

Krebsův cyklus (FBLT)

Náplň podkapitoly

1. Úvod do Krebsova cyklu
2. Reakce Krebsova cyklu
3. Regulace Krebsova cyklu

Úvod do Krebsova cyklu

Krebsův cyklus (citrátový cyklus, cyklus kyseliny citronové) je metabolická dráha lokalizovaná v matrix mitochondrií. Probíhá téměř ve všech buňkách organismu – kromě erytrocytů, které mitochondrie postrádají. Pro hladký průběh Krebsova cyklu jsou potřebné aerobní podmínky.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Regulace Krebsova cyklu.*

Buňky trpící nedostatkem kyslíku mají omezenou rychlost. Krebsův cyklus je srdcem energetického metabolismu buňky – napojují se na něj všechny dráhy energetického metabolismu. Například dýchací řetězec, glukoneogeneze, transaminace a deaminace aminokyselin či lipogeneze. Proto se nedá určit, zda se jedná o anabolickou či katabolickou dráhu. Proto ji nazýváme **amfibolická dráha**.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Přehled energetického metabolismu .*

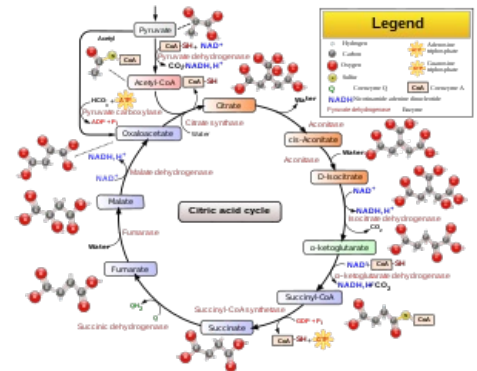


Schéma Krebsova cyklu

Funkce Krebsova cyklu

Oxidace acetylových zbytků (dodávaných ve formě acetyl–CoA)

Oxidace acetylových zbytků ($\text{CH}_3\text{-CO-}$) až na konečný CO_2 . Reakce je zdrojem redukčních ekvivalentů (H^+), které jsou přeneseny na kofaktory NAD^+ či FAD za vzniku redukovaných forem:

- $\text{NADH} + \text{H}^+$,
- FADH_2 .

Redukované kofaktory sytí dýchací řetězec, kde se regenerují – reoxidují, a představují tedy vzájemné propojení Krebsova cyklu a dýchacího řetězce. Krebsův cyklus je hlavním dodavatelem redukovaných kofaktorů pro dýchací řetězec, a proto i významným zdrojem ATP pro buňku. V samotném Krebsově cyklu však vzniká přímo jen jedno GTP na jednu jeho „otočku“.

Vyústění mnoha katabolických drah do Krebsova cyklu

Mnoho katabolických drah produkuje meziprodukty Krebsova cyklu či metabolity, jako je pyruvát a acetyl–CoA. Ty mohou být oxidovány na CO_2 , ale i využity jako substráty pro syntézu jiných látek.

Dodávání prekurzorů do anabolických drah

Například glukoneogeneze, biosyntéza tetrapyrrolů (hemu), tvorba aminokyselin (např. glutamátu, současně i nejhojnějšího excitačního neurotransmiteru v mozku) či dodávka acetyl–CoA do syntézy mastných kyselin.

Účast na vylučování aminodusíku

Krebsův cyklus je úzce propojen s cyklem syntézy močoviny a s tvorbou glutamátu, což jsou dvě hlavní reakce sloužící k vyloučení dusíku pocházejícího z aminokyselin z těla.

Historická korelace: Krebsův cyklus nese jméno sira **Hanse Adolfa Krebse** (1900–1981), německého, později anglického lékaře a biochemika. Ten byl v roce 1953 oceněn Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu „for his discovery of the citric acid cycle“. Cenu obdržel společně s německým, později americkým biochemikem Fritzem Albertem Lipmannem, jenž ji získal „for his discovery of co–enzyme A and its importance for intermediary metabolism“.

Reakce Krebsova cyklu

Souhrnná rovnice popisující Krebsův cyklus:



Většina acetyl–CoA, který dodává acetylové zbytky do Krebsova cyklu, pochází z β –oxidace mastných kyselin a z pyruvátdehydrogenázové reakce (procesy probíhající v matrix mitochondrie).

Pyruvátdehydrogenázová reakce

Jedná se o nevratnou oxidativní dekarboxylaci pyruvátu.



Pokud propojíme pyruvátdehydrogenázovou reakci a souhrnnou reakci Krebsova cyklu, získáme rovnici popisující kompletní oxidaci pyruvátu.



Jednotlivé reakce Krebsova cyklu

Oxidace acetylových zbytků probíhá přes několik mezikroků.

1. Acetylový zbytek (2C) přenesen na oxalacetát (4C)

- reakce katalyzovaná enzymem citrátsyntázou – vzniká **citrát (6C)**
- nevratná – regulační reakce

2. Izomerace citrátu na isocitrát

- přes akonitát, za katalýzy enzymem akonitát-hydratázou (akonitáza)
- reakce volně reverzibilní

3. Oxidace izocitrátu na α –ketoglutarát

- katalyzována enzymem isocitrátdehydrogenázou
- oxidační dekarboxylace – oxidace –OH skupiny isocitrátu na ketoskupinu (vznik **NADH + H⁺**) za současného odštěpení jedné karboxylové skupiny ve formě **CO₂**
- nevratná – nejdůležitější regulační reakce

4. Oxidace α –ketoglutarátu na sukcinyl–CoA

- katalyzována α –ketoglutarátdehydrogenázou (multienzymový komplex)
- jde o oxidační dekarboxylaci – dochází k odštěpení další molekuly **CO₂**
- vznik **NADH + H⁺**
- reakce nevratná a regulační

5. Přeměna sukcinyl–CoA na sukcinát a koenzym A

- katalyzováno sukcinyl–CoA–ligázou
- typická substrátová fosforylace
- vratná reakce
- vznik GTP, který může být přeměněn na ATP.

V dosavadních reakcích došlo ke kompletní oxidaci acetylového zbytku na 2 CO₂ a oxalacetát byl redukován na sukcinát. Následující tři reakce regenerují oxalacetát ze sukcinátu

6. Oxidace sukcinátu na fumarát

- pomocí enzymu sukcinátdehydrogenázy (integrální protein ve vnitřní mitochondriální membráně, který je

- součástí dýchacího řetězce – komplex II)
- kofaktorem je FAD – vzniká FADH₂

7. Adice vody na dvojnou vazbu ve fumarátu za vzniku malátu

- katalyzováno enzymem fumaráthydratázou (fumarázou)

8. Oxidace malátu na oxalacetát

- pomocí enzymu maltátdehydrogenázy
- vzniká **NADH + H⁺**
- uzavírá Krebsův cyklus

Produkty Krebsova cyklu

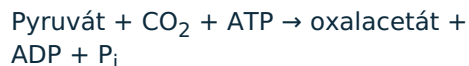
V jedné otočce Krebsova cyklu vznikají **2 CO₂, 3 NADH + H⁺, 1 FADH₂ a 1 GTP** (možno směnit za ATP).

Oxid uhlíčitý difunduje z mitochondrie a na konci je vyloučen v plicích. Redukované kofaktory (NADH + H⁺, FADH₂) sytí dýchací řetězec, který následně tvoří ATP. Energetická bilance Krebsova cyklu (přímá tvorba GTP a vznik ATP v dýchacím řetězci) se pohybuje mezi **10-12 ATP** na jednu molekulu acetyl-CoA. Situace je mnohem složitější a přesné číslo je problematické určit.

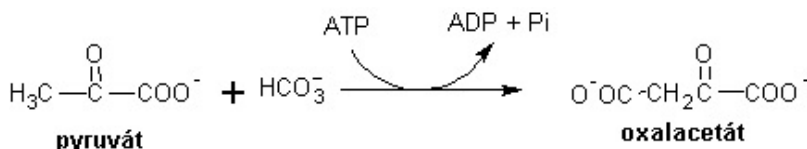
Doplňovací (anaplerotické) reakce

Meziprodukty Krebsova cyklu se v mitochondrii vyskytují ve velmi malých množstvích. Na jedné straně vytvářejí anaboličké dráhy hlavní odtok meziproduktů z Krebsova cyklu – například: sukcinyl-CoA → syntéza hemu, oxalacetát → glukoneogeneze. Na straně druhé dochází během oxidace acetylových zbytků k jejich konstantní regeneraci, a proto se jejich koncentrace udržují relativně stabilní v průběhu času. Reakce, které doplňují tyto ztráty meziproduktů Krebsova cyklu, se nazývají anaplerotické.

1. Karboxylace pyruvátu

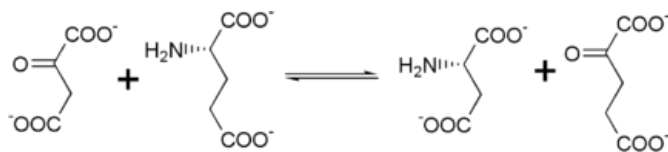


- vznik **oxalacetátu**
- reakci katalyzuje enzym pyruvátkarboxyláza (kofaktorem je biotin – vitamin B7)



2. Vznik oxalacetátu a α-ketoglutarátu

- vznik z uhlíkatých koster aminokyselin
- aspartát může být transaminován na oxalacetát
- glutamát na α-ketoglutarát



3. Vznik sukcinyl-CoA z propionyl-CoA

- tvoří se během degradace mastných kyselin s lichým počtem C-atomů

Regulace Krebsova cyklu

Regulačními body (enzymy) Krebsova cyklu jsou

1. Citrátsyntáza
2. Isocitrátdehydrogenáza
3. α-ketoglutarátdehydrogenáza

Regulačními faktory Krebsova cyklu jsou

1. Poměr NADH / NAD⁺ – respirační kontrola.
2. Poměr ATP / (ADP a AMP) – energetická kontrola.

Poměr NADH / NAD⁺ - respirační kontrola

Pokračováním Krebsova cyklu je dýchací řetězec, kde dochází k reoxidaci redukovaných kofaktorů. Pokud se **hromadí NADH + H⁺ a FADH₂** (zvyšuje se poměr NADH / NAD⁺), dojde k inhibici α-ketoglutarátdehydrogenázy a isocitrátdehydrogenázy.

Poměr ATP / (ADP a AMP) - energetická kontrola

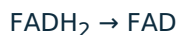
Je-li dostatek energie, inhibuje se α-ketoglutarátdehydrogenáza a isocitrátdehydrogenáza.

- ATP je jejich inhibítorem.
- ADP a AMP jsou naopak aktivátory.

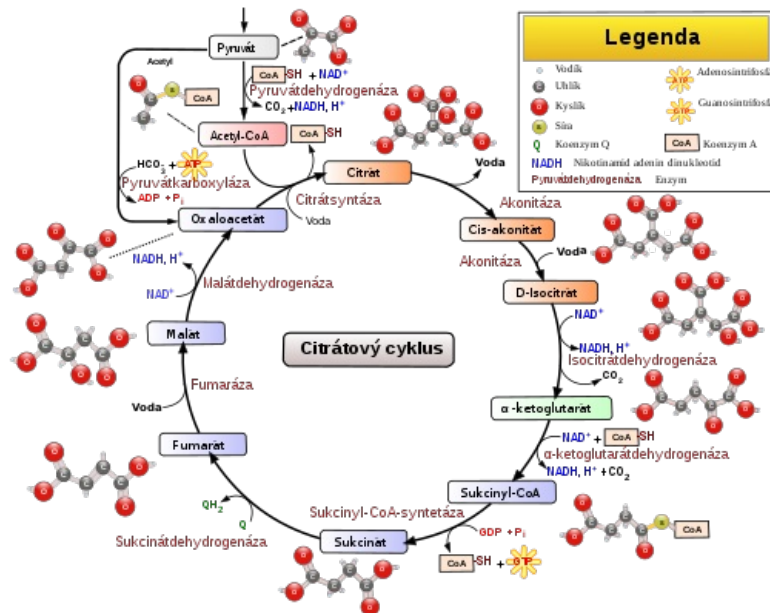
Dostupnost substrátů Krebsova cyklu - substrátová kontrola

Substrátová kontrola se nachází na úrovni citrátsyntázy, která produkuje tolik citrátu, kolik jí dodáme oxaloacetátu a acetyl-CoA.

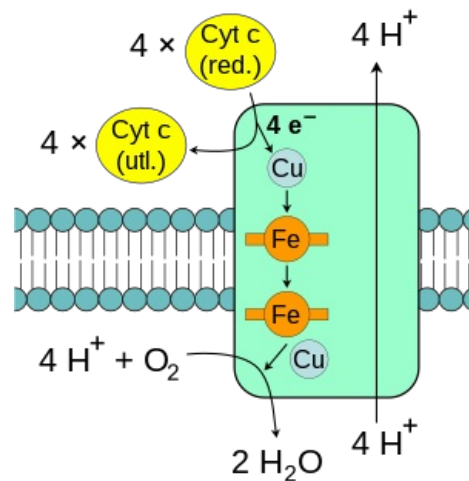
Aktivita Krebsova cyklu rovněž souvisí s dostupností O₂. I přesto, že žádná z reakcí v cyklu nevyžaduje O₂, je kyslík potřebný pro respirační řetězec, protože zde slouží jako finální akceptor elektronů. V respiračním řetězci se reoxidují:



Jestliže buňka postrádá O₂, klesá koncentrace NAD⁺ a FAD a následně se sníží i aktivita Krebsova cyklu.



Krebsův cyklus



Komplex IV v dýchacím řetězci