

# 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 .*

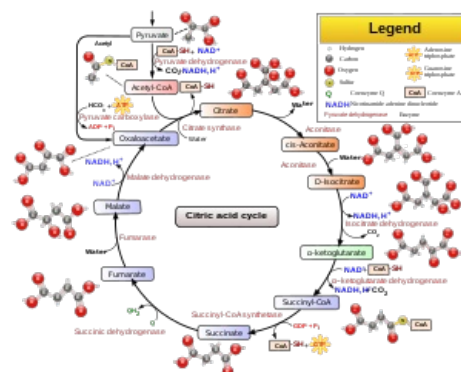


Schéma Krebsova cyklu

## Funkce Krebsova cyklu

### Oxidace acetylových zbytků (dodávaných ve formě acetyl–CoA)

Oxidace acetylových zbytků ( $\text{CH}_3\text{-CO-}$ ) až na konečný  $\text{CO}_2$ . Reakce je zdrojem redukčních ekvivalentů ( $\text{H}^+$ ), které jsou přeneseny na kofaktory  $\text{NAD}^+$  či  $\text{FAD}$  za vzniku redukovaných forem:

- $\text{NADH} + \text{H}^+$ ,
- $\text{FADH}_2$ .

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  $\text{CO}_2$ , 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  $\beta$ –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 $\alpha$ –ketoglutarát

- katalyzována enzymem isocitrátdehydrogenázou
- oxidační dekarboxylace – oxidace –OH skupiny isocitrátu na ketoskupinu (vznik **NADH + H<sup>+</sup>**) za současného odštěpení jedné karboxylové skupiny ve formě **CO<sub>2</sub>**
- nevratná – nejdůležitější regulační reakce

### 4. Oxidace $\alpha$ –ketoglutarátu na sukcinyl–CoA

- katalyzována  $\alpha$ –ketoglutarátdehydrogenázou (multienzymový komplex)
- jde o oxidační dekarboxylaci – dochází k odštěpení další molekuly **CO<sub>2</sub>**
- vznik **NADH + H<sup>+</sup>**
- 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 CO<sub>2</sub> 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 FADH<sub>2</sub>

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

- katalyzováno enzymem fumaráthydratázou (fumarázou)

## 8. Oxidace malátu na oxalacetát

- pomocí enzymu malátdehydrogenázy
- vzniká **NADH + H<sup>+</sup>**
- uzavírá Krebsův cyklus

## Produkty Krebsova cyklu

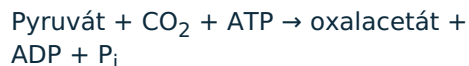
V jedné otočce Krebsova cyklu vznikají **2 CO<sub>2</sub>, 3 NADH + H<sup>+</sup>, 1 FADH<sub>2</sub> a 1 GTP** (možno směnit za ATP).

Oxid uhlíčitý difunduje z mitochondrie a na konci je vyloučen v plicích. Redukované kofaktory (NADH + H<sup>+</sup>, FADH<sub>2</sub>) 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.

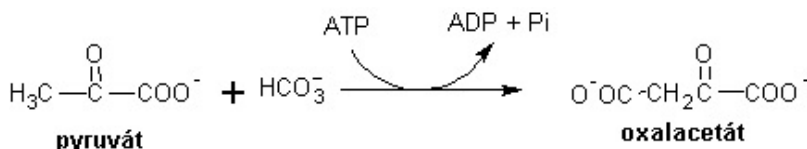
## Doplňovací (anaplerotické) reakce

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

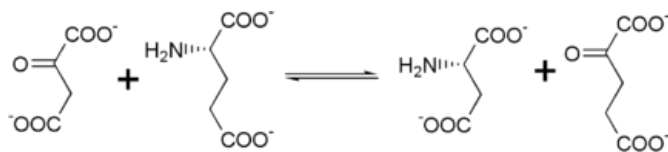


- vznik **oxalacetátu**
- reakci katalyzuje enzym pyruvátkarboxyláza (kofaktorem je biotin – vitamin B7)



### 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<sup>+</sup> – respirační kontrola.
2. Poměr ATP / (ADP a AMP) – energetická kontrola.

### Poměr NADH / NAD<sup>+</sup> - respirační kontrola

Pokračováním Krebsova cyklu je dýchací řetězec, kde dochází k reoxidaci redukovaných kofaktorů. Pokud se **hromadí NADH + H<sup>+</sup> a FADH<sub>2</sub>** (zvyšuje se poměr NADH / NAD<sup>+</sup>), dojde k inhibici α-ketoglutarátdehydrogenázy a isocitrátdehydrogenázy.

### Poměr ATP / (ADP a AMP) - energetická kontrola

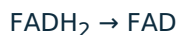
Je-li dostatek energie, inhibuje se α-ketoglutarátdehydrogenáza a isocitrátdehydrogenáza.

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

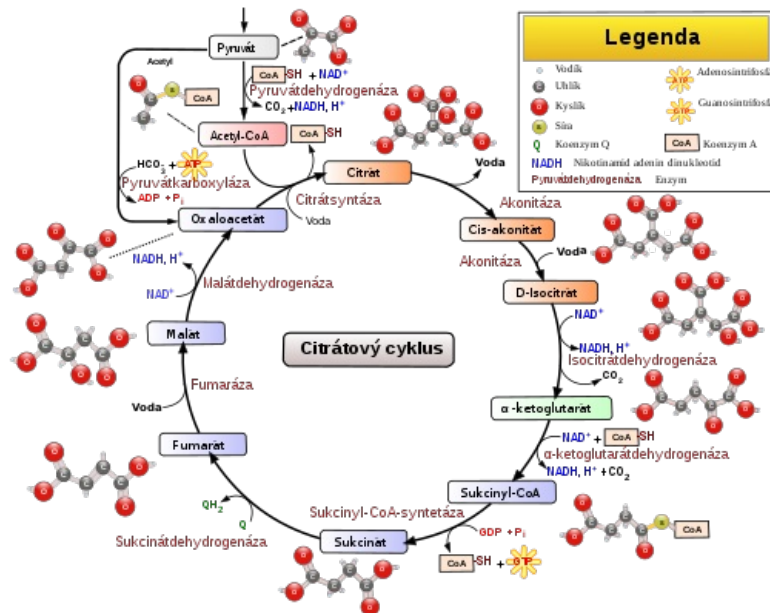
### Dostupnost substrátů Krebsova cyklu - substrátová kontrola

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

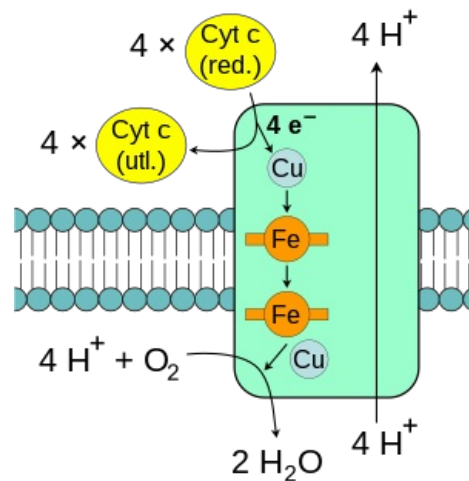
Aktivita Krebsova cyklu rovněž souvisí s dostupností O<sub>2</sub>. I přesto, že žádná z reakcí v cyklu nevyžaduje O<sub>2</sub>, je kyslík potřebný pro respirační řetězec, protože zde slouží jako finální akceptor elektronů. V respiračním řetězci se reoxidují:



Jestliže buňka postrádá O<sub>2</sub>, klesá koncentrace NAD<sup>+</sup> a FAD a následně se sníží i aktivita Krebsova cyklu.



Krebsův cyklus



Komplex IV v dýchacím řetězci