

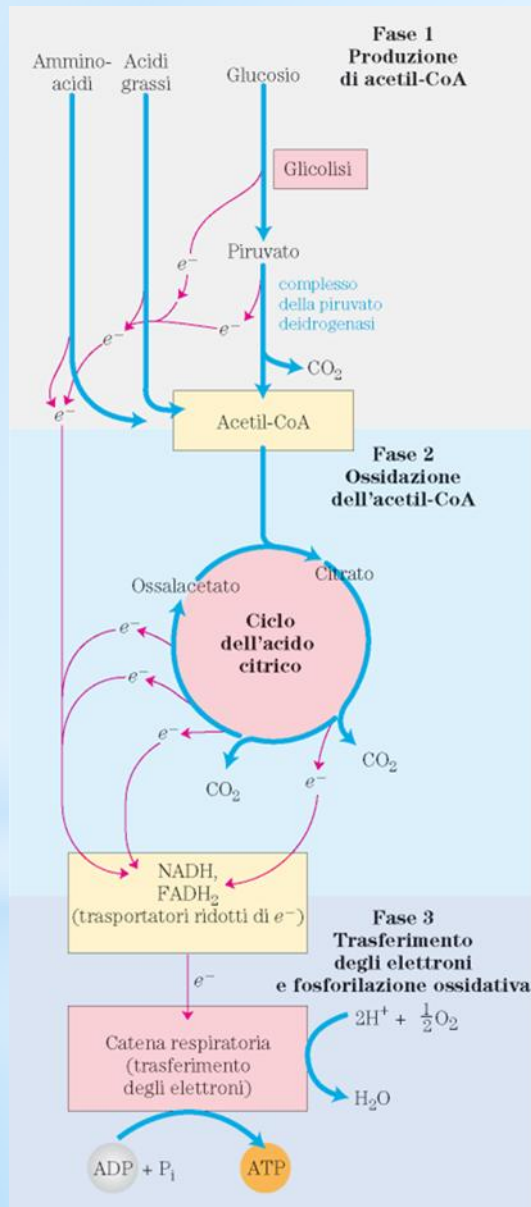
# \* Lezione 12

## *Ciclo dell'Acido Citrico*

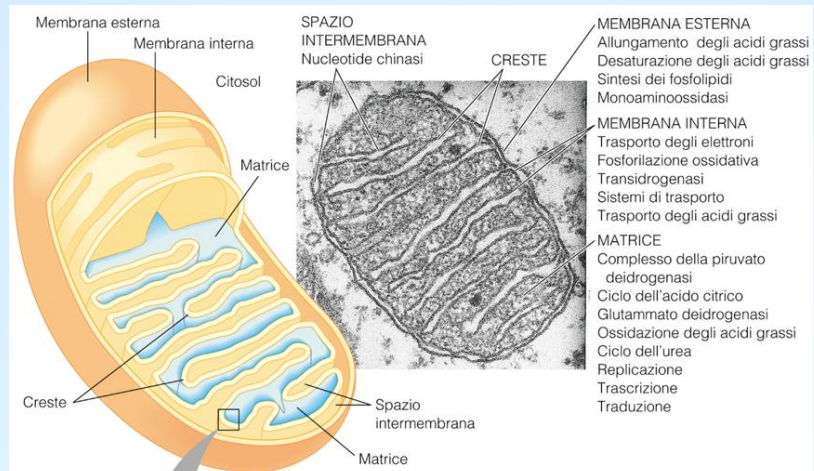
**Al termine della lezione, lo studente sarà in grado di:**

- 1. Descrivere le tre fasi del catabolismo ossidativo** — dalla degradazione di grassi, carboidrati e proteine fino alla produzione di ATP.
- 2. Illustrare il ruolo del Complesso della Piruvato Deidrogenasi** come ponte tra la glicolisi e il ciclo di Krebs.
- 3. Riconoscere e spiegare le 8 tappe del ciclo dell'acido citrico**, identificando substrati, prodotti ed enzimi coinvolti.
- 4. Calcolare i prodotti energetici di un singolo giro del ciclo** (NADH, FADH<sub>2</sub>, GTP).
- 5. Comprendere il ruolo anfibolico del ciclo**, ovvero la sua funzione sia catabolica che anabolica (via anfibolica e reazioni anaplerotiche).

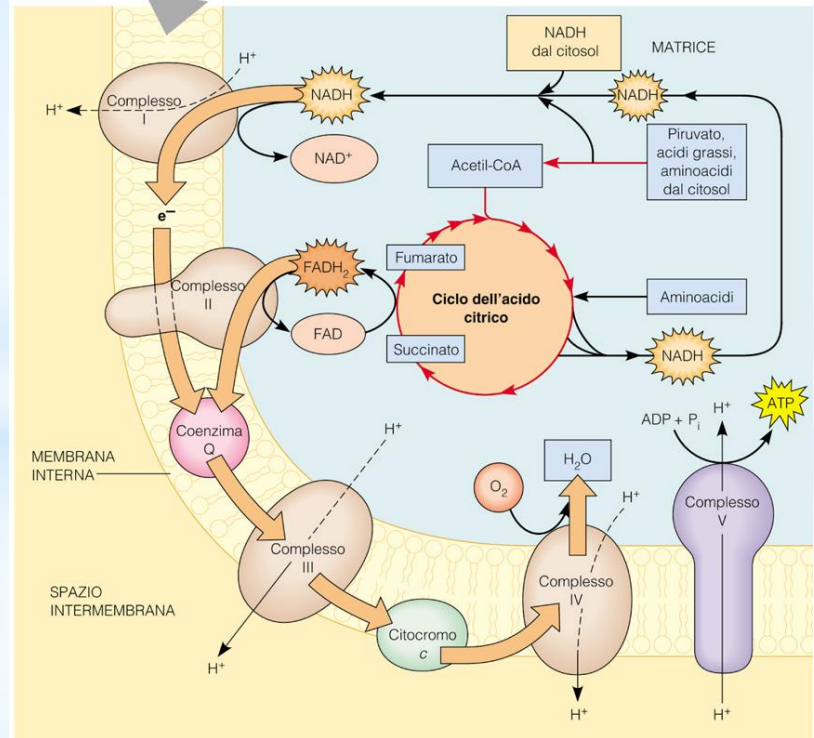
# Catabolismo delle proteine, dei grassi e dei carboidrati nelle tre fasi della respirazione cellulare



**FASE 1:** l'ossidazione degli ac grassi, del glucosio e di alcuni aa produce Acetil-CoA;  
**FASE 2:** l'ossidazione dei gruppi acetilici nel ciclo dell'ac.citrico comprende quattro reazioni, che sottraggono elettroni;  
**FASE 3:** gli  $e^-$  trasportati dal NADH e dal  $\text{FADH}_2$  vengono incanalati in una catena mitocondriale di trasportatori di  $e^-$ , riducendo alla fine l' $\text{O}_2$  ad  $\text{H}_2\text{O}$ . Il flusso di  $e^-$  consente la sintesi di ATP.



(a)

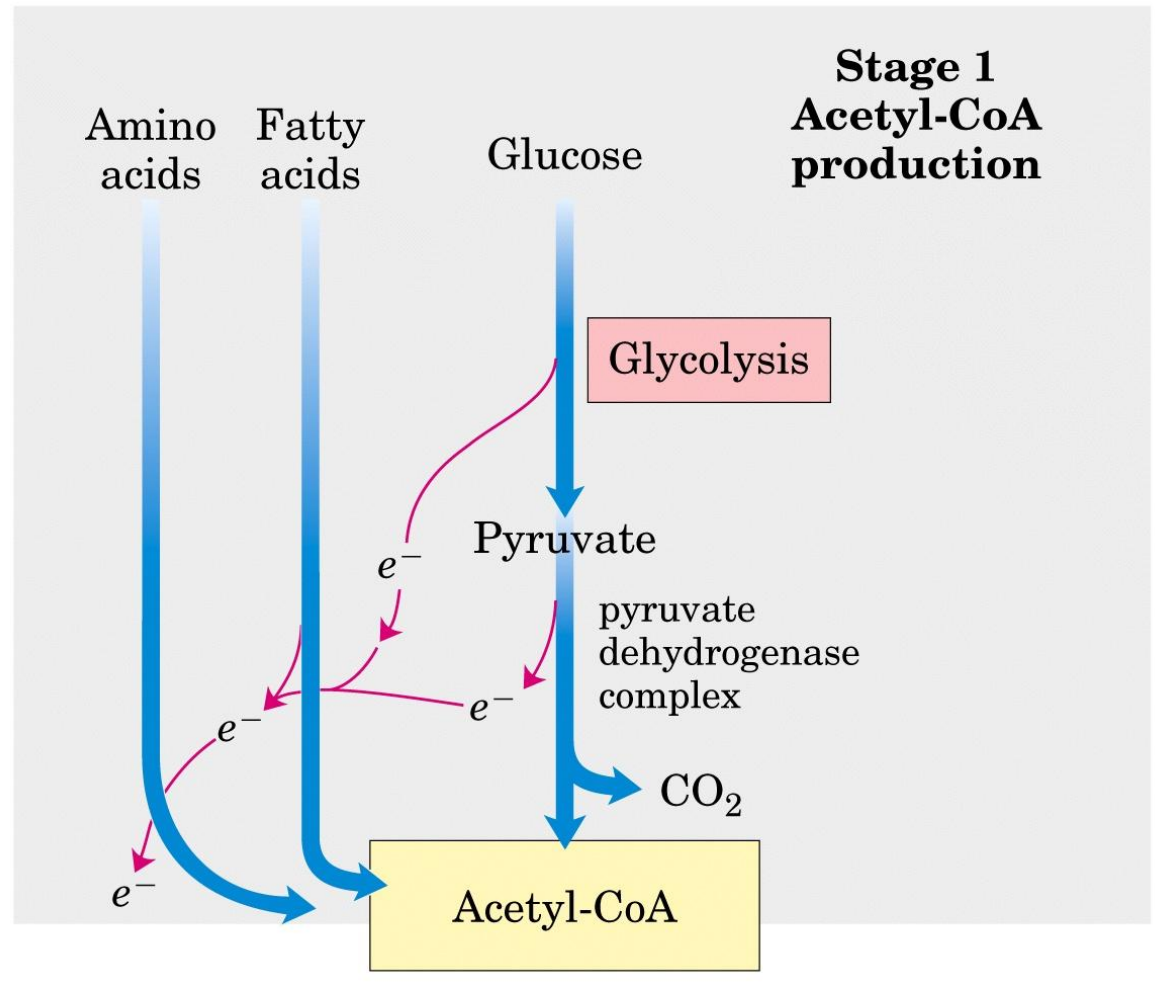


# METABOLISMO OSSIDATIVO

*Processi molecolari in cui è coinvolto il consumo di ossigeno e la formazione di  $CO_2$  da parte della cellula*

## 1<sup>a</sup> parte

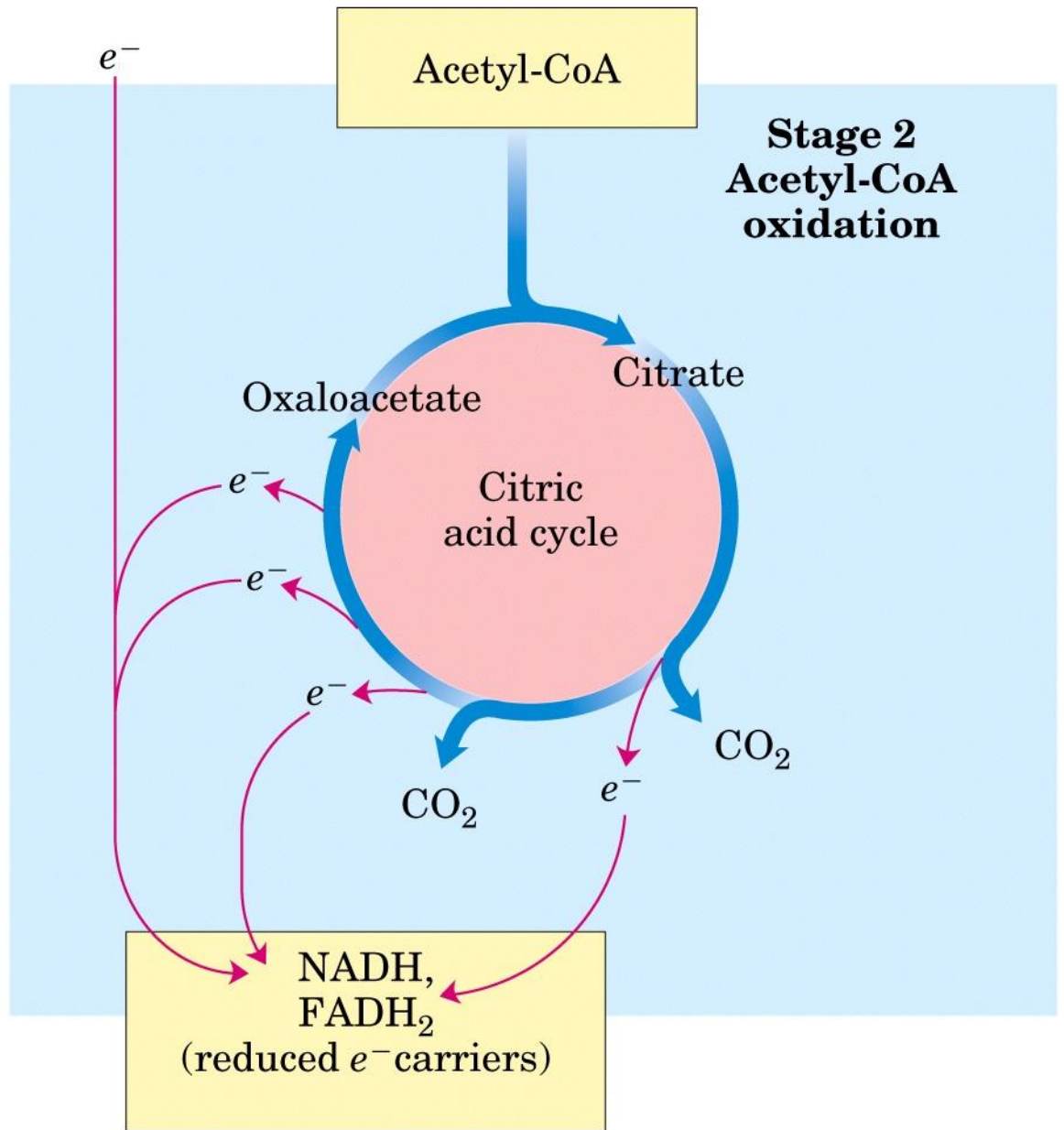
*Le sostanze nutrienti: a. grassi, glucosio e qualche amminoacido, sono ossidate fino a formare frammenti a due atomi di carbonio: gruppo acetilico*



## 2<sup>a</sup> parte

*I gruppi acetilici sono immessi nel ciclo dell'acido citrico, dove vengono ossidati fino a formare CO<sub>2</sub> ed energia sotto forma di molecole ridotte:*

***NADH e FADH<sub>2</sub>***



### 3<sup>a</sup> fase

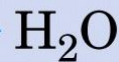
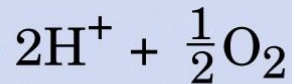
*I cofattori ridotti prodotti nella seconda fase sono a loro volta ossidati liberando protoni ( $H^+$ ) ed elettroni che attraverso una catena respiratoria saranno trasferiti all' $O_2$  che si riduce ad  $H_2O$ .*

NADH,  
FADH<sub>2</sub>  
(reduced  $e^-$  carriers)

$e^-$

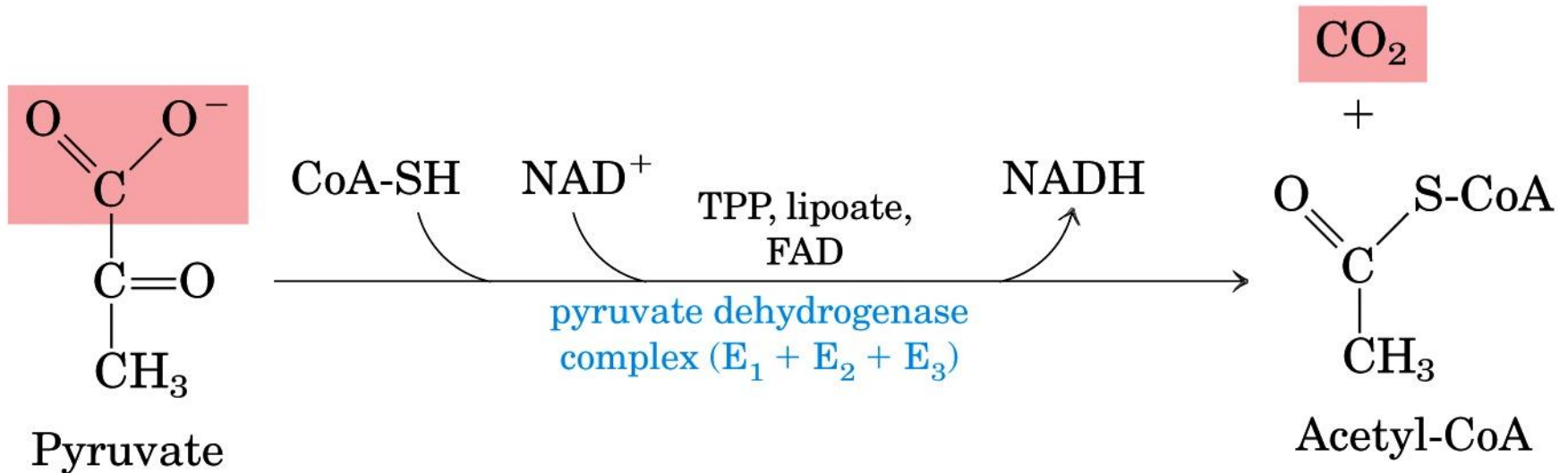
Respiratory  
(electron transfer)  
chain

**Stage 3**  
**Electron transfer**  
**and oxidative**  
**phosphorylation**



L'energia rilasciata in questo trasferimento sarà convertita ad **ATP**

## COMPLESSO DELLA PIRUVATO DEIDROGENASI

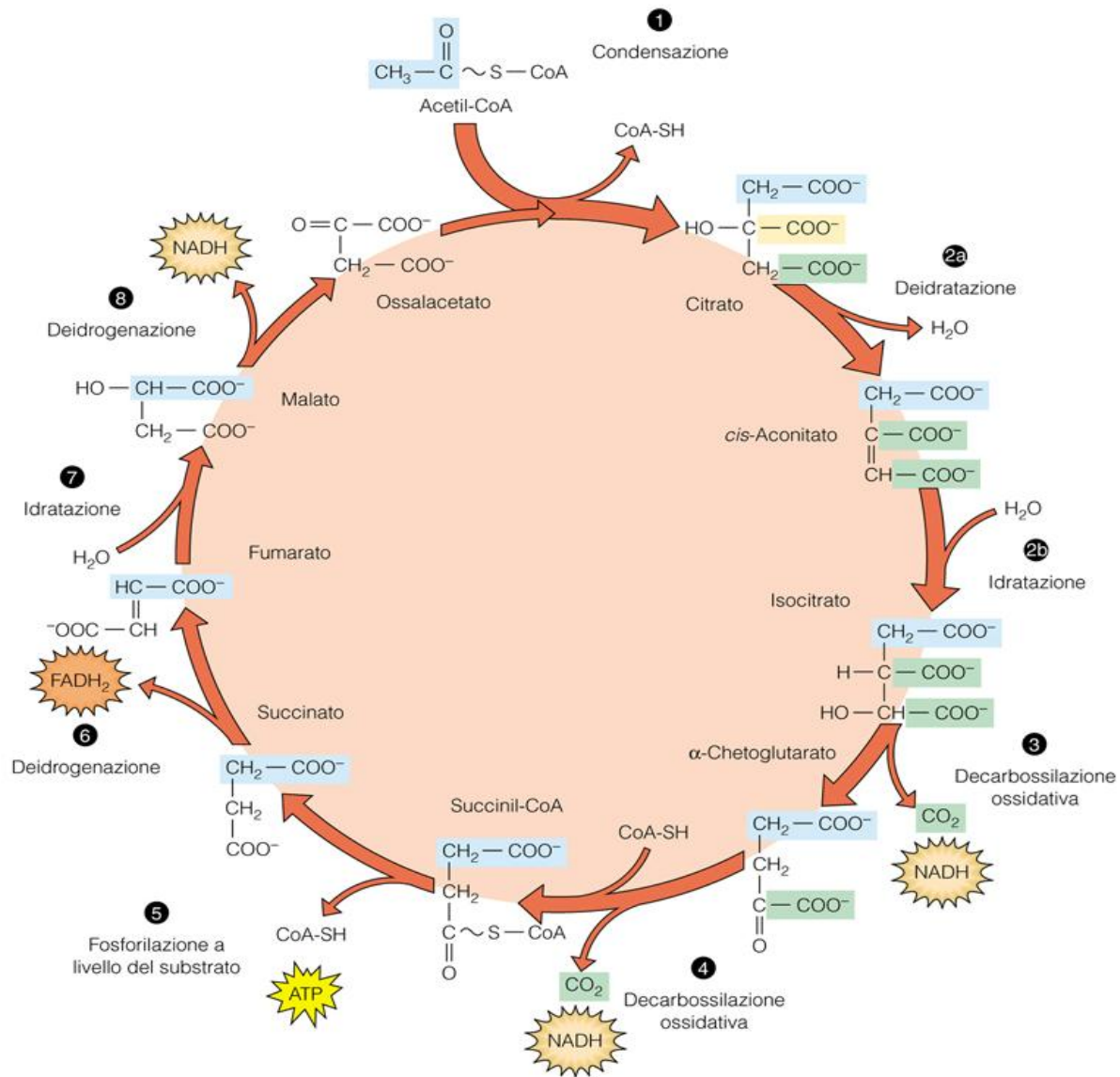


$$\Delta G'^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$$

### COMPLESSO MULTIENZIMATICO

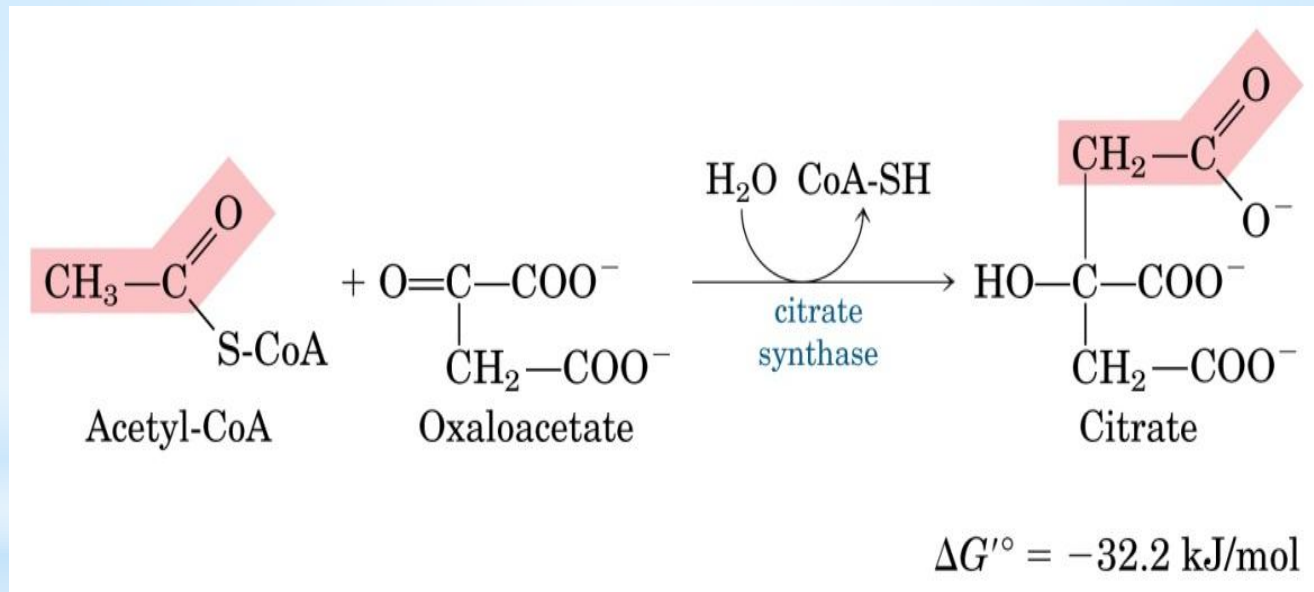
*Costituito da 3 enzimi e 5 gruppi prostetici: tiamina pirofosfato (TPP), flavin adenin dinucleotide (FAD), coenzima A (CoA-SH), nicotinamide adenin dinucleotide (NAD) e l'ACIDO LIPOICO (lipoammide).*

**LOCALIZZATO NELLA MATRICE MITOCONDRIALE DELLE CELLULE EUCARIOTICHE E NEL CITOSOL DELLE CELLULE PROCARIOTICHE**



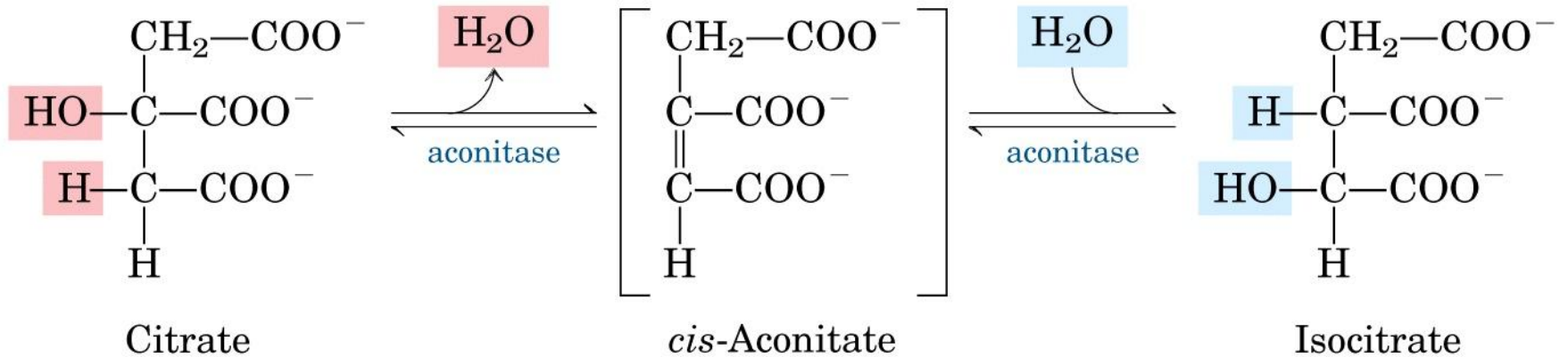
## FASE 1: entrata e fuoriuscita di 2 atomi di C

### 1. TAPPA FORMAZIONE DEL CITRATO



Equivalente di una condensazione aldolica seguita da idrolisi

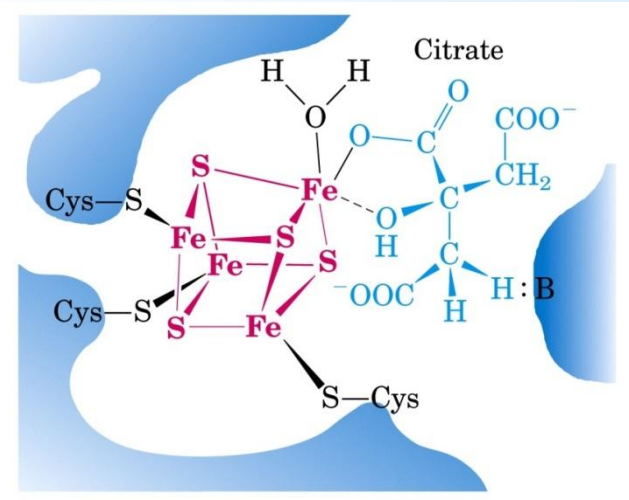
## 2. TAPPA Formazione dell'isocitrato attraverso il *cis*-aconitato isomerizzazione



$$\Delta G'^{\circ} = 13.3 \text{ kJ/mol}$$

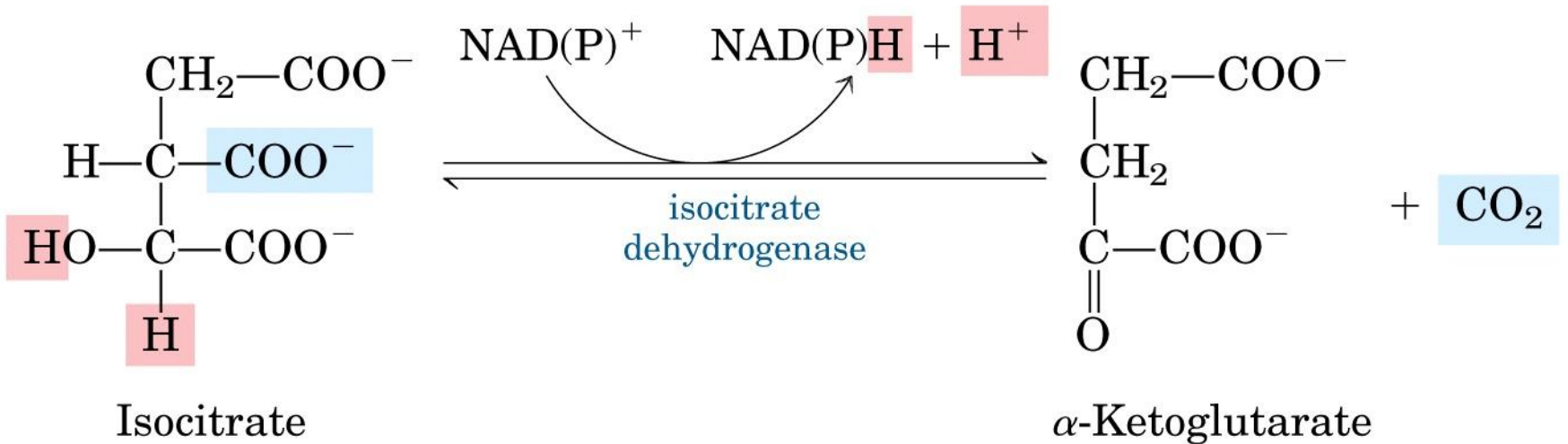
### Proteina ferro-zolfo

*Il centro ferro-zolfo si lega al citrato e partecipa alla deidratazione e reidratazione del substrato legato all'enzima*



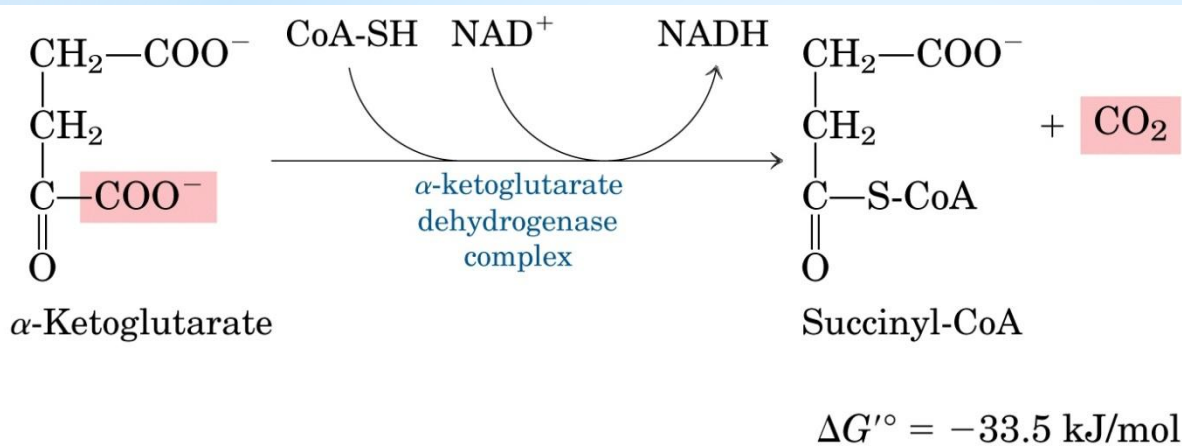
3. TAPPA *Isocitrato è ossidato e decarbossilato a  $\alpha$ -chetoglutarato*

*Si forma la prima molecola di  $CO_2$*



*Due forme isoenzimatiche: una NAD-dipendente opera nel ciclo di Krebs*

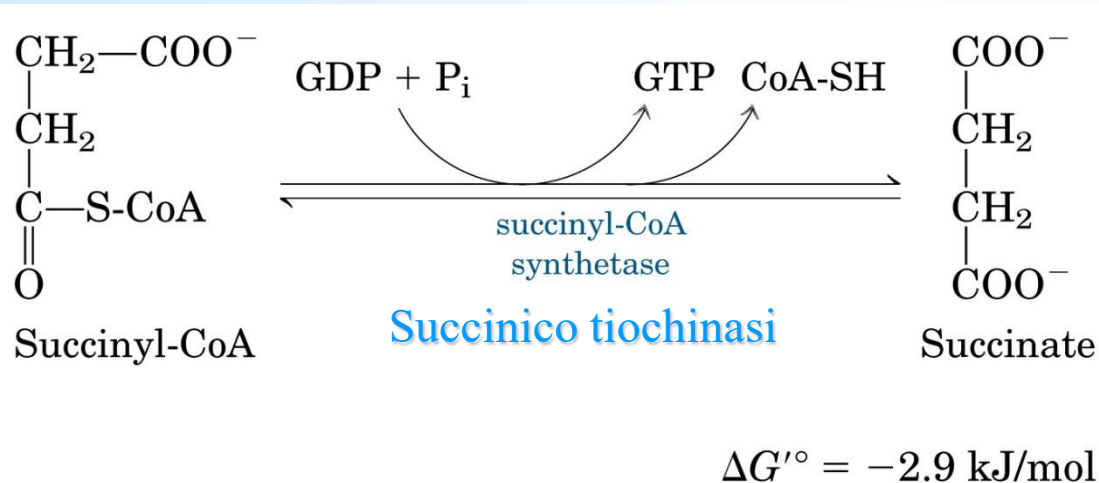
*ISOENZIMA NADP-dipendente presente sia nella matrice mitocondriale che nel citoplasma ha la funzione di generare NADPH, coenzima essenziale per le reazioni anaboliche riduttive.*



#### 4. TAPPA : OSSIDAZIONE DELL' $\alpha$ -CHETOGLUTARATO A SUCCINIL-CoA E CO<sub>2</sub>

Reazione uguale a quella della piruvato deidrogenasi vista in precedenza.

### FASE 2: rigenerazione dell'ossalacetato



#### 5. TAPPA: CONVERSIONE DEL SUCCINIL-CoA A SUCCINATO E GTP

*L'energia rilasciata dall'idrolisi del legame tioestere viene usata per la sintesi di GTP*

## Tappa 5: fosforilazione a livello di substrato

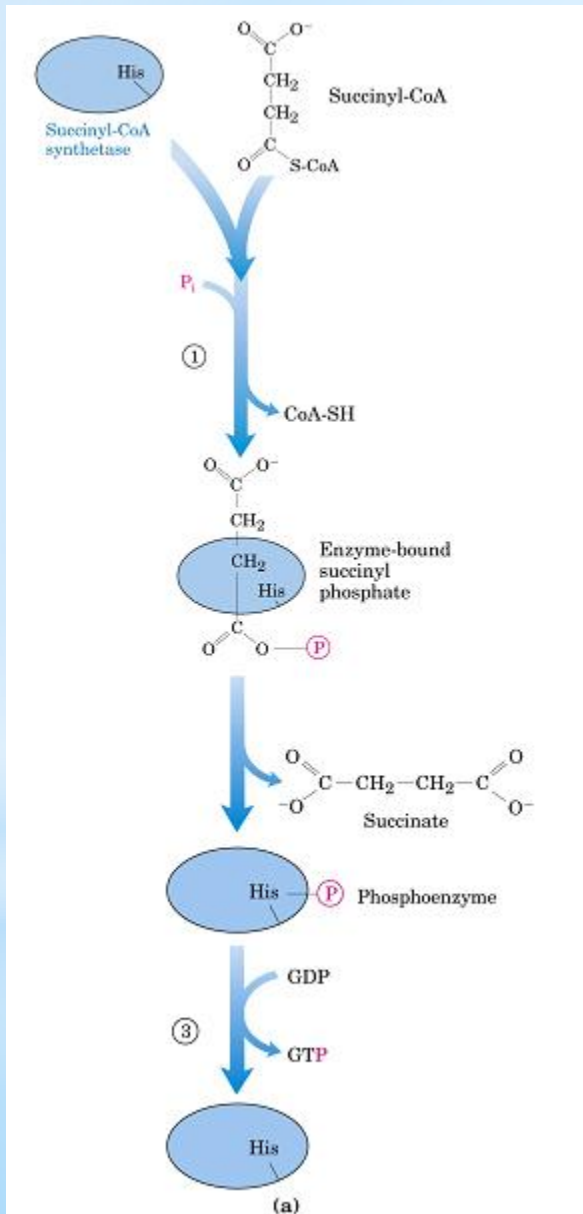
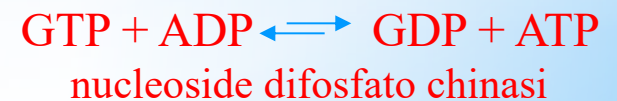
*Il gruppo fosfato libero  
sostituisce il CoA-SH*

*Il gruppo fosfato è  
donato all'istidina  
dell'enzima,  
producendo un  
fosfoistidil-enzima*

*Il fosfato è trasferito al  
GDP*

*Negli animali, le cellule  
epatiche contengono  
principalmente succinil-CoA  
sintetasi legata al GTP,  
mentre nel cervello e nel  
cuore predomina l'enzima  
legato all'ATP.*

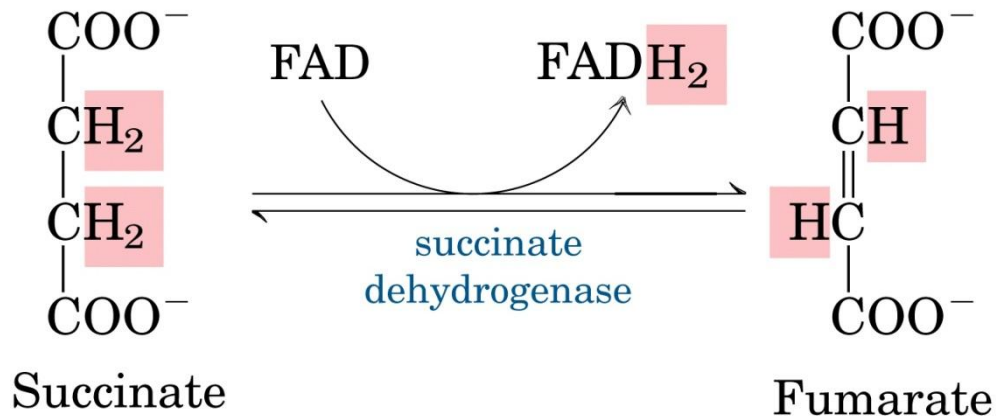
Il GTP formato può donare il  
suo gruppo fosforico all'ADP



## 6. TAPPA

### OSSIDAZIONE DEL SUCCINATO A FUMARATO

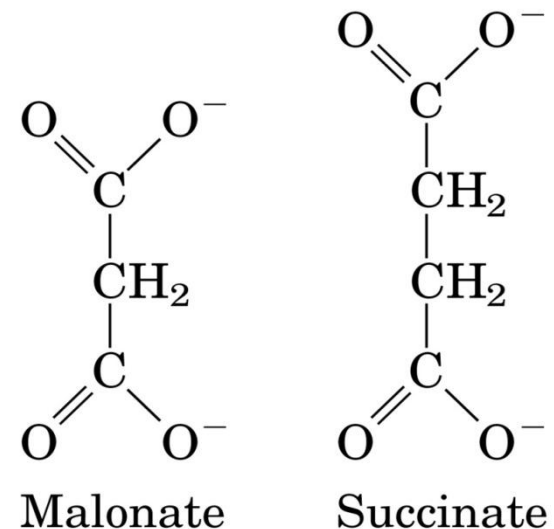
*Negli eucarioti la succinato deidrogenasi è legata saldamente alla membrana interna dei mitocondri, nei procarioti alla membrana plasmatica.*

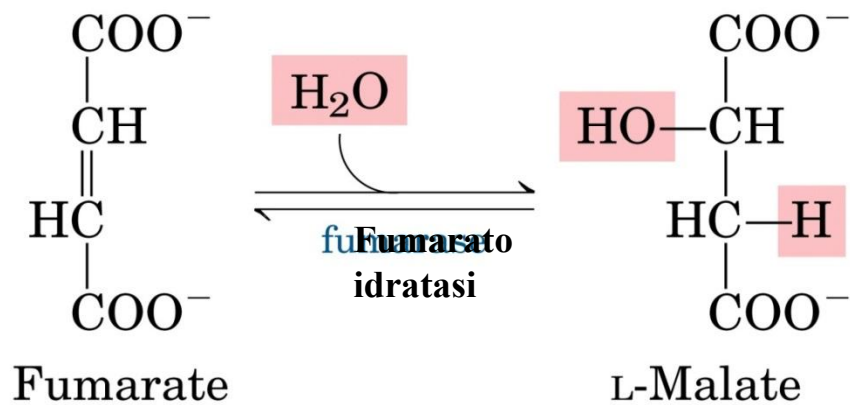


$$\Delta G'^{\circ} = 0 \text{ kJ/mol}$$

*L'enzima contiene tre diversi centri ferro-zolfo ed una molecola di FAD legata covalentemente*

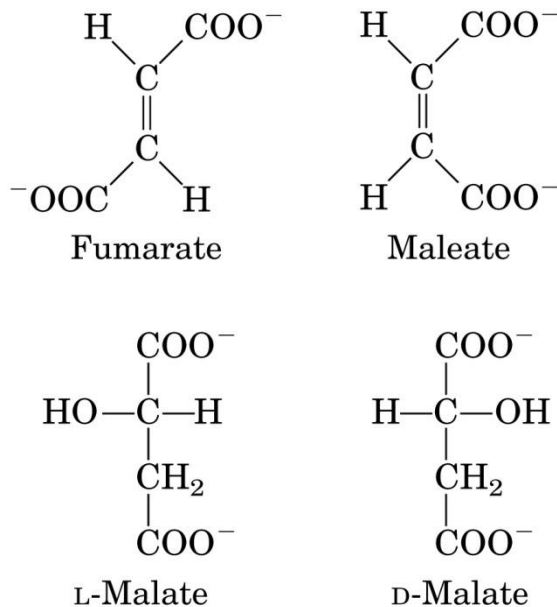
***Il malonato analogo al succinato è inibitore competitivo dell'enzima***





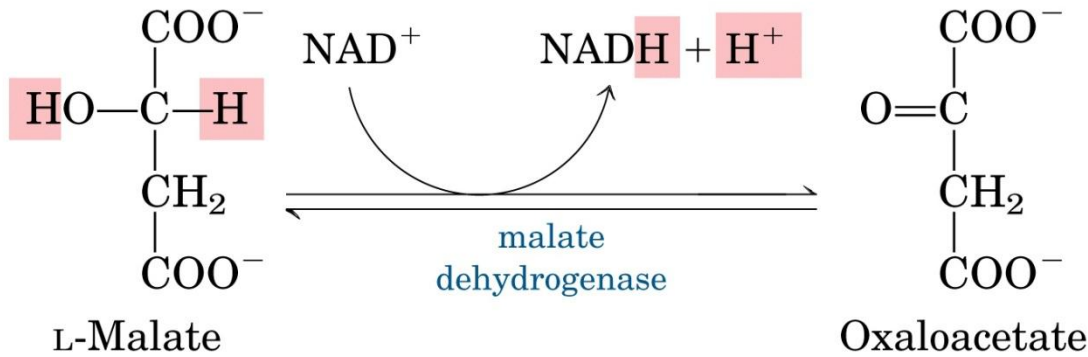
$$\Delta G'^{\circ} = -3.8 \text{ kJ/mol}$$

**7. TAPPA IDRATAZIONE  
DEL FUMARATO PER  
PRODURRE MALATO**



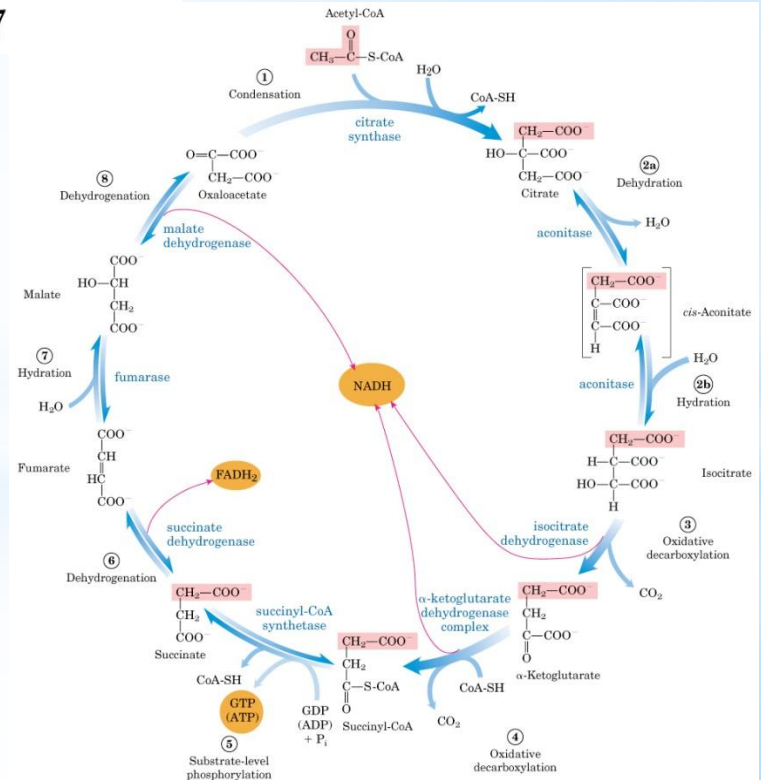
*Reazione altamente stereospecifica, l'enzima non reagisce con l'isomero cis del fumarato, il maleato, e la reazione inversa non può procedere con il D-malato.*

## 8. TAPPA OSSIDAZIONE DEL MALATO AD OSSALACETATO



$$\Delta G'^{\circ} = 29.7$$

*Nelle condizioni termodinamiche standard la reazione è endoergonica ma nella cellula l'ossalacetato è rimosso continuamente dalla reazione altamente esoergonica della citrato sintasi*



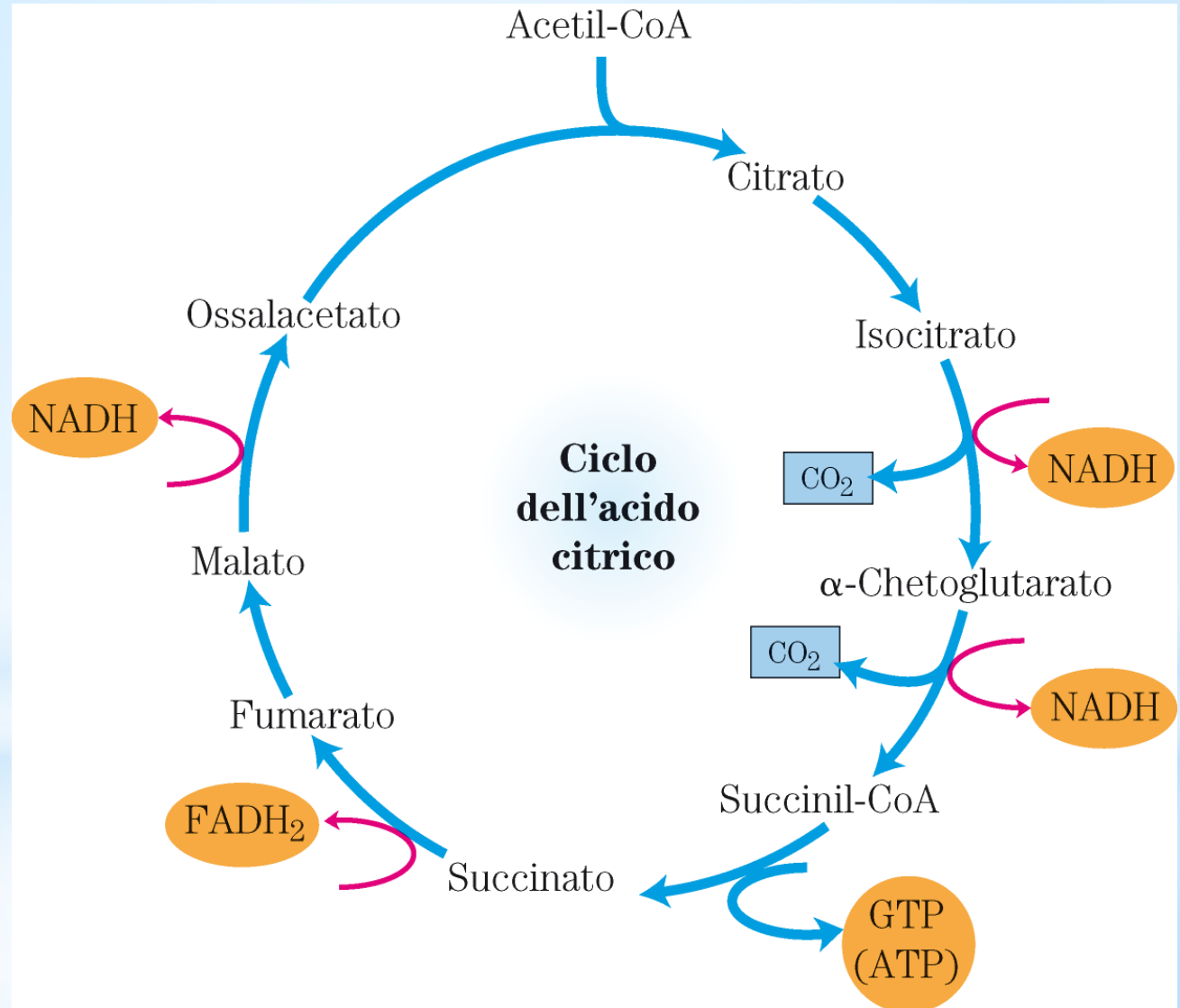
## I prodotti di un giro del ciclo dell'acido citrico

Ogni giro del ciclo produce:

**3 molecole di NADH**

**1 molecola di FADH<sub>2</sub>**

**ed una di GTP**



**table 16–1**

**Stoichiometry of Coenzyme Reduction and ATP Formation in the Aerobic Oxidation of Glucose via Glycolysis, the Pyruvate Dehydrogenase Reaction, the Citric Acid Cycle, and Oxidative Phosphorylation**

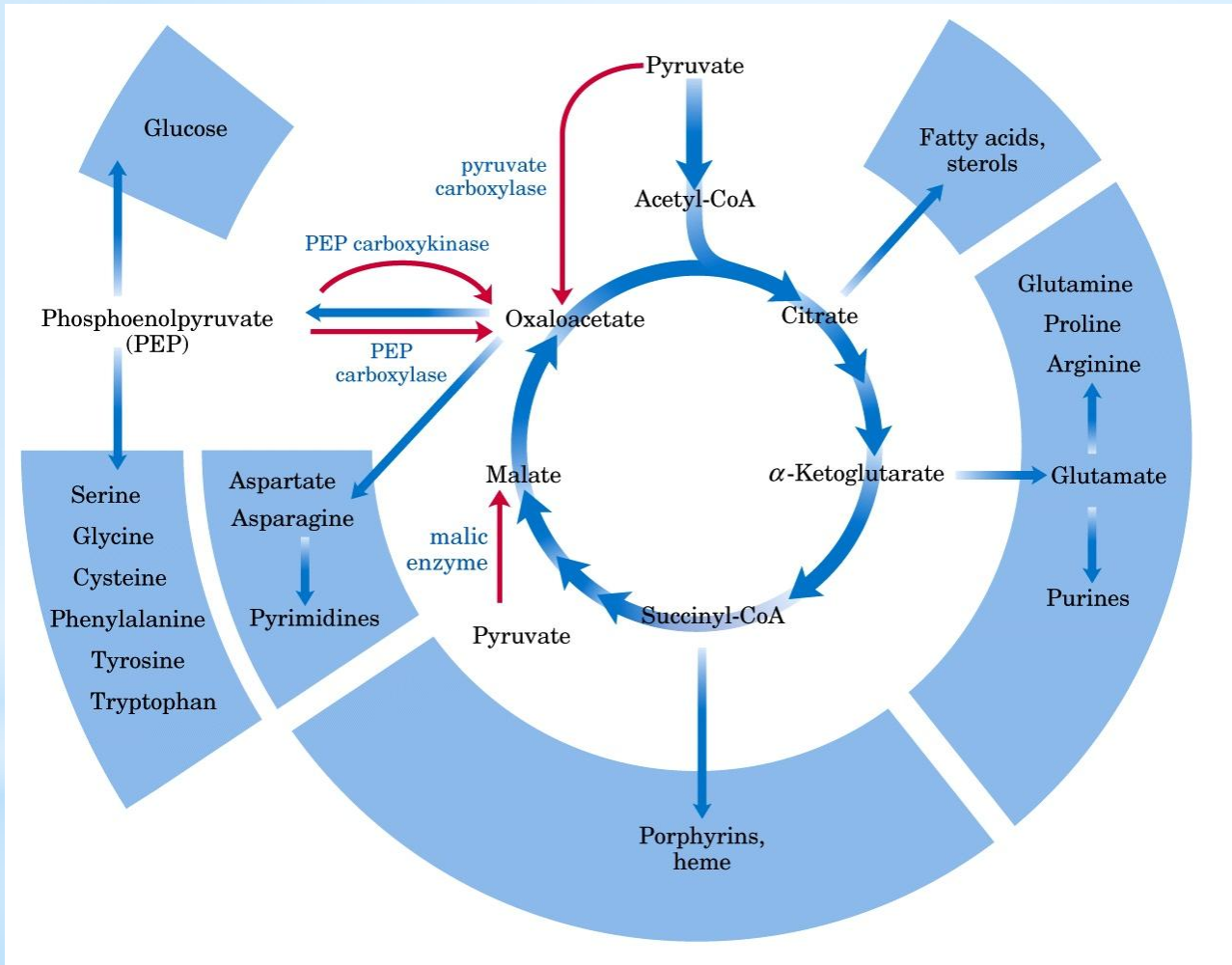
<b>Reaction</b>	<b>Number of ATP or reduced coenzymes directly formed</b>	<b>Number of ATP ultimately formed*</b>
Glucose → glucose 6-phosphate	–1 ATP	–1
Fructose 6-phosphate → fructose 1,6-bisphosphate	–1 ATP	–1
2 Glyceraldehyde 3-phosphate → 2 1,3-bisphosphoglycerate	2 NADH	3–5
2 1,3-Bisphosphoglycerate → 2 3-phosphoglycerate	2 ATP	2
2 Phosphoenolpyruvate → 2 pyruvate	2 ATP	2
2 Pyruvate → 2 acetyl-CoA	2 NADH	5
2 Isocitrate → 2 α-ketoglutarate	2 NADH	5
2 α-Ketoglutarate → 2 succinyl-CoA	2 NADH	5
2 Succinyl-CoA → 2 succinate	2 ATP (or 2 GTP)	2
2 Succinate → 2 fumarate	2 FADH <sub>2</sub>	3
2 Malate → 2 oxaloacetate	2 NADH	5
<b>Total</b>		<u>30–32</u>

\*This is calculated as 2.5 ATP per NADH and 1.5 ATP per FADH<sub>2</sub>. A negative value indicates consumption.

# VIA ANFIBOLICA

## Ruolo anabolico

*Serve sia ai processi catabolici che anabolici*



*Ossalacetato e  $\alpha$ -chetoglutarato danno gli a.a. aspartato e glutammato.*

*In alcuni tessuti il citrato è trasportato nel citosol, dove viene impiegato nella sintesi degli acidi grassi*

Gli intermedi del ciclo che vengono sottratti per la biosintesi devono essere reintegrati

# REAZIONI ANAPLEROTICHE

table 16-2

## 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

# CONCETTI CHIAVE

## *Le tre fasi del metabolismo ossidativo*

Fase	Processo	Prodotto
1 <sup>a</sup>	Ossidazione di grassi, glucosio e aa → frammenti a 2C	Acetil-CoA
2 <sup>a</sup>	Ciclo dell'acido citrico → ossidazione dei gruppi acetilici	CO <sub>2</sub> + NADH + FADH <sub>2</sub>
3 <sup>a</sup>	Catena respiratoria → trasferimento di e <sup>-</sup> all'O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O + ATP

### *Complesso della Piruvato Deidrogenasi*

- Localizzato nella matrice mitocondriale (eucarioti) e nel citosol (procarioti).
- Complesso multienzimatico con 3 enzimi e 5 gruppi prostetici: TPP, FAD, CoA-SH, NAD e acido lipoico.

## ***Le 8 tappe del ciclo di Krebs***

1. Formazione del citrato — condensazione aldolica tra acetil-CoA e ossalacetato
2. Isomerizzazione a isocitrato — via il cis-aconitato (proteina ferro-zolfo)
3. Ossidazione dell'isocitrato →  $\alpha$ -chetoglutarato + 1<sup>a</sup> CO<sub>2</sub> (isocitrato deidrogenasi NAD-dipendente)
4. Ossidazione dell' $\alpha$ -chetoglutarato → succinil-CoA + 2<sup>a</sup> CO<sub>2</sub>
5. Succinil-CoA → succinato + GTP (fosforilazione a livello di substrato)
6. Ossidazione del succinato → fumarato (succinato deidrogenasi con FAD, legata alla membrana)
7. Idratazione del fumarato → L-malato (reazione stereospecifica)
8. Ossidazione del malato → ossalacetato (reazione endoergonica, guidata dalla citrato sintasi)

## ***Bilancio energetico per giro del ciclo***

• 3 NADH + 1 FADH<sub>2</sub> + 1 GTP

## ***Via anfibolica e reazioni anaplerotiche***

- Il ciclo ha un ruolo sia catabolico che anabolico: gli intermedi (ossalacetato,  $\alpha$ -chetoglutarato, citrato) vengono sottratti per biosintesi (amminoacidi, acidi grassi).
- Le reazioni anaplerotiche reintegrano gli intermedi sottratti per mantenere il ciclo attivo.