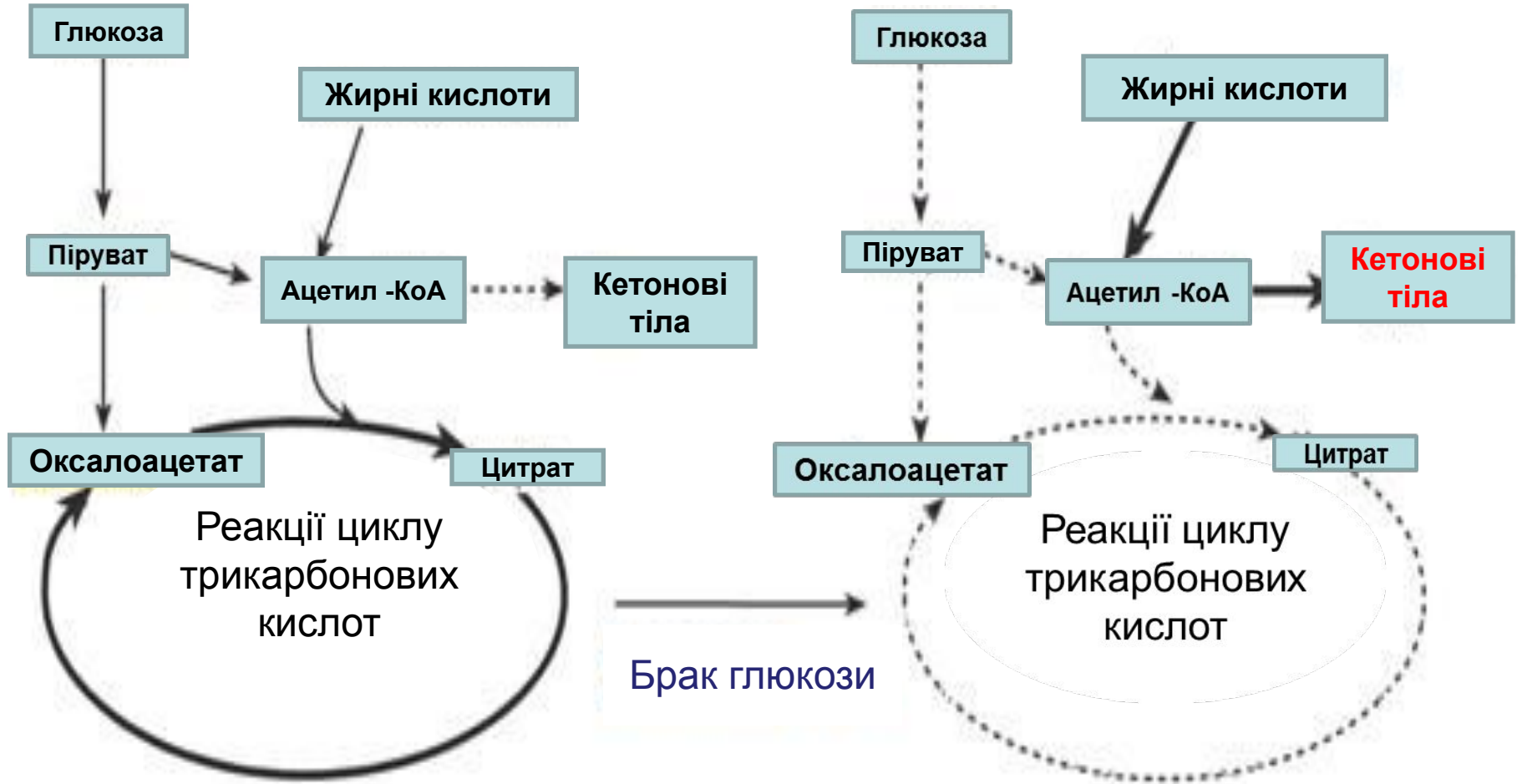
- Головним і основним регулятором ЦТК є оксалоацетат, а точніше його доступність. Наявність оксалоацетату залучає в ЦТК ацетил-SКоА і запускає процес.
- Зазвичай у клітині є **баланс** між утворенням ацетил-SКоА (з глюкози, жирних кислот або амінокислот) і кількістю оксалоацетату. Джерелом оксалоацетату є **глюкоза** (синтез з пірувату в анаплеротичній реакції)



Оксалоацетат надходить з **фруктових кислот** самого циклу (яблучної, лимонної), утворюється з **аспарагінової кислоти** в результаті трансамінування.

Прикладом суттєвої ролі оксалоацетату служить активація синтезу кетонових тіл і **кетоацидоз** плазми крові при недостатній кількості оксалоацетату в **печінці**. Такий стан спостерігається при цукровому діабеті 1-го типу (брак інсуліну), при голодуванні, алкогольному отруєнні або тривалому фізичному навантаженні.

Зміна швидкості реакцій ЦТК і причини накопичення кетонових тіл за деяких станів



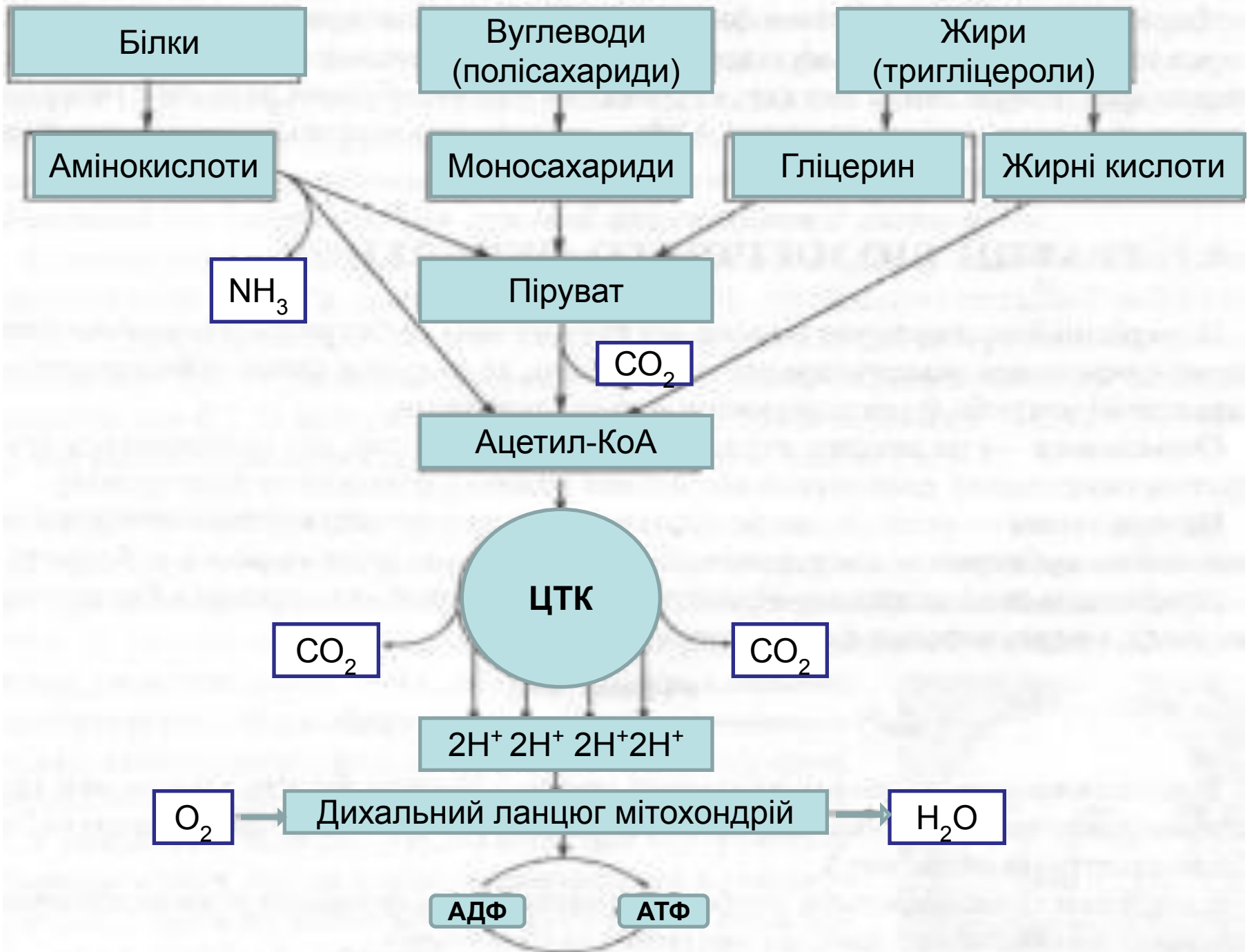
Нормальне протікання реакцій біологічного окиснення та ЦТК

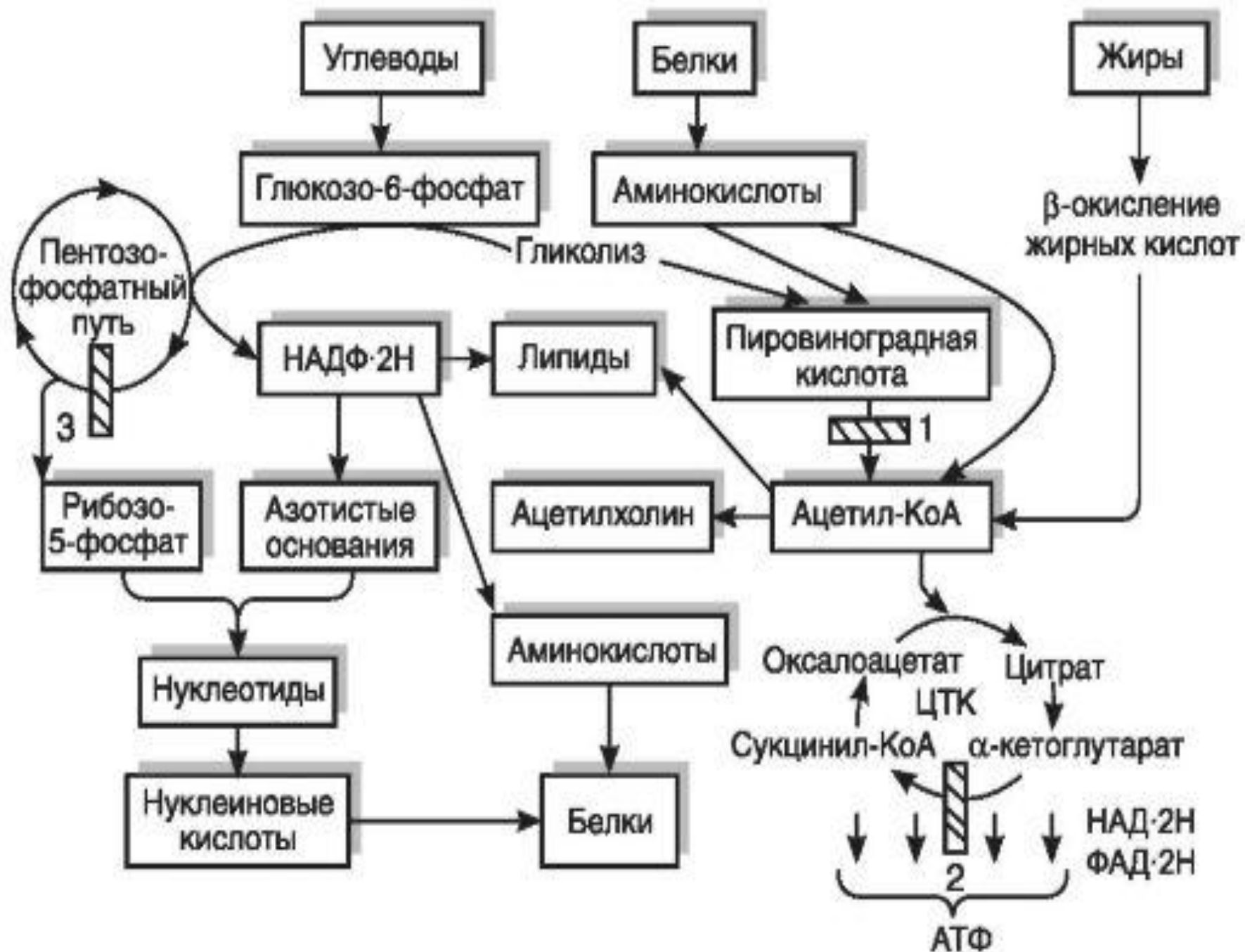
Порушення анаплеротичної реакції і ЦТК.
Активація синтезу кетонових тіл

Регуляція циклу трикарбонових кислот

- Також деякі ферменти ЦТК є чутливими до алостеричної регуляції метаболітами:

	Інгібітори	Активатори
Цитратсинтаза	АТФ, цитрат, НАДН, ацил-S-КоА	
Ізоцитрат-дегідрогеназа	АТФ, НАДН	АМФ, АДФ
α -Кетоглутарат-дегідрогеназа	Сукциніл-S-КоА, НАДН	цАМФ





A0250501.mov



A0250601.mov

A0250701.mov

