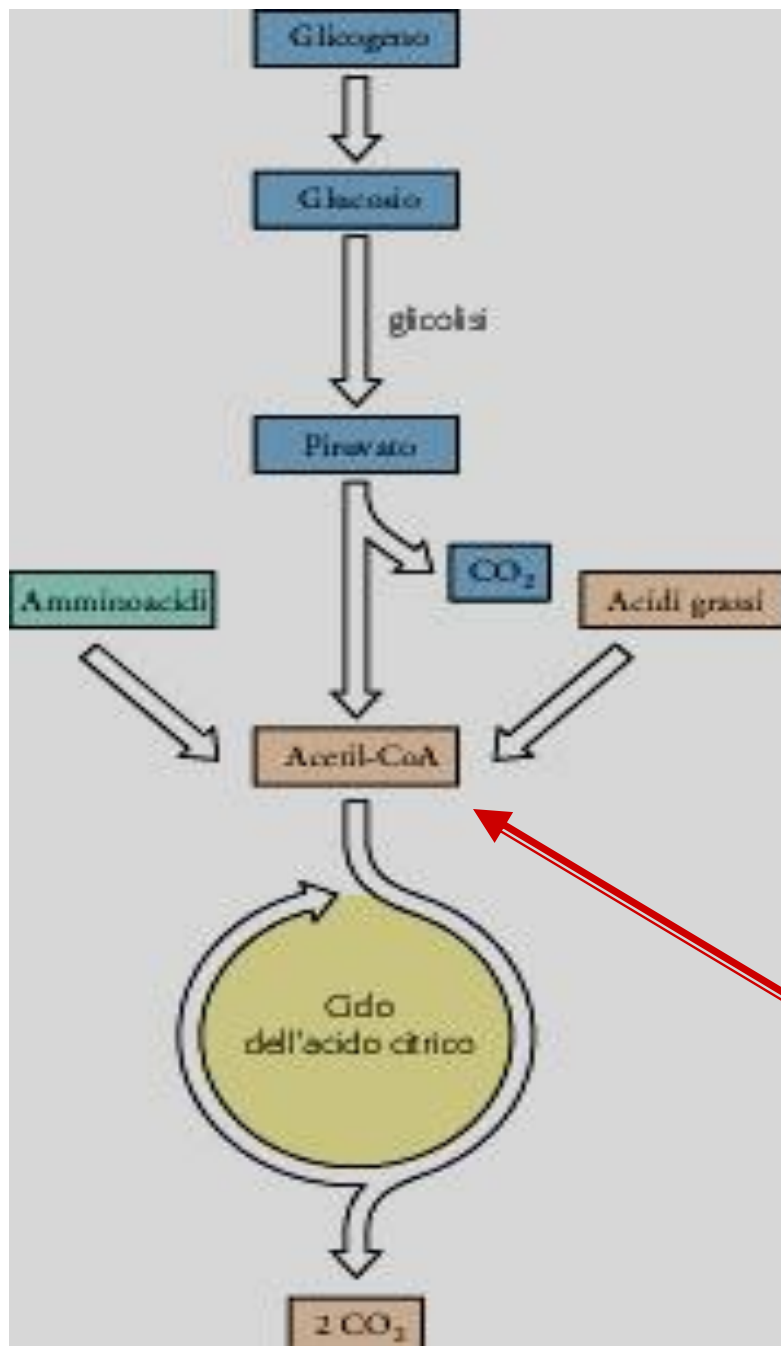


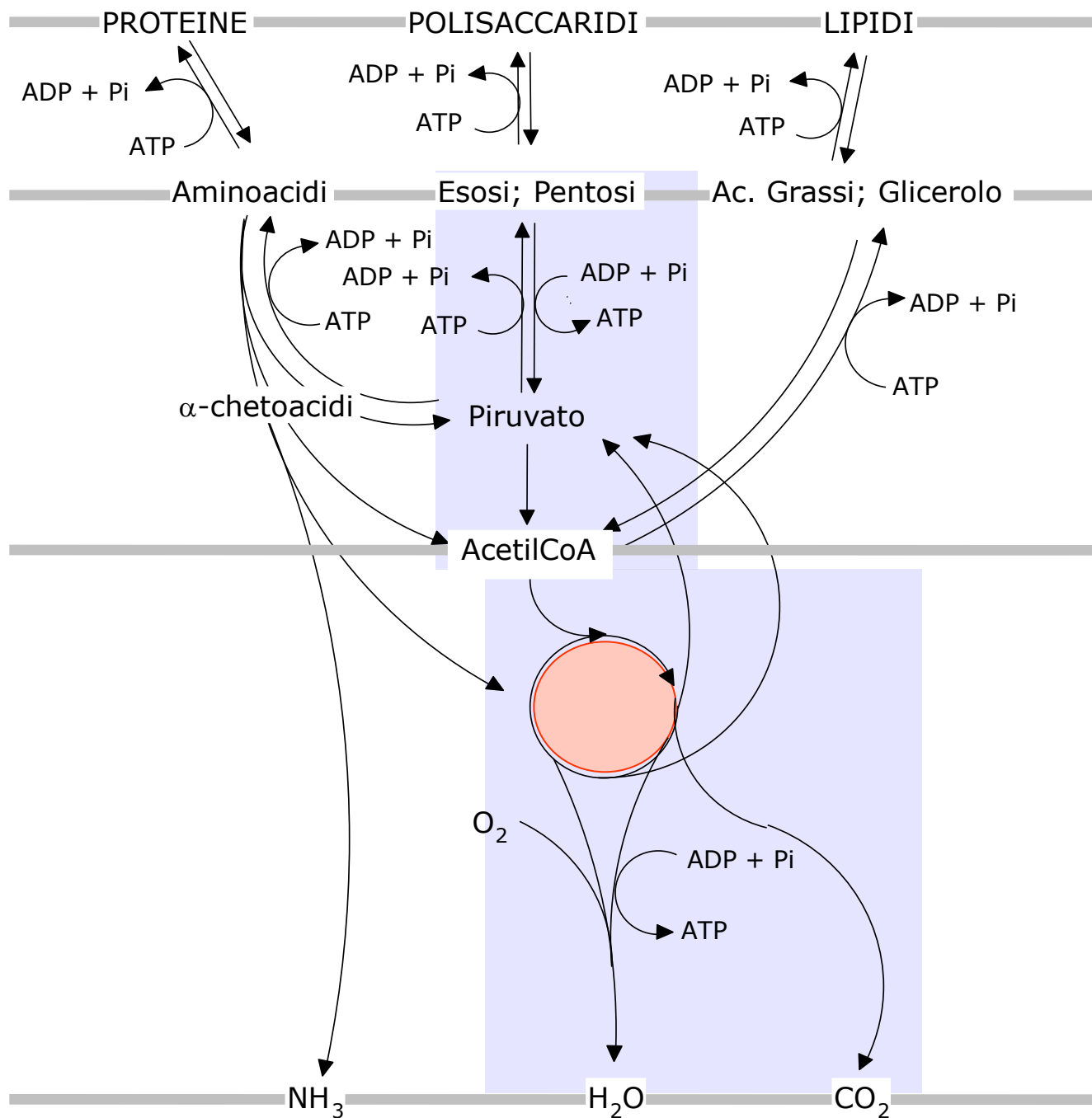
Attenzione:
Lunedì 15 la lezione sarà
dalle 14 alle 16 (al posto
di L. Migliore)

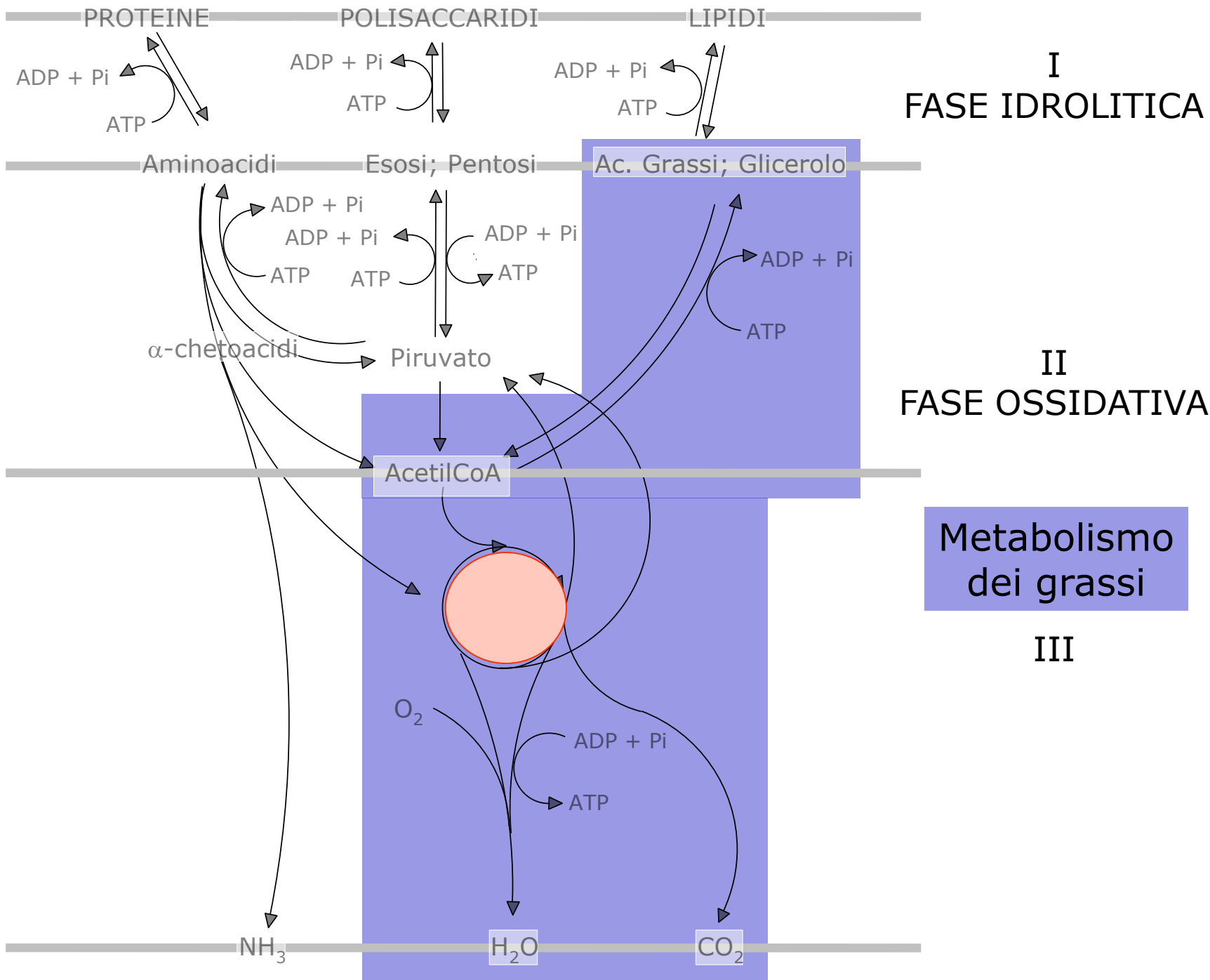


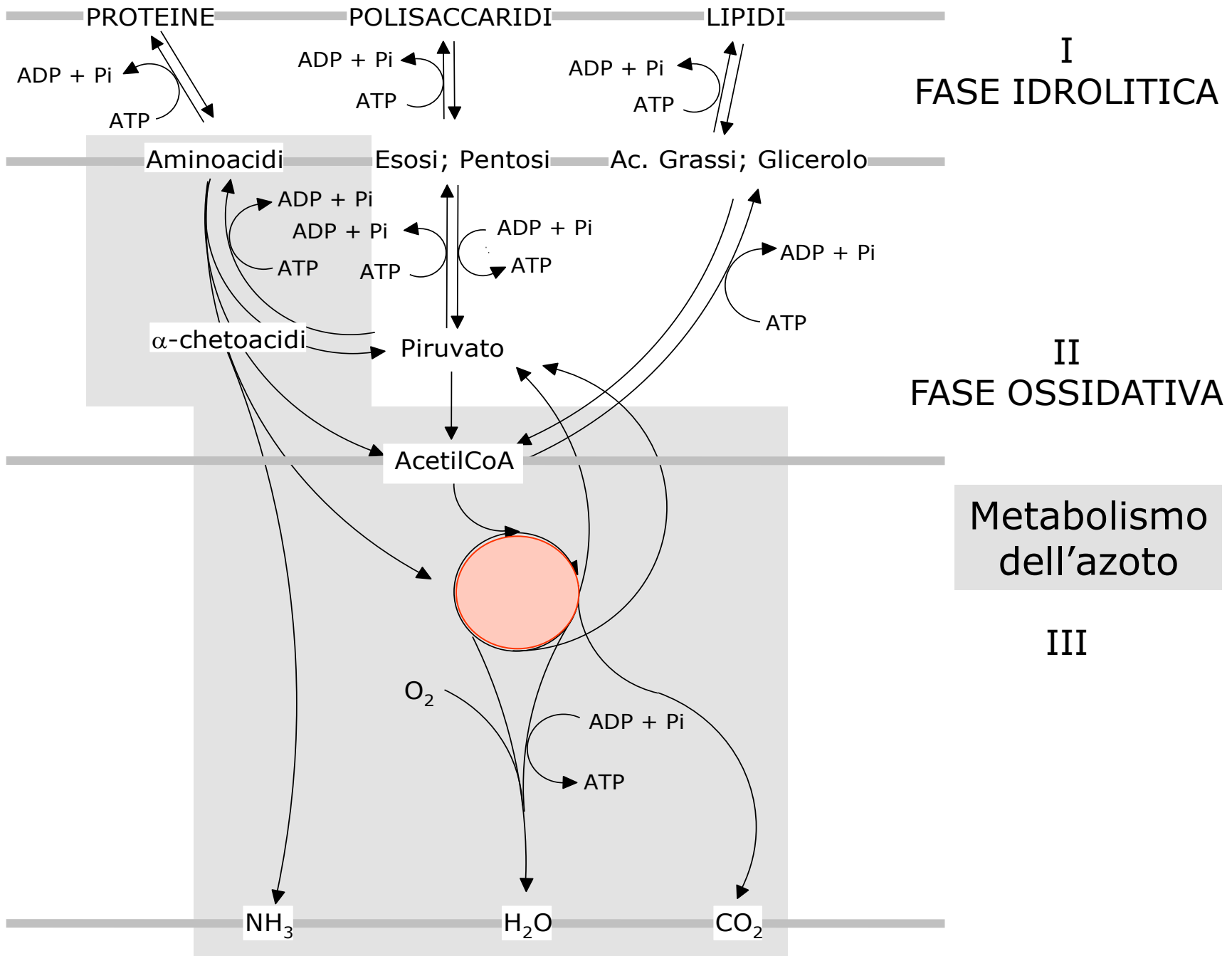
La glicolisi non è l'unica via catabolica in grado di produrre energia. Se il suo prodotto viene ulteriormente ossidato si ottiene molta più energia.

Il ciclo dell'acido citrico è una via metabolica centrale che consente di utilizzare diversi combustibili metabolici oltre al piruvato derivante dalla glicolisi

L'Acetil-CoA è prodotto da diverse vie metaboliche







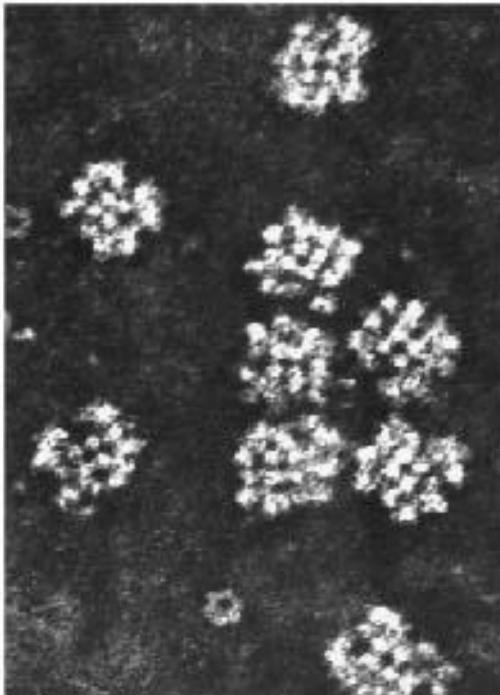
Il ciclo di Krebs non è semplicemente la
continuazione della via glicolitica, ma una
VIA CENTRALE del metabolismo

Il ciclo dell'acido citrico = ciclo di Krebs = ciclo degli
acidi tricarbossilici

negli eucarioti avviene interamente nei mitocondri →
tutti i substrati devono essere prodotti nei mitocondri
oppure devono venire trasportati all'interno di essi. I
prodotti e gli intermedi devono essere utilizzati
all'interno dei mitocondri o trasportati nel citosol
successivamente.



La reazione è catalizzata dal **complesso multienzimatico della piruvato deidrogenasi**.

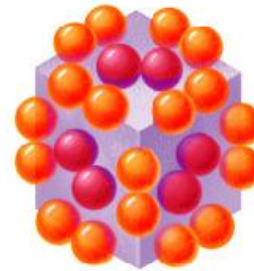


(a)

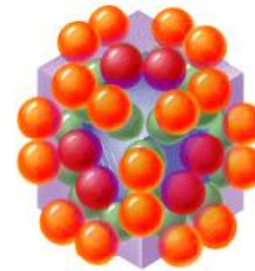
(a)



(b)

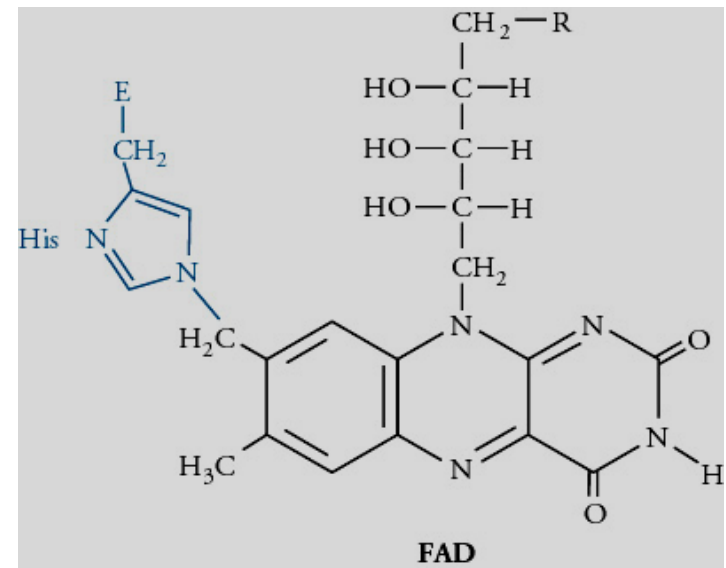
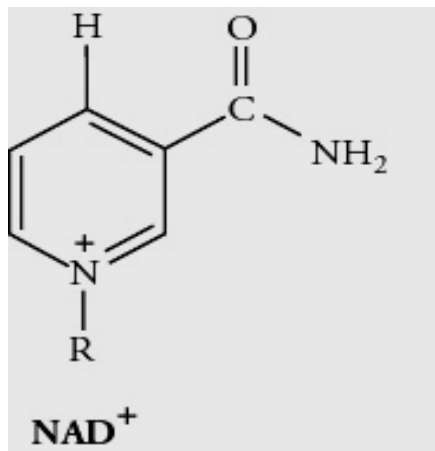
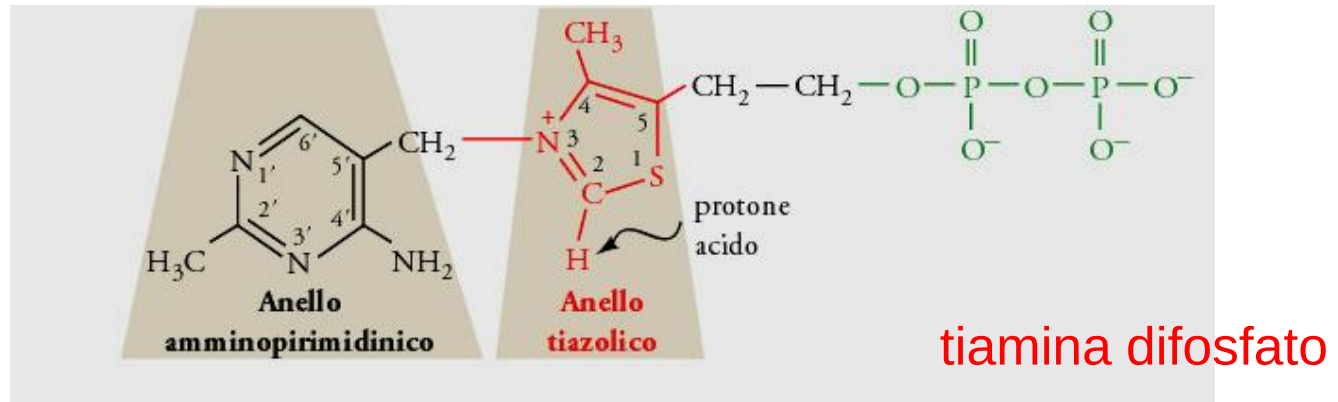


(c)

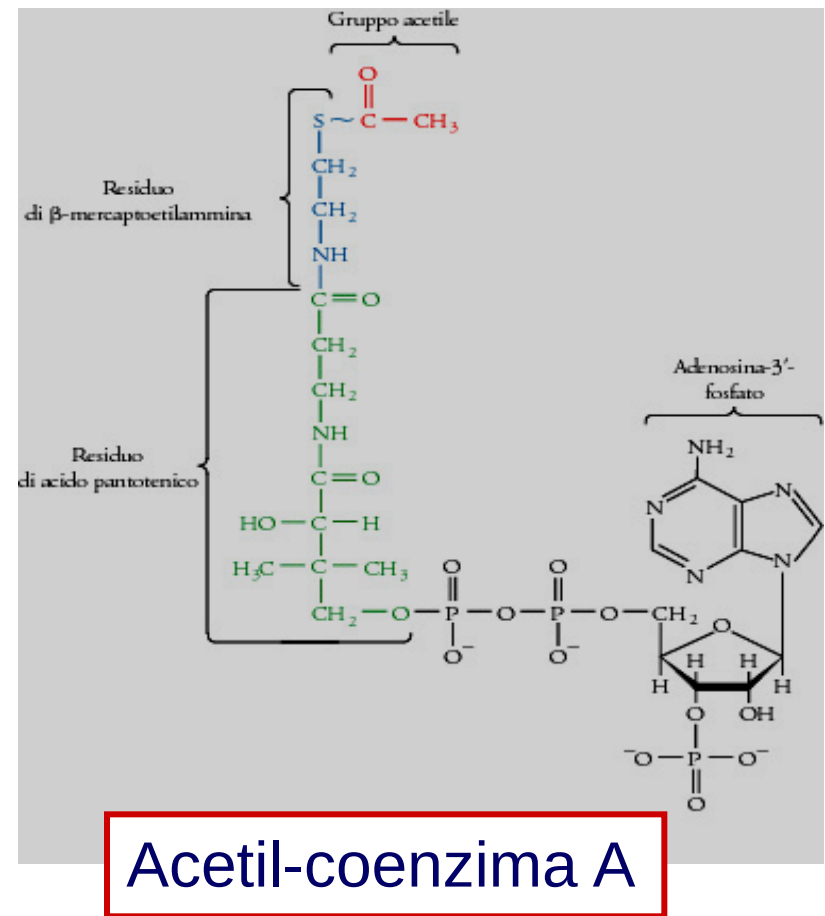
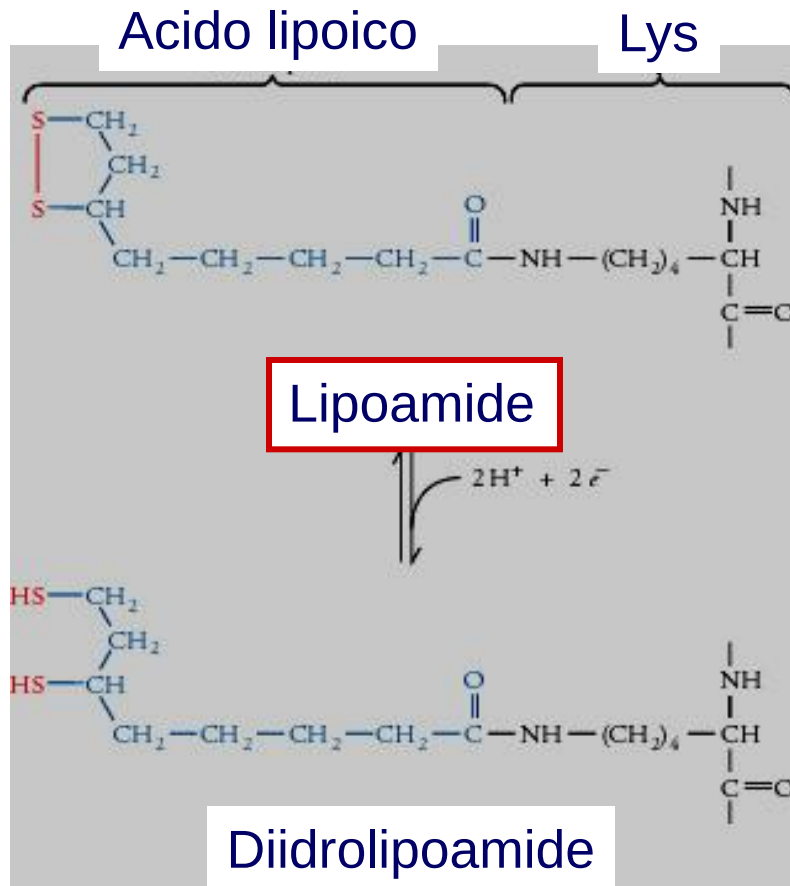


(a) 24 unità di diidrolipoil transacetilasi (E_2) circondate da (b) 24 unità di piruvato deidrogenasi (E_1) associate a dimeri e 12 unità di diidrolipoil deidrogenasi (E_3)
(c) = (a) + (b) (in *E.coli*)

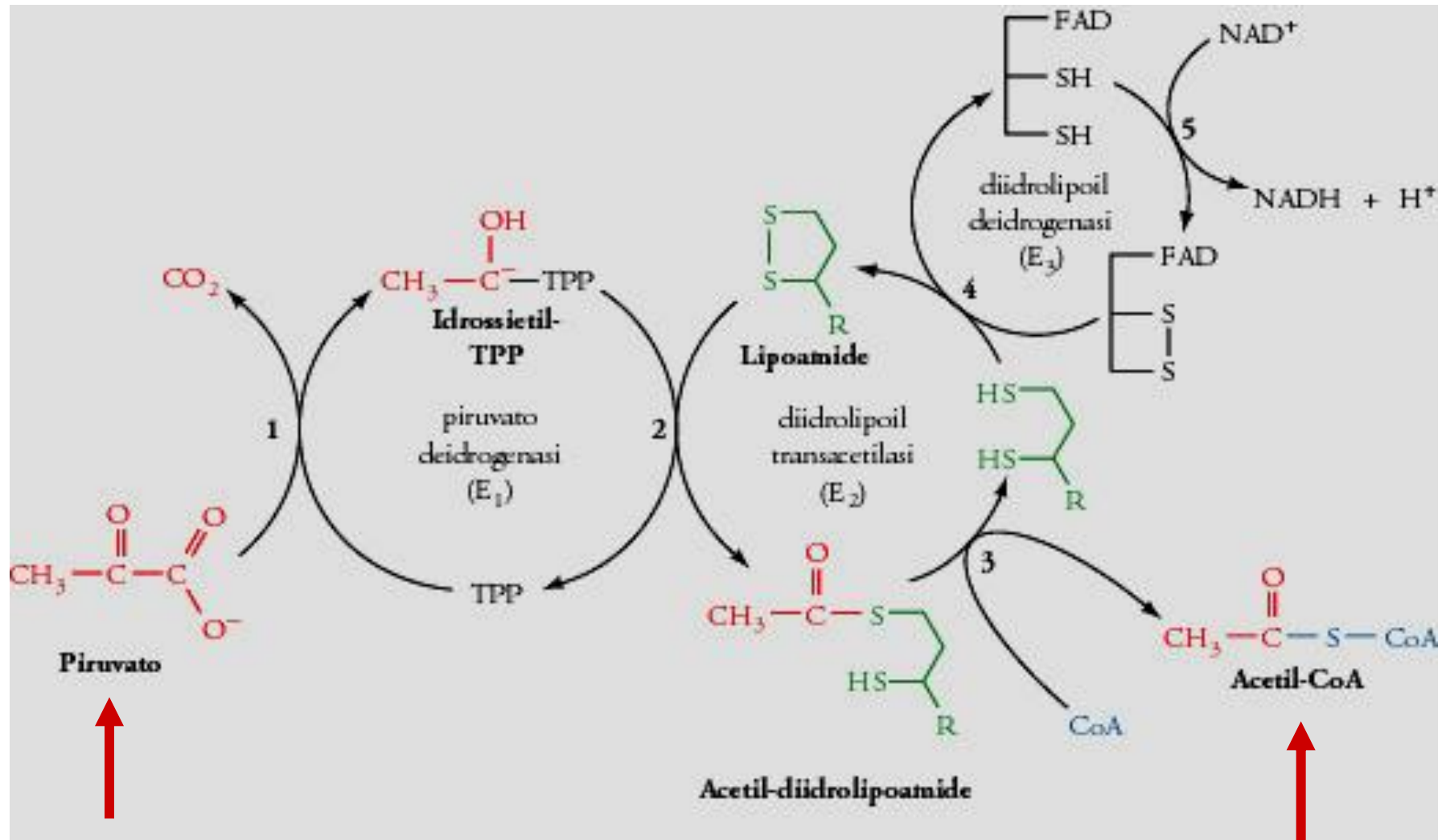
Il complesso della piruvato deidrogenasi necessita di coenzimi e gruppi prostetici



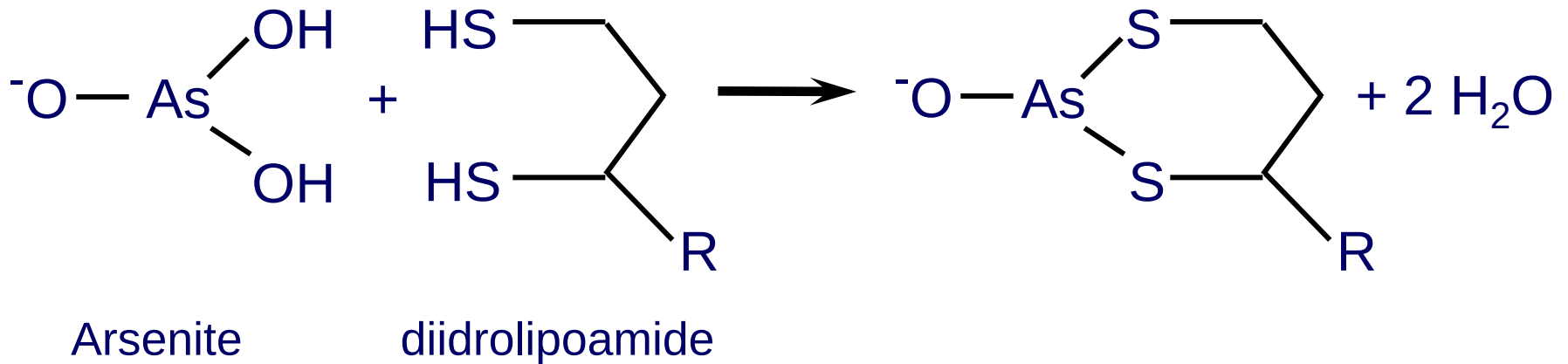
Il complesso della piruvato deidrogenasi necessita di coenzimi e gruppi prostetici



Il complesso della piruvato deidrogenasi catalizza 5 reazioni



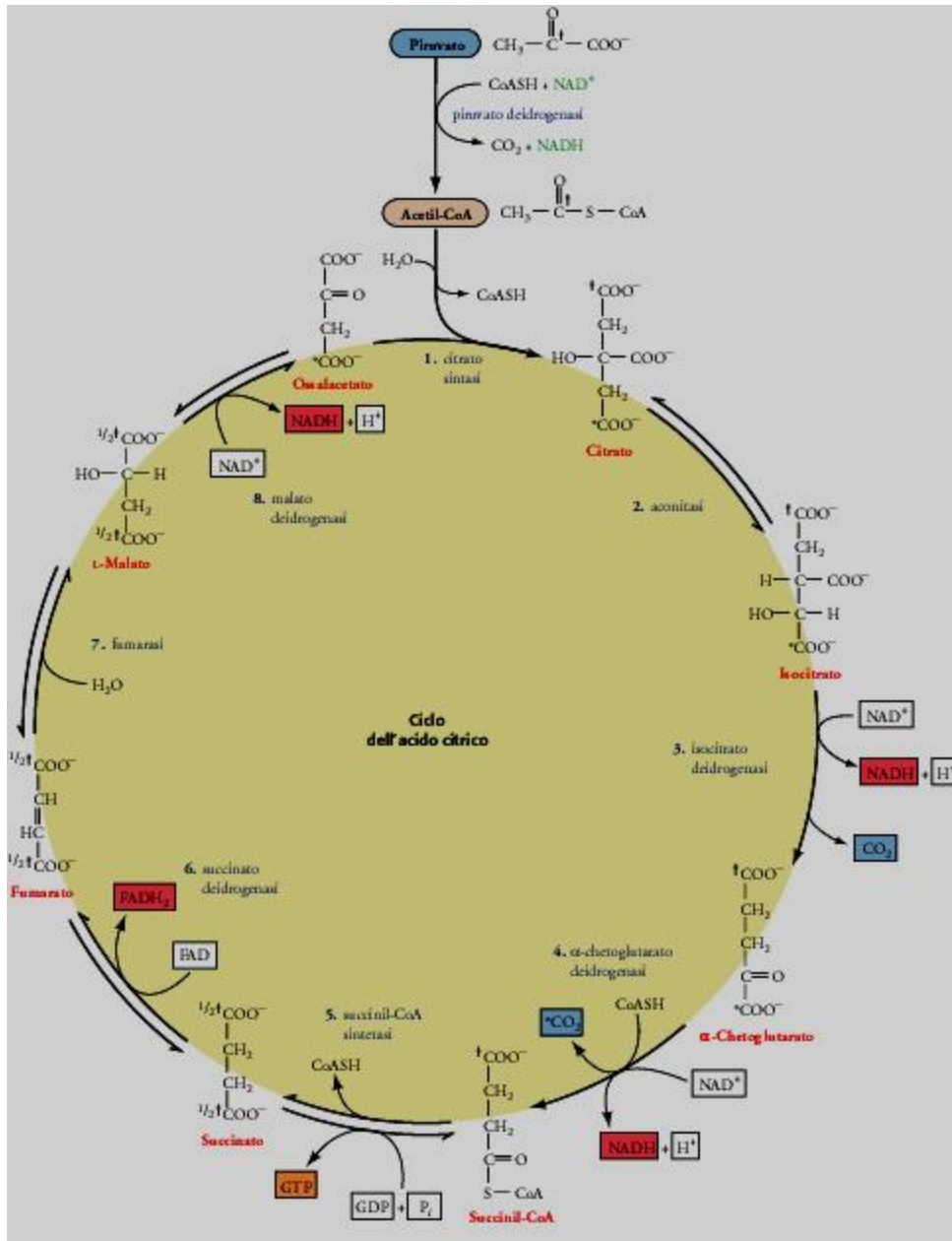
Avvelenamento da Arsenico



➡ Inattivazione della piruvato deidrogenasi

Importanza dei complessi multienzimatici

1. La distanza percorsa dai substrati di reazioni poste in sequenza è molto minore
2. La possibilità di reazioni collaterali è diminuita
3. E' possibile un controllo coordinato delle reazioni

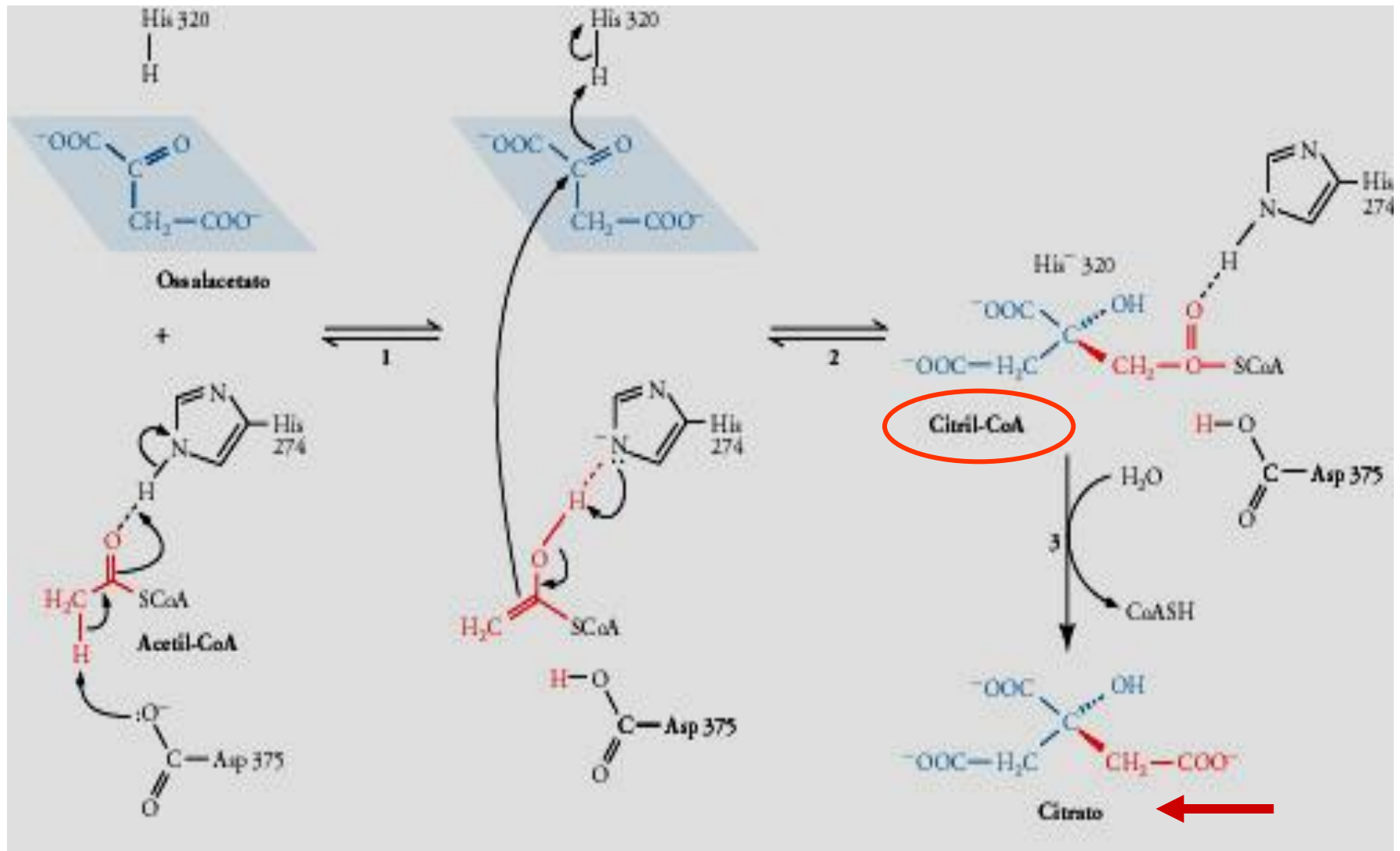


Il ciclo dell'acido citrico (ciclo di Krebs, ciclo degli acidi tricarbossilici) è una serie di **otto reazioni** che ossidano il gruppo acetile dell'Acetil CoA a 2 molecole di CO_2 , conservando l'energia libera in 3 NADH e 1 FADH_2 e 1 GTP

1. Citrato sintasi

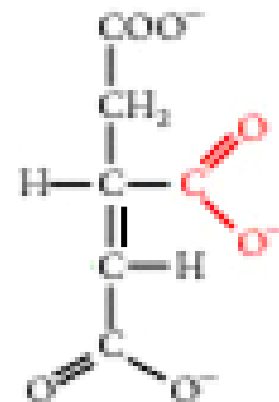
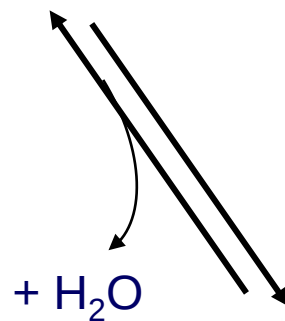
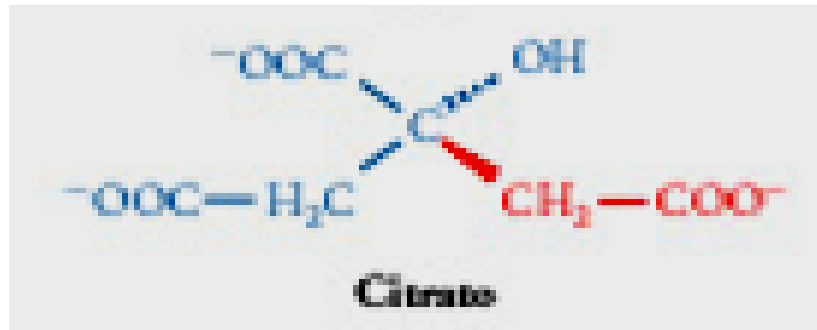
Catalisi acido-base / His-mediata

Condensazione di acetil-CoA e ossalacetato ($\rightarrow$ +C-C)

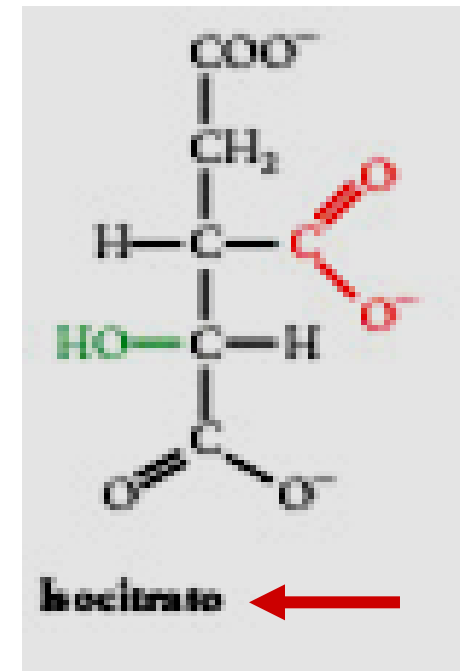
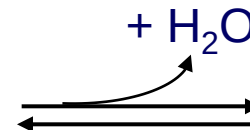


2. Aconitasi

Isomerizzazione reversibile del citrato



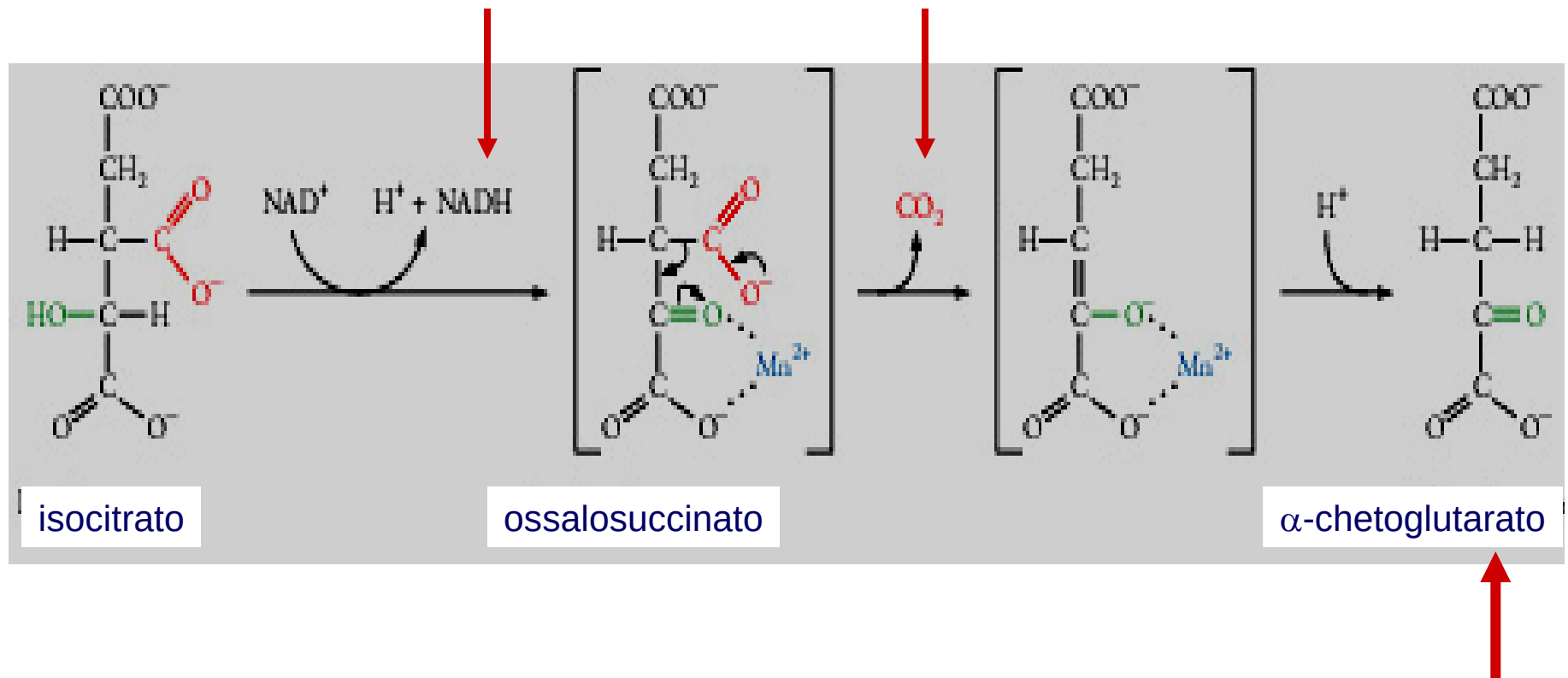
cis-aconitato



Isocitrato

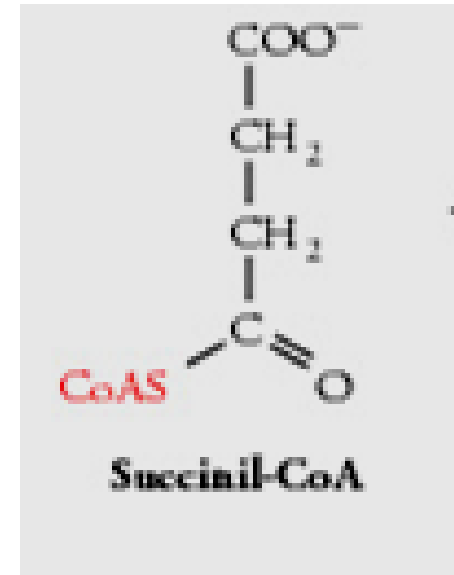
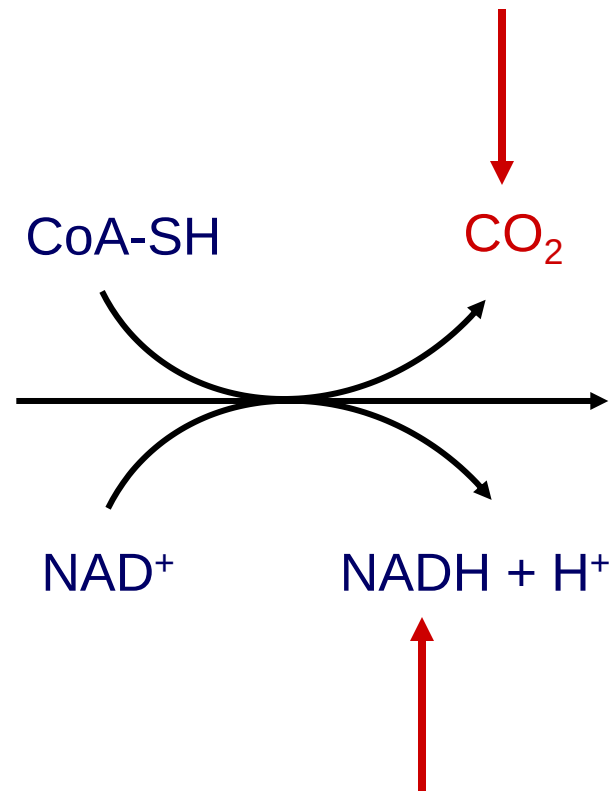
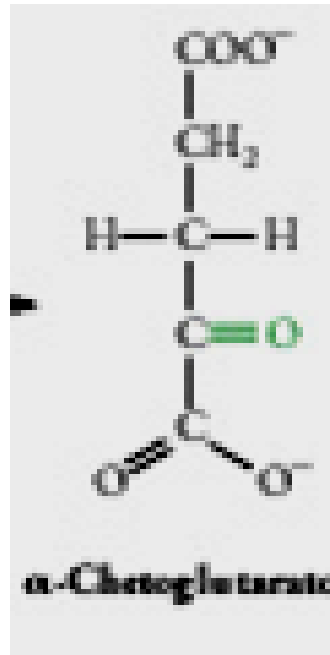
3. Isocitrato deidrogenasi NAD^+ -dipendente

Decarbossilazione ossidativa dell'isocitrato



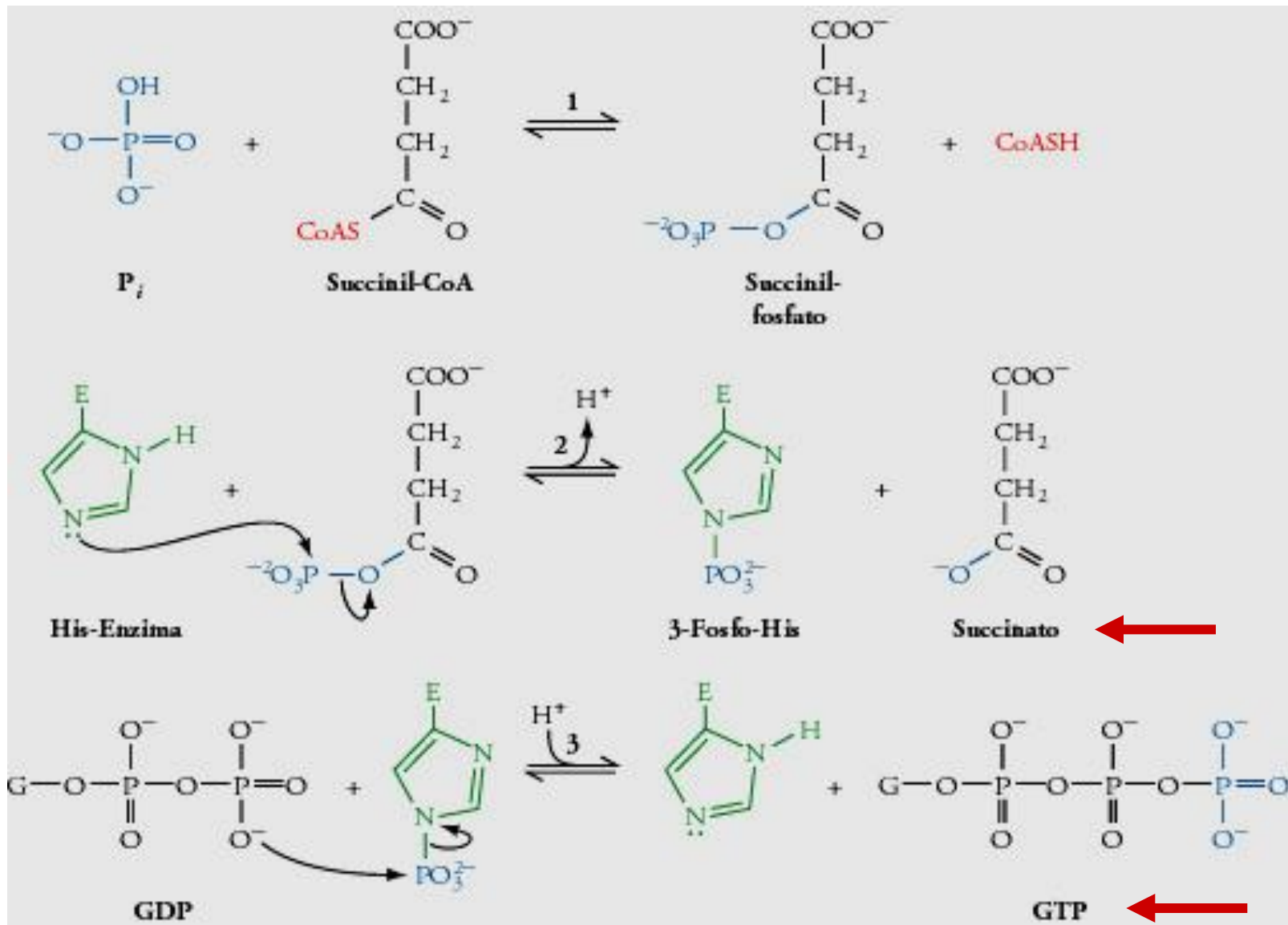
4. α -Chetoglutarato deidrogenasi

Decarbossilazione dell' α -chetoglutarato



5. Succinil-CoA sintetasi

Accoppiamento di scissione del succinil-CoA alla formazione di GTP (o ATP nei batteri)



6. Succinato deidrogenasi

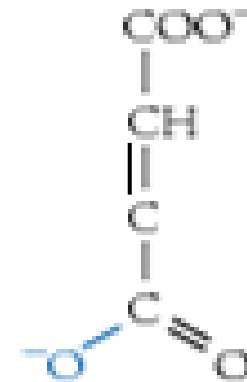
(legato alla membrana mitoc.)

Deidrogenazione stereospecifica del succinato



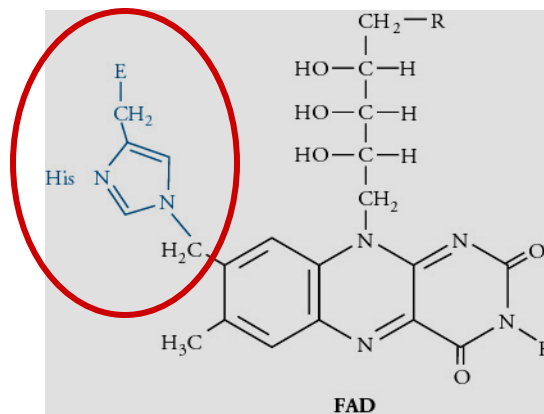
Succinato

+ E-FAD



Fumarato

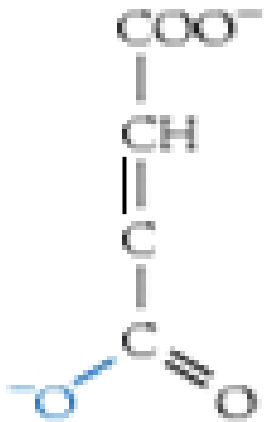
+ E-FADH₂



Sarà riossidato nella
catena di trasporto
degli elettroni

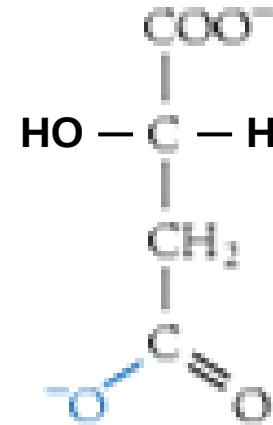
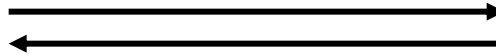
7. Fumarasi (fumarato idratasi)

Idratazione del doppio legame del fumarato



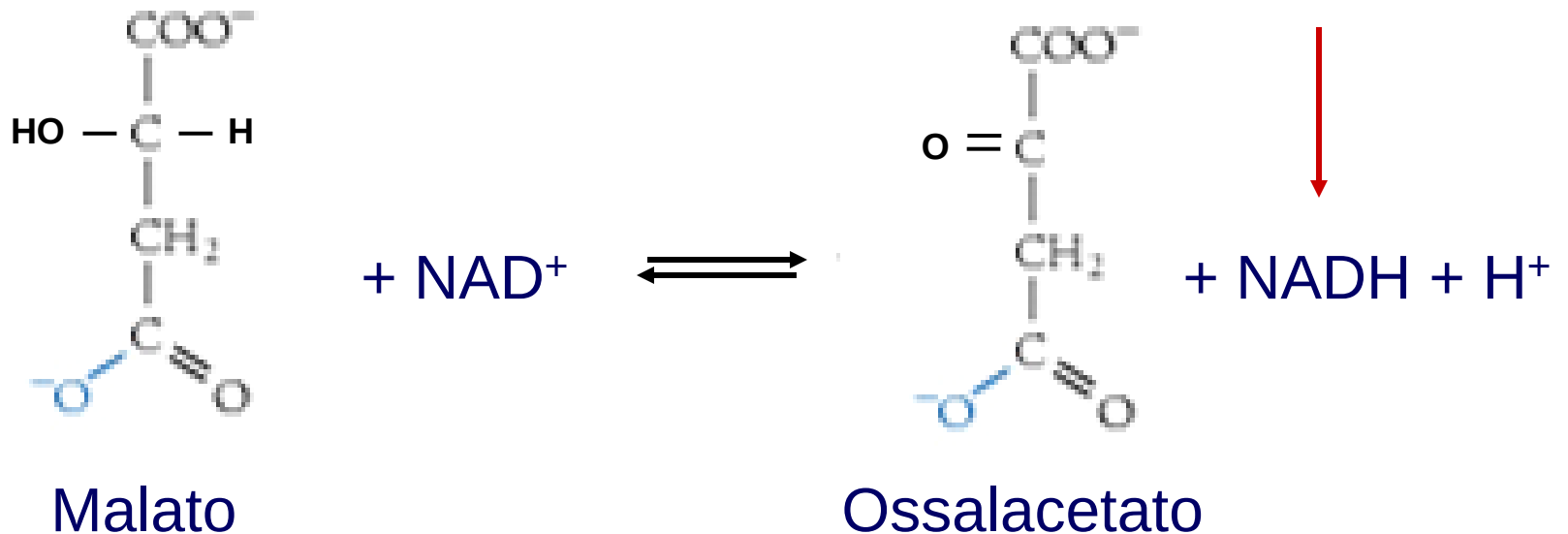
Fumarato

Stato di transizione
carbanionico



Malato

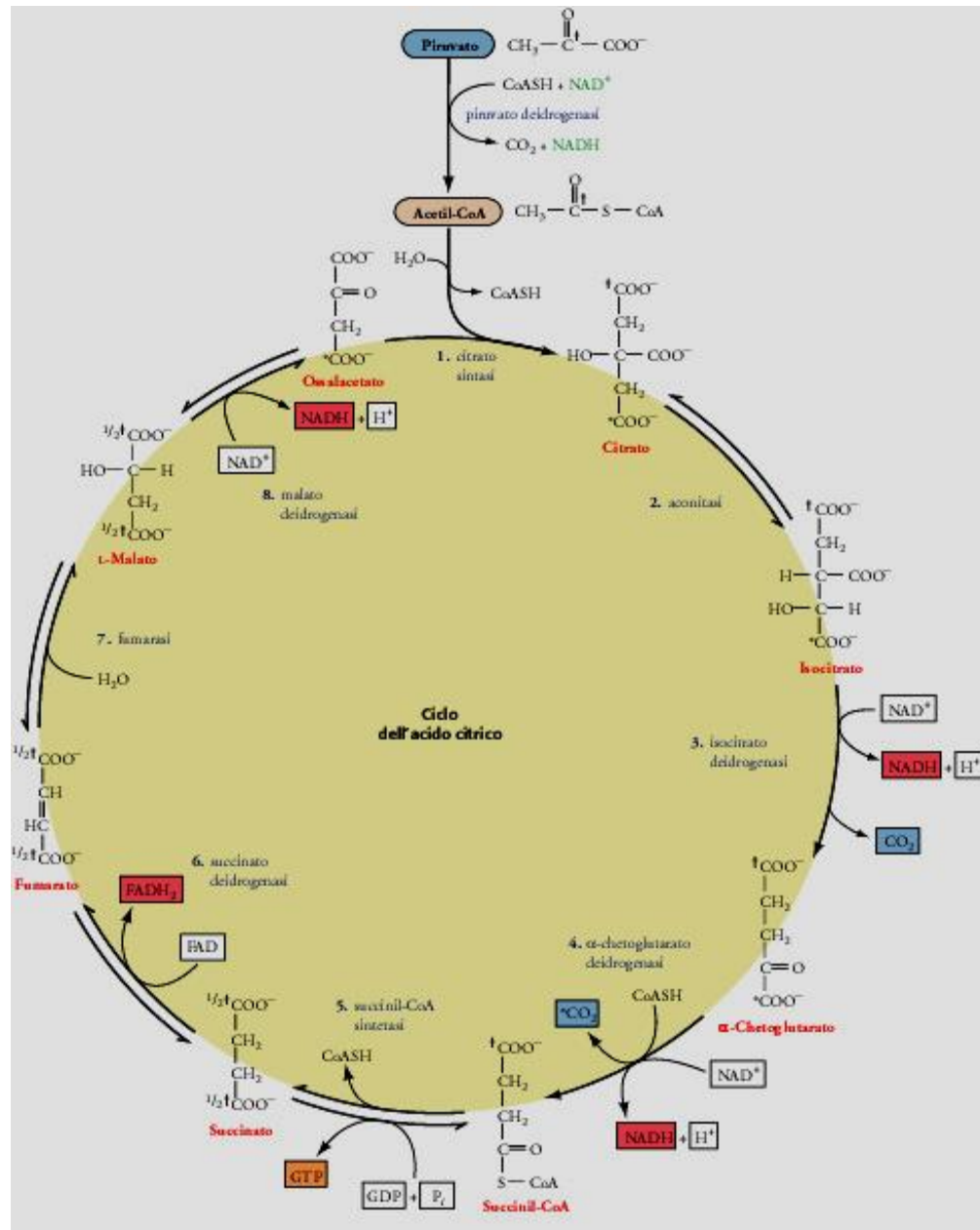
8. Malato deidrogenasi



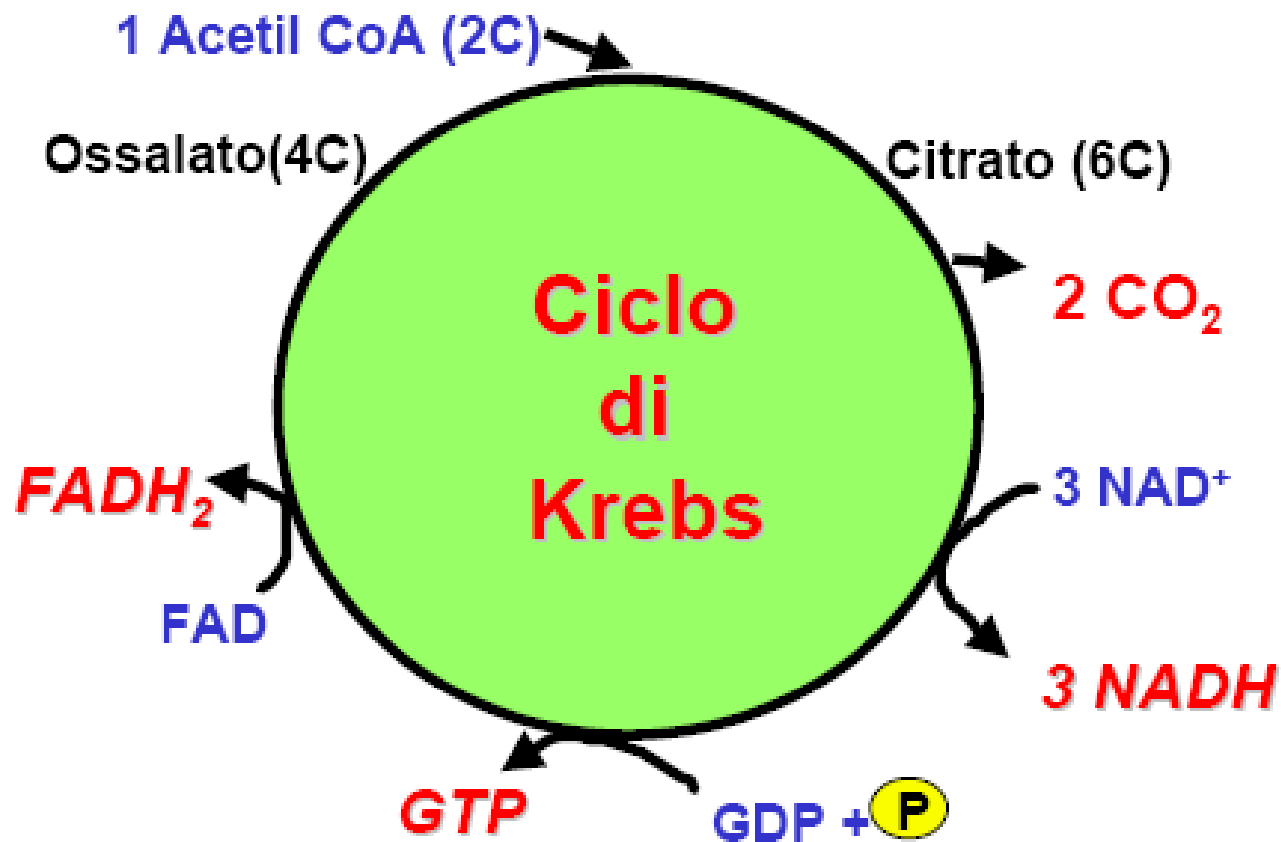
Il ΔG° di questa reazione è $+ 29.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ e la concentrazione di ossalacetato è molto bassa.

Tuttavia il ΔG° della reazione della Citrato sintasi è $-31.5 \text{ kJ mol}^{-1}$.

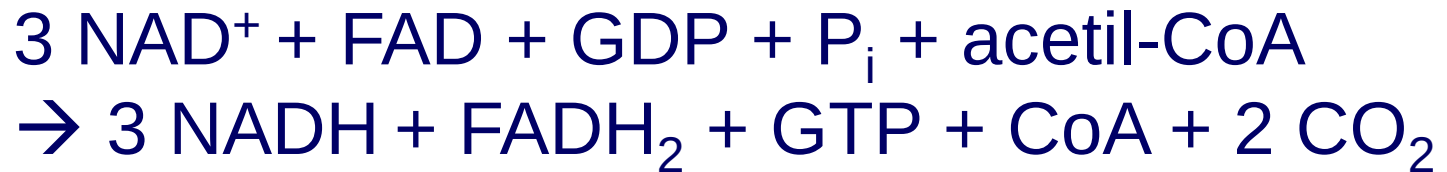
La reazione 1. fortemente esoergonica spinge il processo ciclico anche se il substrato è scarso.



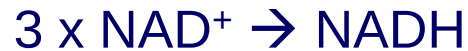
Ciclo di Krebs o Ciclo dell'Acido Citrico



La reazione **netta** del ciclo TCA è pertanto :



L'ossidazione del gruppo acetile a 2 CO₂ coinvolge 4 coppie di elettroni:



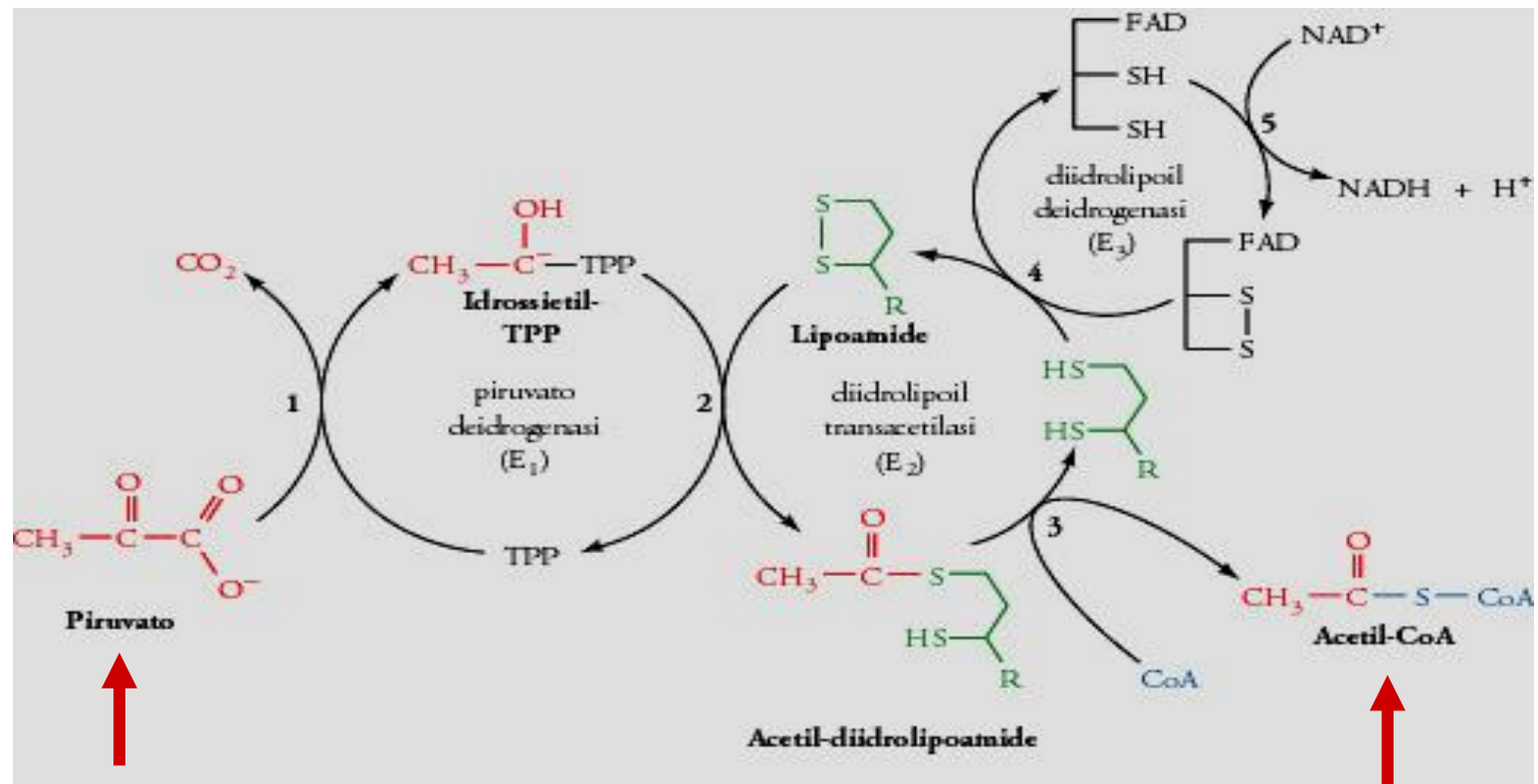
Gli elettroni trasportati da NAD e FAD vengono inseriti nella
catena di trasporto degli elettroni

L'ipotesi del **metabolone**

1. Gli enzimi si devono associare in modo specifico
(alcuni enzimi isolati appartenente alla stessa via metabolica tendono ad associarsi)
2. Il metabolone deve essere visualizzabile
(gli enzimi del ciclo TCA sono associati al lato interno dell'IMM)
3. Il metabolone deve fornire un vantaggio metabolico
(regolazione e velocità – simulazioni al computer)

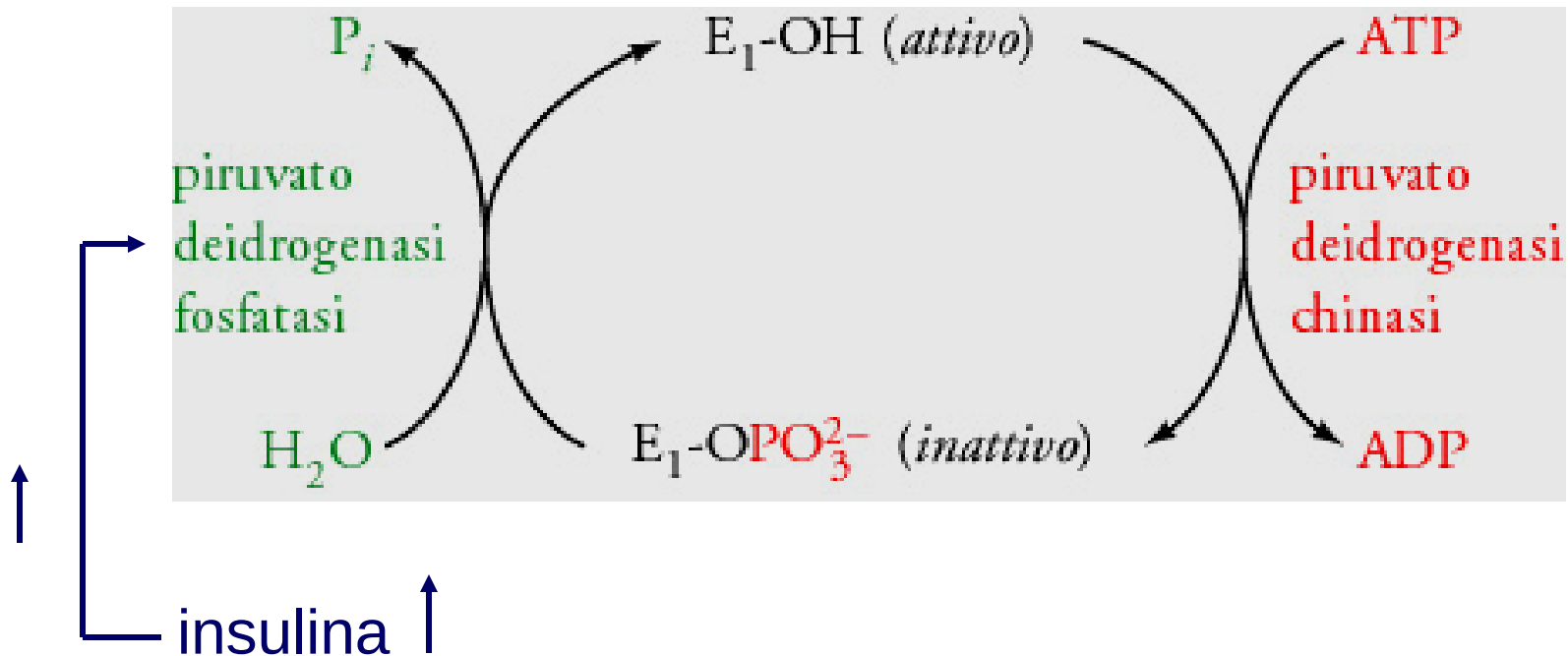
Regolazione del ciclo dell'acido citrico 1.

Inibizione da prodotto da parte dell'**NADH** e dell'**acetil-CoA** che **competono** con NAD^+ e CoA per i siti di legame dei rispettivi enzimi (E_3 ed E_2 del complesso della **piruvato deidrogenasi**). Questo rallenta anche E_1 .



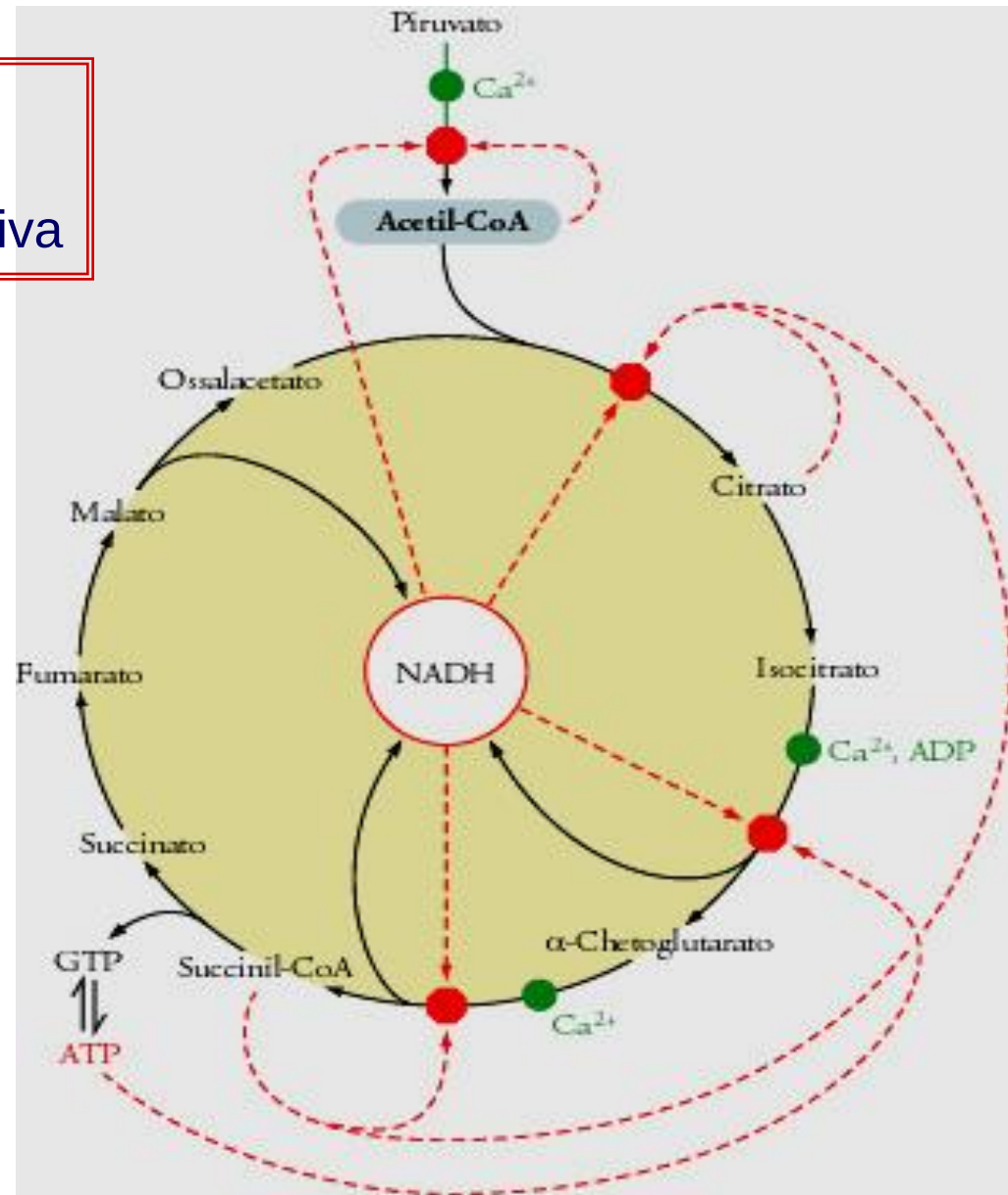
Regolazione del ciclo dell'acido citrico 2.

Modificazione covalente di E_1 del complesso piruvato deidrogenasi mediante fosforilazione/defosforilazione



Regolazione del ciclo dell'acido citrico 3.

1. Disponibilità di substrato
2. Inibizione da prodotto
3. Inibizione retroattiva competitiva



Regolazione del ciclo dell'acido citrico

Il **Calcio** (Ca^{2+}) è un regolatore allosterico (attivatore) della :
Piruvato deidrogenasi
Isocitrato deidrogenasi
 α -ketoglutarato deidrogenasi

(nel muscolo) Il Ca^{2+} stimola sia la contrazione muscolare
sia la produzione dell'energia ad essa necessaria

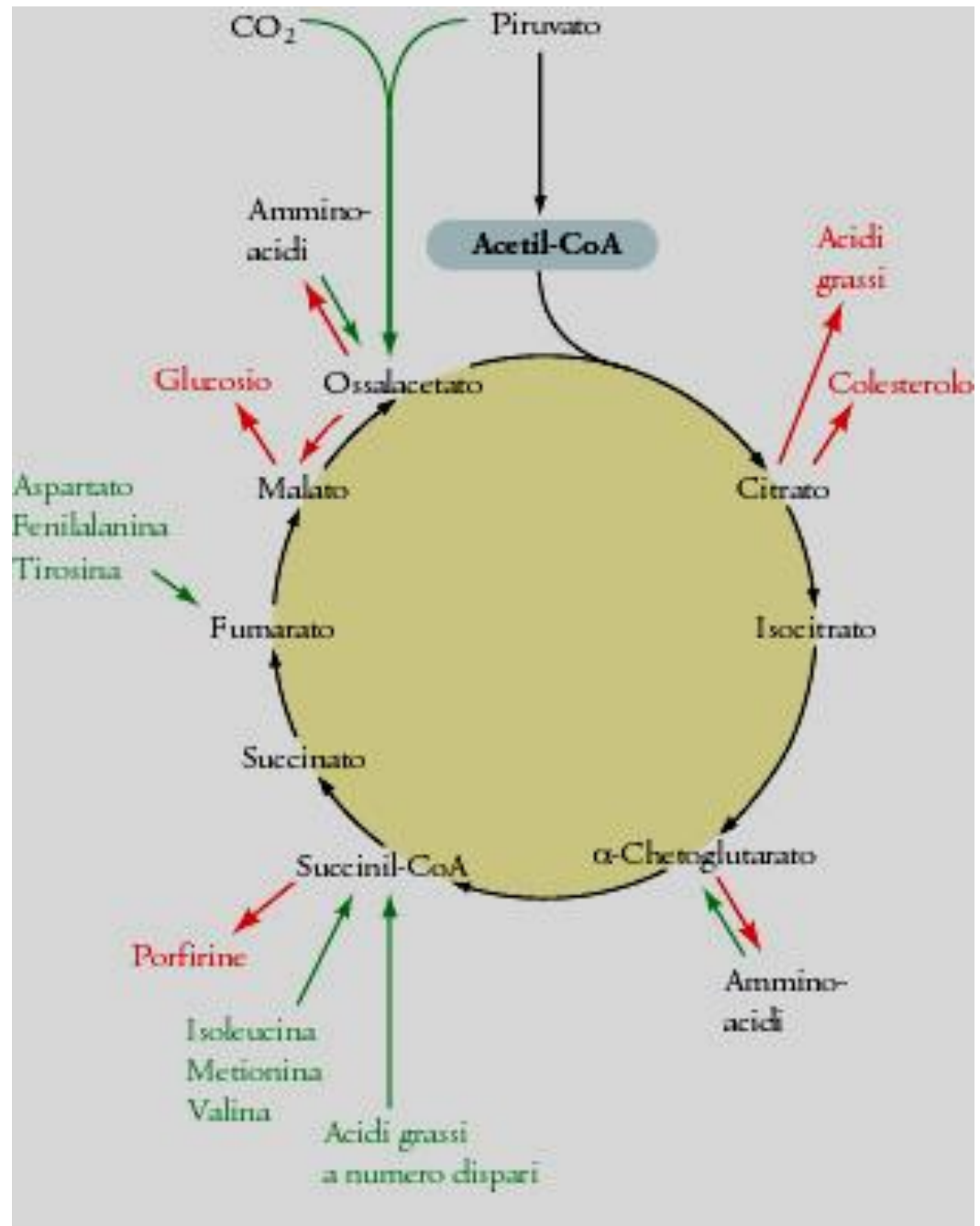
Il ciclo TCA è **anfibolico**,
cioè sia anabolico che
catabolico.

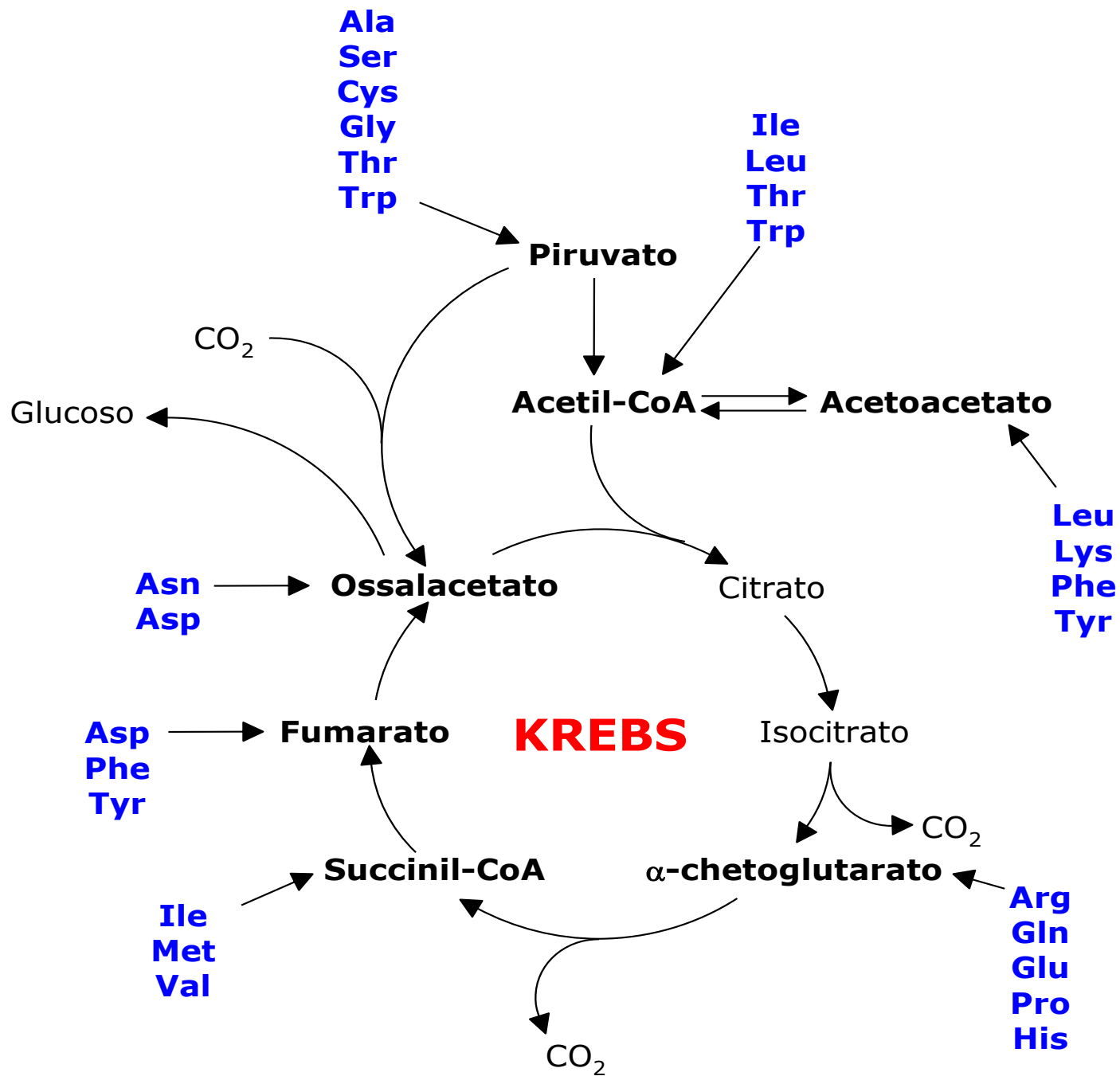


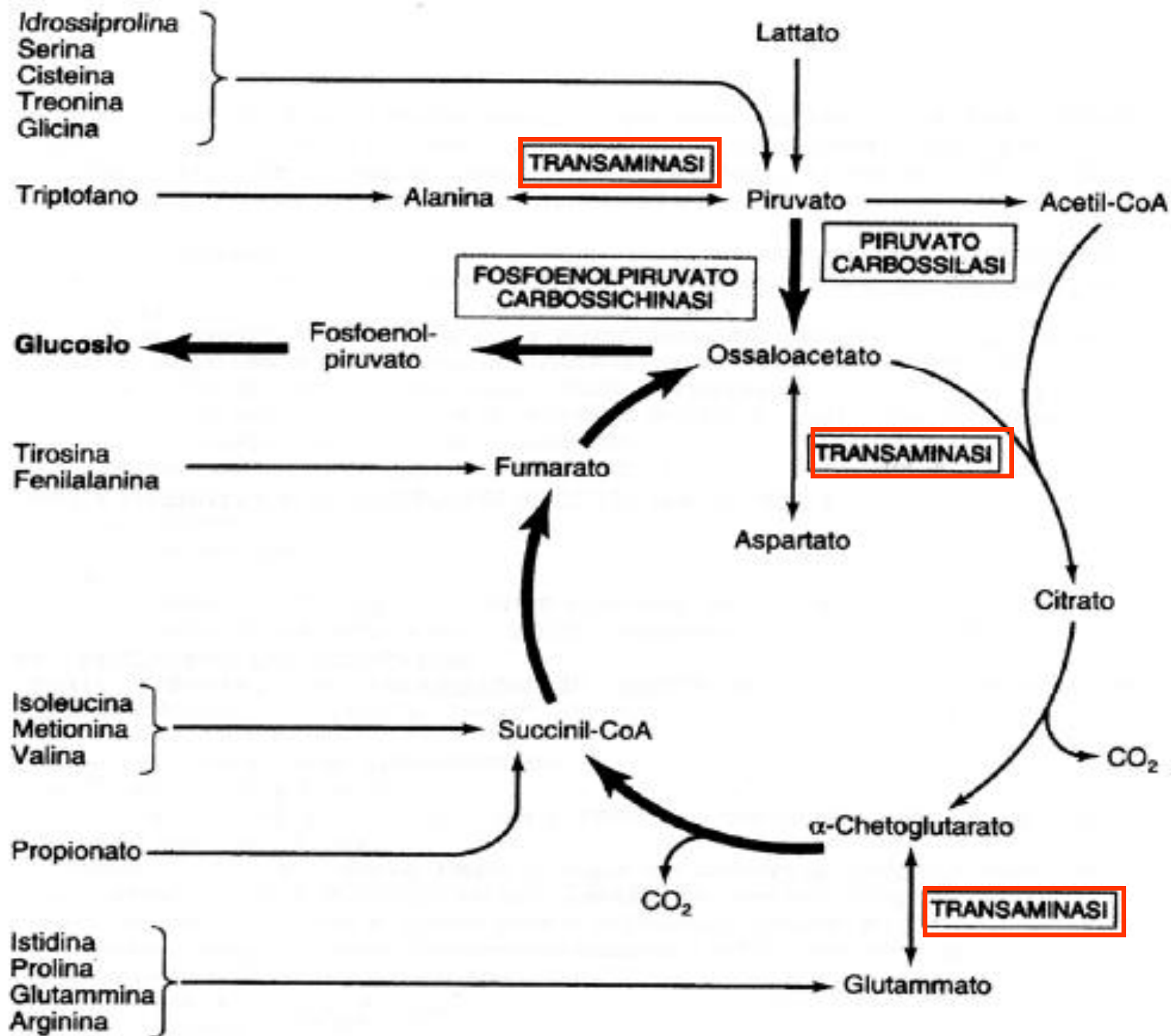
vie anaboliche



reazioni anaplerotiche
(= che riempiono)







Le transaminasi più note sono:

- * la glutammato-ossalacetato transaminasi, **GOT**, detta anche aspartato aminotransferasi, AST (nei mitocondri)

- * la glutammato-piruvato transaminasi, **GPT**, detta anche alanina aminotransferasi, ALT (nel citoplasma)

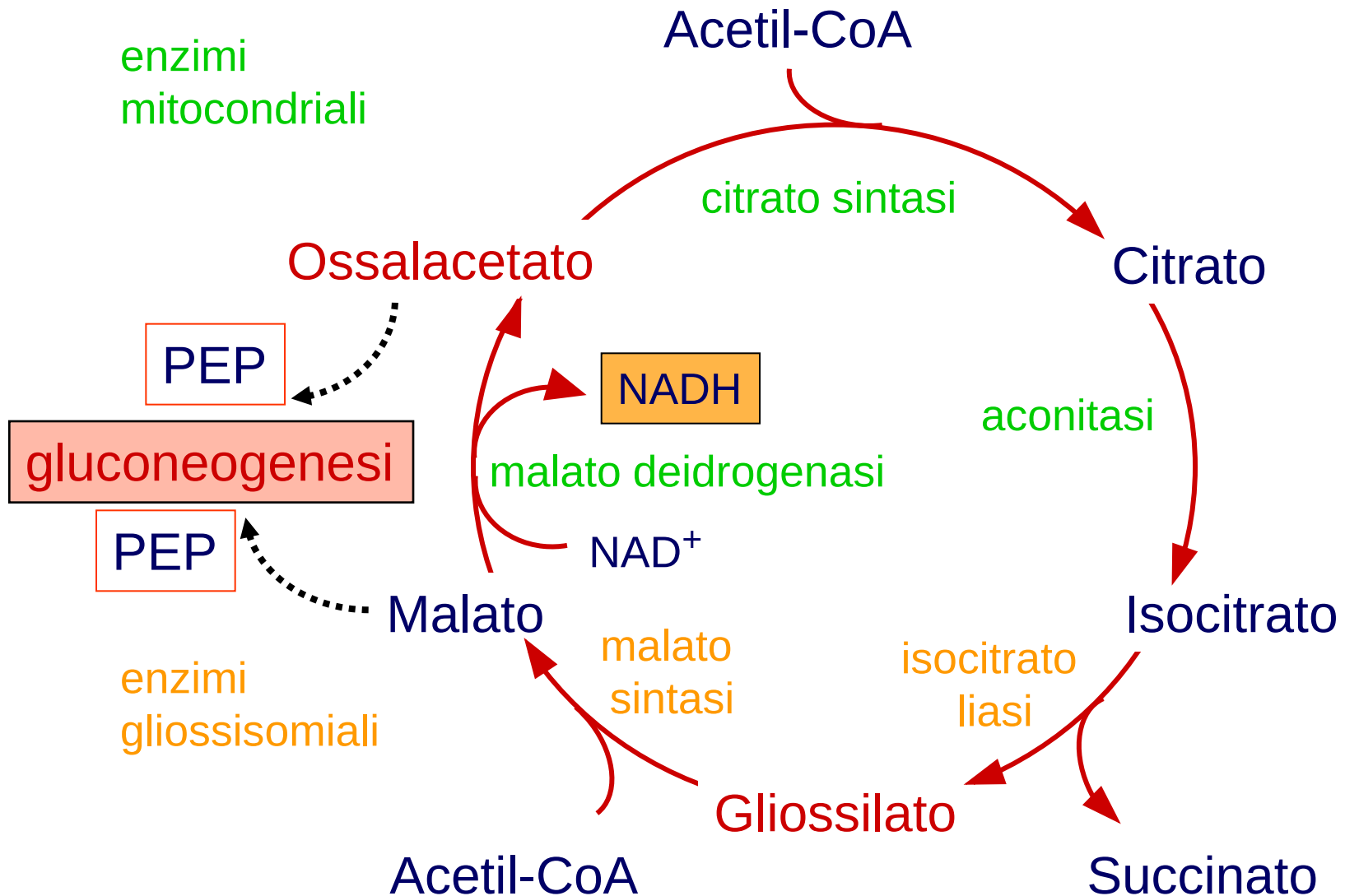
Sono utilizzate in Biochimica Clinica come marcatori di danno epatico (principalmente)

Le **piante**, alcuni invertebrati e i microrganismi possiedono enzimi che consentono la conversione netta di **acetil-CoA** in **ossalacetato** che può essere utilizzato nella gluconeogenesi.

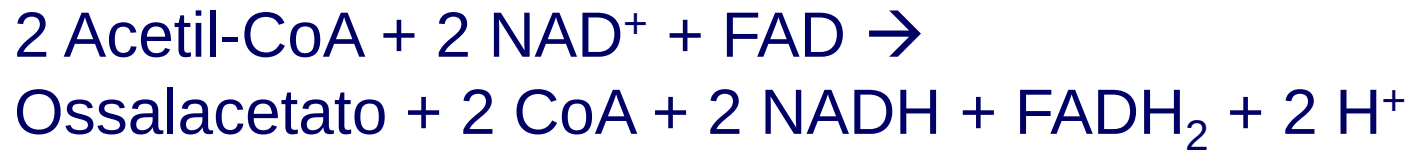
Questa via avviene nei **gliossisomi**, che sono perossisomi specializzati, particolarmente nei tessuti grassi dei semi che germogliano.

Nei perossisomi avviene la β -ossidazione degli acidi grassi e inoltre, mediante la via del gliossilato, si producono intermedi per la gluconeogenesi che vengono utilizzati fino a che non è attivata la produzione di carboidrati mediante fotosintesi

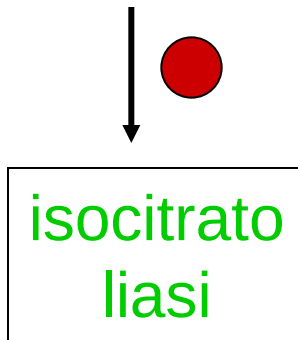
Nelle piante la **via del glicossilato** avviene in parte nel mitocondrio e in parte nel glicossisoma



La reazione complessiva del ciclo del gliossilato è



Intermedi del ciclo TCA
e della glicolisi,
AMP, ADP



Intermedi del ciclo TCA
e della glicolisi,
AMP, ADP

