

CICLO DE KREBS

Material elaborado por: J. Monza, S. Doldán y S. Signorelli.

En las células aerobias distintas vías catabólicas convergen en el ciclo de Krebs

El ciclo de Krebs (de los ácidos tricarbóxicos o del ácido cítrico) es una vía metabólica presente en todas las células aerobias, es decir, las que utilizan oxígeno como aceptor final de electrones en la respiración celular. En los organismos aerobios las rutas metabólicas responsables de la degradación de los glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos convergen en el ciclo de Krebs, que a su vez aporta poder reductor a la cadena respiratoria y libera CO_2 (figura 1).

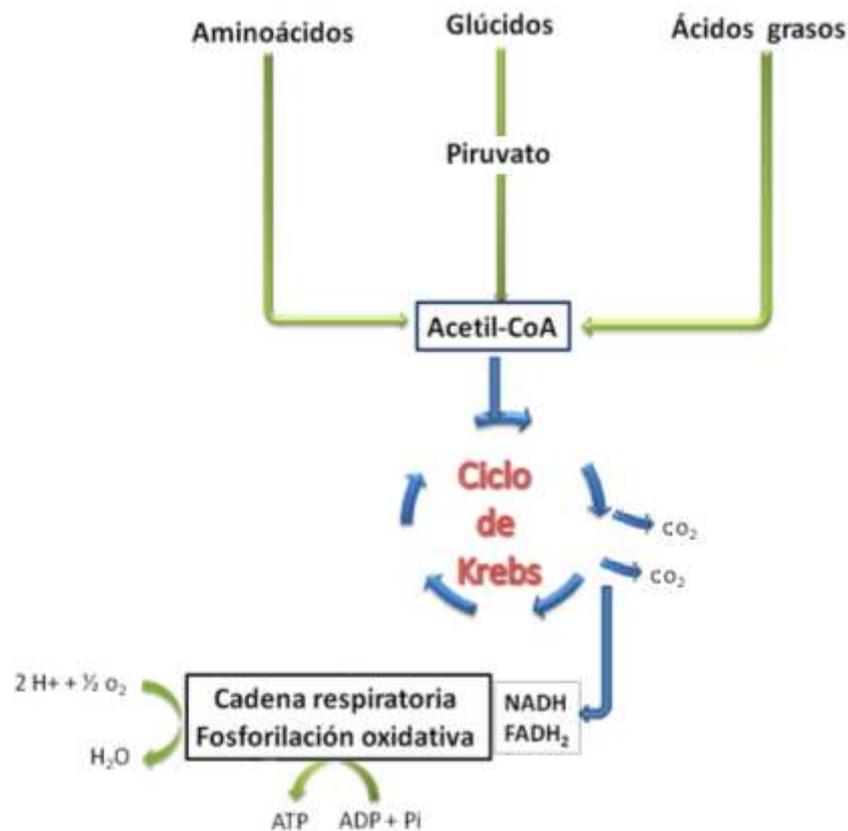


Figura 1. Visión panorámica de la convergencia de las vías catabólicas de glúcidos, aminoácidos y ácidos grasos al ciclo de Krebs. Los hidrógenos presentes en esas moléculas son los que abastecen a la cadena respiratoria desde el NAD o FAD, hasta combinarse con el oxígeno y formar agua. Los carbonos se eliminan como CO_2 .

- El catabolismo oxidativo de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos puede dividirse en tres etapas, de las cuales el ciclo de Krebs es la segunda. En la primera etapa, que incluye a las vías catabólicas de ácidos grasos y a la glucólisis se genera acetil-CoA (2C). Los aminoácidos pueden dar indirectamente acetil CoA, o directamente intermediarios del ciclo de Krebs. En la tercera etapa el poder reductor aportado por el ciclo de Krebs es drenado hasta el oxígeno a través de los transportadores de cadena respiratoria (NADH.H, FADH_2 , CoQ y citocromos) y parte de la energía liberada se emplea en la síntesis de ATP por fosforilación oxidativa (figura 1).
- El ciclo de Krebs es una ruta anfibólica: participa en procesos catabólicos y anabólicos. El ciclo proporciona α -cetoglutarato y oxalacetato para la síntesis de glutamato y aspartato respectivamente, entre otras moléculas fundamentales para la célula.

El piruvato genera la principal molécula abastecedora del ciclo: la acetil coenzima A

- La reacción de oxidación - decarboxilación del piruvato es el nexo entre la glucólisis y el ciclo de Krebs. Esta reacción irreversible es catalizada por un complejo enzimático (piruvato deshidrogenasa) localizado en la matriz mitocondrial de eucariotas, y en el citosol de procariontas (figura 2).
- El piruvato pierde el grupo carboxilo como CO₂, y los dos carbonos restantes unidos a la CoA conforman la acetil-CoA (figura 2). En la reacción se reduce un NAD a NADH.H que a su vez cede los H a los otros transportadores de cadena respiratoria, con la consecuente formación de 3 ATP.

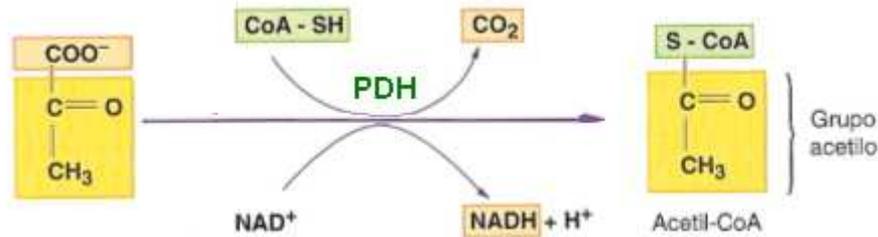


Figura 2. Reacción resumen de la descarboxilación oxidativa del piruvato. PDH (piruvato deshidrogenada).

Una visión panorámica del ciclo de Krebs

- La acetil-CoA generada por los diferentes catabolismos se condensa con el oxalacetato y genera citrato. A través de 7 reacciones de oxidación y descarboxilación sucesivas (de la 2 a la 8, figura 3) se regenera oxalacetato, capaz de iniciar un nuevo ciclo.

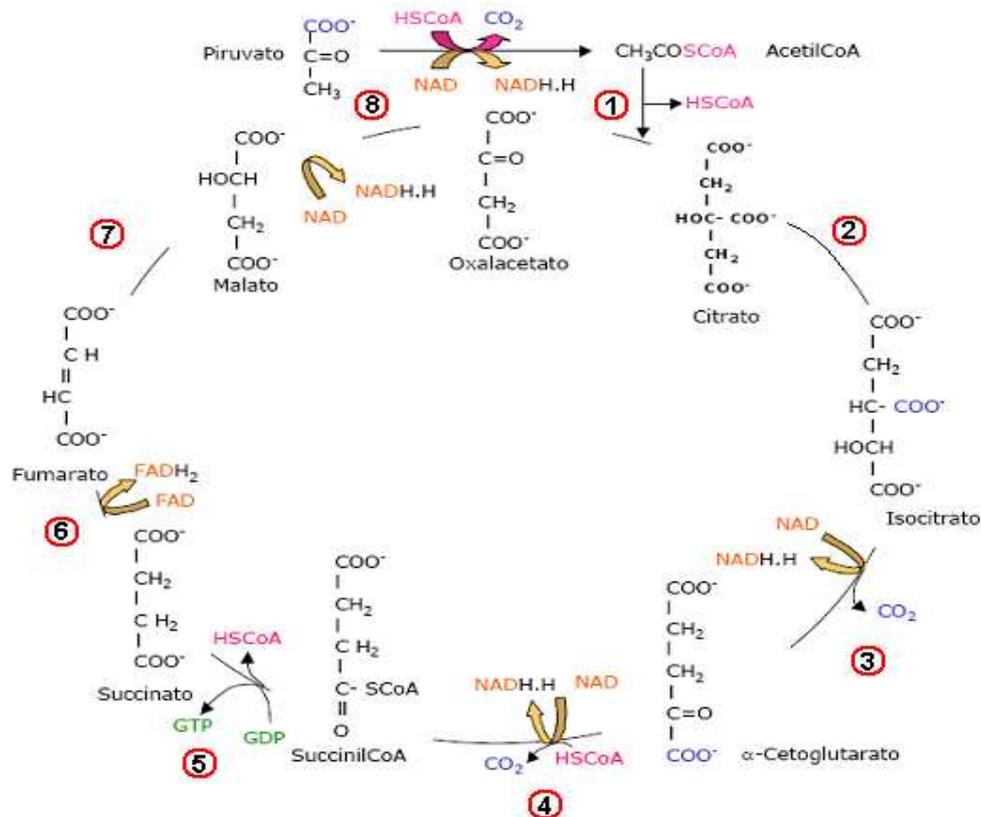


Figura 3. Representación del ciclo de Krebs. Cada reacción se indica con un número.

- En cuatro reacciones del ciclo ocurren oxidación de intermediarios y reducción de coenzimas de cadena respiratoria: tres NAD y un FAD (figura 3). Esas moléculas reducidas que integran la cadena respiratoria se reoxidan, y parte de la energía liberada se usa para fosforilar el ADP a ATP. En el ciclo propiamente dicho se produce una fosforilación a nivel de sustrato que produce un GTP, que equivale energéticamente a un ATP.

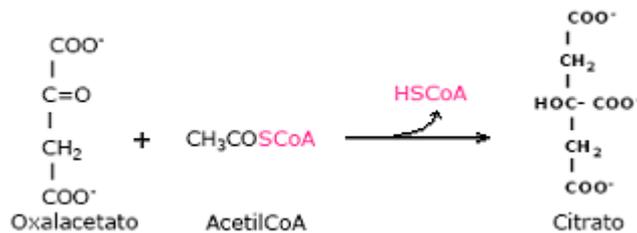
El ciclo se puede resumir en la siguiente ecuación:



Las reacciones del ciclo

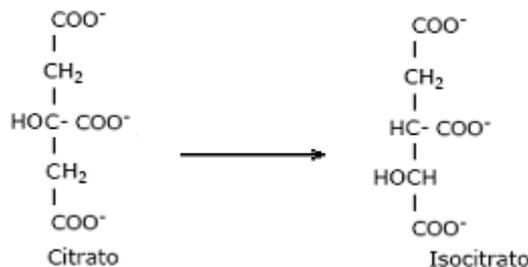
- Reacción 1: condensación del oxalacetato con la acetil CoA**

La enzima citrato sintasa condensa a la acetil-CoA (2C) con el oxalacetato (4C) para dar una molécula de citrato (6C). Como consecuencia de esta condensación se libera la coenzima A (HSCoA). La reacción es fuertemente exérgica: es irreversible.



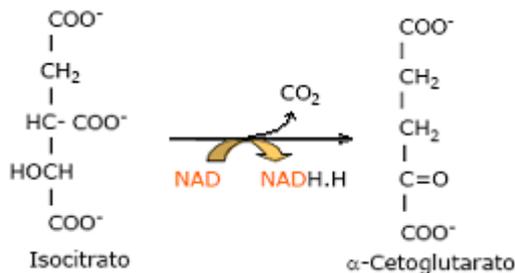
- Reacción 2: isomerización del citrato a isocitrato**

La isomerización del citrato en isocitrato ocurre por dos reacciones, que se resumen en una.



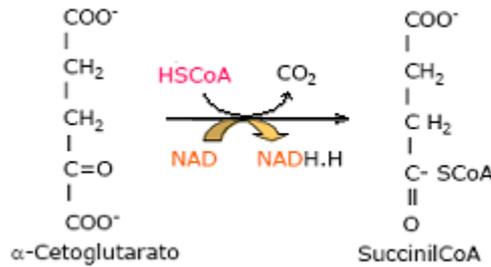
- Reacción 3: oxidación y descarboxilación del isocitrato**

El isocitrato es sustrato de la isocitrato deshidrogenasa, enzima que tiene como cofactor un NAD, que forma parte de la cadena respiratoria. En la reacción 3 se resumen dos reacciones a partir de las cuales el isocitrato forma α-cetoglutarato (5C). Para lograr ese producto ocurre una descarboxilación, es decir la liberación de una molécula de CO₂, y la reducción de un NAD que permite la formación de 3 ATP.



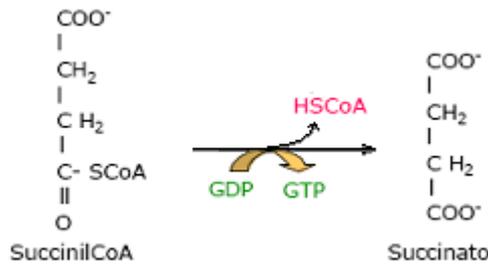
• **Reacción 4: el α -cetoglutarato se transforma en succinil-CoA**

Este paso implica la segunda descarboxilación oxidativa, catalizada por la α -cetoglutarato deshidrogenasa, que lleva a la formación de succinil-CoA (4C). El NAD es la coenzima de la deshidrogenasa, de manera que se formarán 3 ATP como consecuencia de la actividad de cadena respiratoria.



• **Reacción 5: la succinil-CoA rinde succinato y GTP**

La succinil-CoA, es un tioéster de alta energía con un ΔG° de hidrólisis de $-33.5 \text{ KJ.mol}^{-1}$ aproximadamente. La energía liberada por la ruptura de ese enlace se utiliza para generar un enlace fosfoanhidro entre un fosfato y un GDP para dar 1GTP por fosforilación a nivel de sustrato. En la reacción se libera HSCoA.

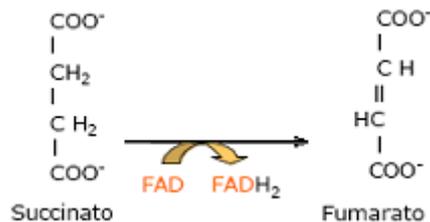


El GTP se puede convertir en ATP según la siguiente reacción:



• **Reacción 6: el succinato se transforma en fumarato**

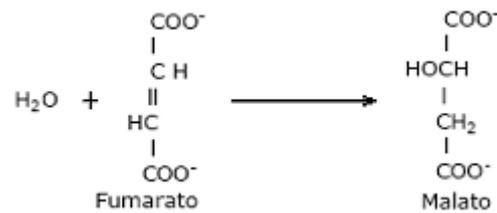
El succinato es oxidado a fumarato por la succinato deshidrogenasa, enzima que tiene como cofactor al FAD: se producen 2ATP en la cadena respiratoria. La enzima usa FAD porque la energía asociada a la reacción no es suficiente para reducir al NAD.



El complejo enzimático de la succinato deshidrogenasa es el único del ciclo que está asociado a la membrana mitocondrial de eucariotas, y en la membrana plasmática de procariotas.

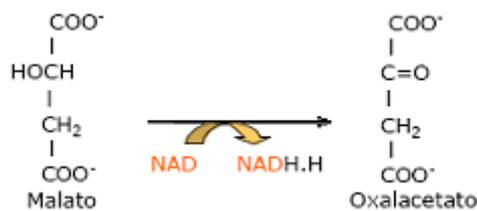
- **Reacción 7: el fumarato se hidrata y genera malato**

La fumarasa cataliza la adición de agua, es decir la hidratación del fumarato. El producto de la reacción es el malato.



- **Reacción 8: el malato se oxida a oxalacetato**

Dada la naturaleza cíclica de la vía, las reacciones en su conjunto conducen a la regeneración del oxalacetato. La malato deshidrogenasa cataliza la oxidación del malato a oxalacetato, con la reducción de un NAD: se forman 3 ATP en la cadena respiratoria.



Regulación del Ciclo de Krebs

La regulación del ciclo hace posible la producción de moléculas de acuerdo a las necesidades celulares, y asegura que no ocurra sobre o sub producción en un momento dado. La regulación del ciclo se da en diferentes puntos, porque puede alimentarse o ser abastecido a través de cualquiera de sus intermediarios. La regulación es compleja en comparación con la de vías catabólicas como la glucólisis, y se considerarán situaciones de regulación relacionadas al estado energético celular.

- La regulación de las enzimas es por modulación alostérica, por modificación covalente y por acumulación de productos. La "lógica" de la regulación se rige principalmente por la relación ATP/ADP y NADH.H/NAD, así como por las concentraciones de algunos intermediarios del ciclo.
- Las relaciones entre ATP/ADP y NADH.H/NAD están relacionadas entre sí a través de la fosforilación oxidativa que ocurre en la cadena respiratoria, y ambas son señales del estado energético de la célula.

A continuación se presentan tres situaciones regulatorias, relacionadas a la energía celular momentánea.

Situación 1: regulación de la principal reacción abastecedora del ciclo

El complejo piruvato deshidrogenasa (PDH) de vertebrados, que cataliza la transformación de piruvato en acetilCoA, es un punto de regulación clave porque la acetilCoA es la principal molécula abastecedora del ciclo. La regulación se logra por dos mecanismos: alosterismo y modificación covalente de la enzima.

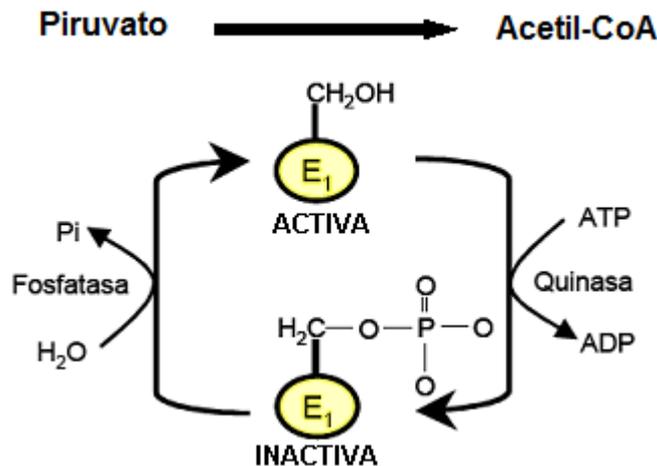


Figura 4. Esquema de la regulación de la actividad de la piruvato deshidrogenasa (PDH) a través de la fosforilación/desfosforilación de serinas de la subunidad E1 de esta enzima. La quinasa es inhibida alostéricamente por el ATP, de manera que cuando los niveles de este son elevados el complejo PDH es inactivado por fosforilación. Cuando desciende la concentración de ATP celular, la actividad quinasa decrece y la actividad fosfatasa se incrementa y elimina el fosfato de la subunidad E1 convirtiendo a la enzima en su estado activo.

- Cuando las relaciones ATP/ADP, NADH.H/ NAD y acetil-CoA/ HSCoA son altas la enzima PDH es modulada negativamente. Cualquiera de las tres relaciones indican que en la célula hay un estado metabólico rico en energía. Cuando esas relaciones descienden la enzima se activa, se incrementa entonces la oxidación del piruvato y se sintetiza acetil CoA.
- La regulación de la PDH a través de la subunidad E1 (figura 4) es por modificación covalente de la enzima, a la que una quinasa fosforila y una fosfatasa desfosforila residuos específicos de serinas. Para que la quinasa fosforile a E1 debe haber alta concentración de ATP, que es un modulador positivo de la quinasa, que está regulada entonces alostéricamente. Cuando aumenta la concentración de ADP la actividad quinasa desciende y se incrementa la fosfatasa, que desfosforila a la enzima que pasa a su forma activa (figura 4).
- Además, la actividad del complejo PDH está modulada negativamente a nivel de la subunidad E2 por alta concentración de acetilCoA y a nivel de la subunidad E3 por alta concentración de NADHH. Es decir, también está regulado alostéricamente a través de distintos moduladores con diferentes subunidades.

Situación 2: regulación de la enzima citrato sintasa

La actividad de la citrato sintasa (reacción 1, figura 3) está regulada por disponibilidad de sus sustratos: la acetil-CoA y el oxalacetato, cuya concentración varía y determina la velocidad de formación de citrato. El ATP es un modulador alostérico negativo de la citrato sintasa, que aumenta la K_M de la enzima por el acetil CoA. Así, cuanto mayor sea la concentración de ATP menor será la actividad de la enzima. Lo mismo produce el aumento de la concentración de NADH.H (figura 5).

Situación 3: regulación de las deshidrogenasas NAD

Los pasos catalizados por las deshidrogenasas NAD dependientes (reacciones 3, 4 y 8, figura 3) regulan la velocidad del ciclo según la relación NADH.H/NAD. Cuando la concentración de NADH.H aumenta la actividad de las deshidrogenasas desciende. El ATP tiene el mismo efecto inhibitor sobre las enzimas, mientras el ADP es un activador (figura 5).

En resumen, si bien no es el único, hay un principio unificador en la regulación: cuando a nivel celular se dan condiciones de alta energía, la célula es capaz de reducir la eficiencia del proceso de producción de ATP, y viceversa (figura 5).

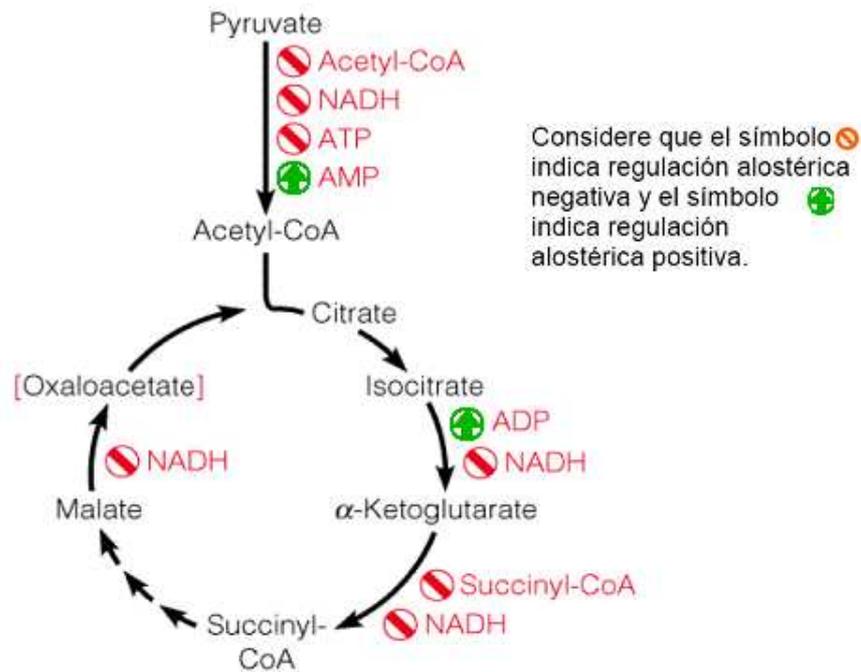


Figura 5. Esquema general de regulación del ciclo de Krebs. Tomado de Bioquímica, Mathews y van Holde, Editorial McGraw Hill – Interamericana.

Un balance posible de la degradación total de la glucosa

Para calcular la energía que se obtiene de la glucosa se pueden establecer cuatro instancias en su degradación: glucólisis, descarboxilación oxidativa del piruvato, ciclo de Krebs y cadena respiratoria.

La cantidad de ATP generado difiere según las lanzaderas implicadas y el tipo de célula (procariota o eucariota). En el cuadro 1 se plantea un balance en una célula eucariota, en la que operó sólo la lanzadera del glicerol fosfato.

Tabla 1. Resumen del balance energético en ATP de la degradación total de la glucosa. Se usó para este balance la lanzadera del glicerol fosfato.

Vía metabólica	Proceso	Rendimiento
GLUCÓLISIS	Etapa de gasto de la glucólisis	-2 ATP
	Fosforilación a nivel de sustrato	4 ATP
	Lanzadera del gliceraldehído-3-P	(2 X 2FADH ₂) 4 ATP
DESCARBOXILACIÓN OXIDATIVA	Oxidación del piruvato	(2 X 1NADH) 6 ATP
CICLO DE KREBS	Fosforilación a nivel de sustrato	(2 X 1GTP) 2 ATP
	Isocitrato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa.	(2 X 3NADH) 18 ATP
	Succinato deshidrogenasa	(2 X 1FADH ₂) 4 ATP
TOTAL		36 ATP

El ácido propiónico generado en el rumen ingresa al Ciclo de Krebs como succinil CoA

- En los rumiantes, los microorganismos del rumen producen por fermentación ácidos grasos volátiles (AGV) a partir de los alimentos ingeridos.
- El AGV producido mayoritariamente es el ácido propiónico (3C). Esta molécula mediante dos reacciones produce succinil CoA (figura 6). A partir de esta molécula el hígado puede generar glucosa por glucogénesis.

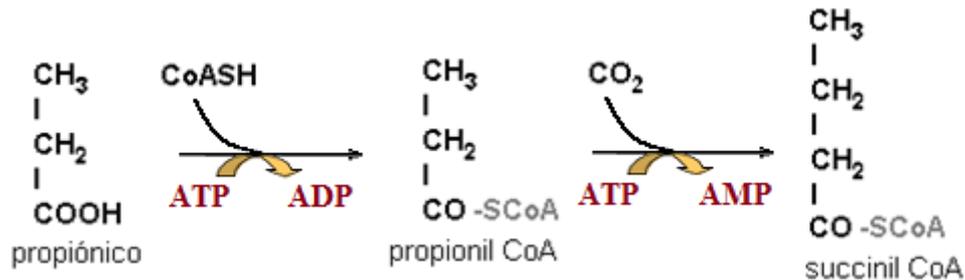


Figura 10. Producción de succinil-CoA a partir del propiónico.

La succinil-CoA ingresa al ciclo de Krebs (figura3) y mediante 3 reacciones (5, 6 y 7) es transformada en malato, que puede salir de la mitocondria por transportadores específicos. Una vez en el citoplasma el malato es convertido en oxalacetato que, mediante el rodeo metabólico saltea la reacción irreversible de Piruvato a PEP, y puede sintetizar glucosa por glucogénesis. Este proceso incluye otras dos reacciones irreversibles en la etapa de hexosas (ver Glucólisis).

Bibliografía

Bioquímica, Mathews y van Holde, Editorial McGraw Hill – Interamericana, 1999.

Links – Videos

<http://www.youtube.com/watch?v=aCypoN3X7KQ&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=3W0sskfORjU&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=iXmw3fR8fh0>