



# CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

curso • BIOQUÍMICA

# CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

## INTRODUÇÃO

O Ciclo do ácido Cítrico, também chamado **Ciclo de Krebs**, corresponde à segunda etapa da via de oxidação da glicose, ocorrendo na mitocôndria após a formação do piruvato pela via glicolítica.

Este Ciclo não é importante somente para vias catabólicas de obtenção de energia, mas apresenta também um papel anabólico pela formação de intermediários empregados como precursores biossintéticos de várias substâncias.

O complexo enzimático da piruvato desidrogenase, composto por três enzimas e cinco coenzimas, está localizado na mitocôndria das células eucariotas. Uma série de intermediários químicos permanece ligados à superfície das enzimas à medida que o substrato é transformado em seu produto.

O complexo da piruvato desidrogenase resulta num processo irreversível de descarboxilação oxidativa que atua sobre o piruvato formando a molécula inicial do Ciclo de Krebs: **Acetil-Coa**.

## O CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

Para dar início ao Ciclo faz-se necessária a formação da molécula de **Acetil-CoA**. Esta é proveniente da remoção do grupo carboxila na forma de  $\text{CO}_2$  do piruvato, vindo da via glicolítica, de forma que os dois carbonos remanescentes na molécula se tornam o grupo acetil do acetil-CoA. Essa reação ocorre com a redução de um  $\text{NAD}^+$ , a molécula aceptora de elétrons.

O Ciclo do Ácido Cítrico conta com oito reações sendo em quatro delas ocorre com a liberação de energia que é armazenada na forma de **NADH** e **FADH<sub>2</sub>**.

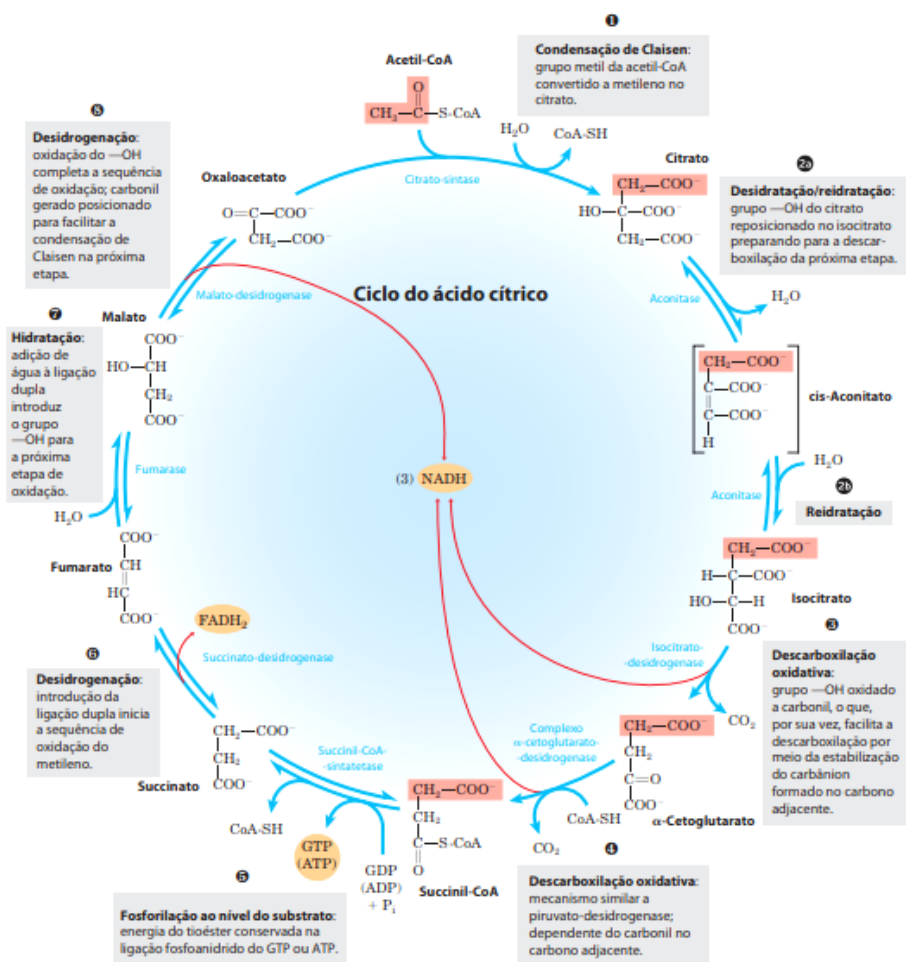


- O **Acetil-CoA** transfere seu grupo acetil para o **oxaloacetato** (composto por quatro carbonos) formando o citrato por ação da enzima citrato sintase. A Coenzima A, deixada livre após a reação, pode ser reciclada em outras reações inclusive em outra descarboxilação do piruvato para formar Acetil-CoA.
- O citrato é transformado em **isocitrato**, também composto por seis carbonos.
- O isocitrato é desidrogenado, ocorrendo a liberação de  $\text{CO}_2$  e a formação de um composto com cinco carbonos chamado  **$\alpha$  cetogluturato**. Esta reação ocorre graças a enzima **isocitrato desidrogenase** que utiliza  $\text{NAD}^+$  para aceitar elétrons. Outra forma desta mesma enzima pode ser encontrada tanto na matriz mitocondrial quanto no citosol, sendo, no entanto, dependente de NADP. Sua função é importante para a regeneração da forma reduzida no NADPH utilizado em reações anabólicas.
- Mais um  $\text{CO}_2$  é liberado da molécula do  $\alpha$  cetogluturato, formando o **succinil-CoA** pela ação do complexo enzimático  **$\alpha$  cetogluturato desidrogenase**. O elétron liberado é aceitado pelo  $\text{NAD}^+$  e a energia de oxidação do  $\alpha$  cetogluturato é conservada pela formação de uma ligação tio éster do **succinil-CoA**.
- A ligação de alta energia da molécula de succinil-CoA é rompida, formando o **succinato**, e a energia liberada é empregada na formação de um GTP (guanosina trifosfato) a partir de GDP (guanosina difosfato) e fosfato inorgânico. O GTP tem o mesmo nível energético do ATP, logo, a formação de GTP equivale à formação de ATP, já que o GTP pode transferir seu grupo fosfato ao ADP.
- O succinato formado é oxidado a **fumarato** pela enzima **succinato desidrogenase** cujo grupo prostético FAD é reduzido a **FADH<sub>2</sub>**.



- O fumarato é, então, hidratado na reação catalisada pela enzima **fumarase** originando o **malato**.
- Por fim, o malato é oxidado a **oxaloacetato** por ação da enzima **malato desidrogenase** ligada ao NAD.

Assim, a última das reações do Ciclo do Ácido Cítrico culmina na formação do produto com o qual o ciclo se iniciou: o oxaloacetato. Dessa forma, a regeneração deste intermediário permite sua reação com uma nova molécula de Acetil-CoA, dando continuidade ao Ciclo.



FONTE: NELSON, D.L. & COX, M. M. Princípios da Bioquímica de Lehninger, 6ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2014.



A maioria das reações do Ciclo é reversível, no entanto, o sentido do ciclo é determinado pela irreversibilidade das reações catalisadas pelas enzimas citrato sintase e  $\alpha$  cetoglutarato desidrogenase. Esta última reação mantém as concentrações de  $\alpha$  cetoglutarato baixas e, indiretamente, as de isocitrato. Assim, apesar do equilíbrio da reação favorecer a formação de citrato, este não se acumula na mitocôndria enquanto ocorrer a oxidação de isocitrato.

## O BALANÇO ENERGÉTICO DO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

A energia liberada após uma volta completa no Ciclo é armazenada na redução de três  $\text{NAD}^+$  e um  $\text{FAD}^+$ , além da síntese direta de ATP ou GTP. Além disso, duas moléculas de  $\text{CO}_2$  são liberadas ao longo do Ciclo.

Apesar de formar diretamente apenas uma molécula de ATP, o grande fluxo de elétrons nos quatro passos de oxidação do Ciclo, ao formarem NADH e  $\text{FADH}_2$ , vão originar grande quantidade de energia durante a fosforilação oxidativa. Nesta etapa, a passagem de dois elétrons do NADH para o oxigênio culmina na formação de mais ou menos 2,5 moléculas de ATP enquanto a passagem de dois elétrons do  $\text{FADH}_2$  para o oxigênio forma 1,5 molécula de ATP. Sendo assim, levando em consideração que duas moléculas de piruvato são geradas a partir de uma de glicose e ambas entram no Ciclo do Ácido Cítrico, calcula-se que cerca de 28 ATPs formados na fosforilação oxidativa são provenientes de processos ocorridos a partir da transformação de piruvato a Acetil-CoA.

Outra importante função da fosforilação oxidativa é a oxidação das coenzimas reduzidas no Ciclo do Ácido Cítrico. Logo, este ciclo, bem como a reação de conversão do piruvato a Acetil-CoA, só ocorrem em condições aeróbias, ao contrário da glicólise.

## FUNÇÃO ANABÓLICA DO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

Como mencionado anteriormente, o Ciclo do Ácido Cítrico não se restringe à função catabólica, mas também fornece substratos que são utilizados como precursores em vias biossintéticas, constituindo uma via dia anfibólica, que ser-



ve tanto para processos catabólicos quanto para anabólicos. São exemplos: o oxaloacetato e o  $\alpha$  cetoglutarato formam, reespectivamente, o aspartato e o glutamato; o succinil-CoA é precursor do grupo heme das hemoglobinas.

Caso ocorra a retirada de algum desses intermediários do ciclo, sua concentração pode ser reestabelecida por reações compensatórias chamadas reações anapleróticas (ou de preenchimento). A mais importante delas, que ocorre nos tecidos hepático e renal, é a catalisada pela enzima piruvato carboxilase a qual atua sobre o piruvato formando oxaloacetato. Outras dessas reações são aquelas que envolvem a degradação de aminoácidos que produz intermediários do Ciclo de Krebs.

## A REGULAÇÃO DO CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO

As enzimas reguladoras do Ciclo têm seus efeitos alterados por efetores alostéricos e por modificação covalente de modo a manter constante a velocidade do Ciclo e a concentração de intermediários.

A regulação do Ciclo propriamente dito ocorre em três momentos: na formação de citrato a partir do Acetil-CoA por ação da enzima citrato sintase, na reação da isocitrato desidrogenase, e na reação da  $\alpha$  cetoglutarato desidrogenase. Outro ponto regulatório extremamente importante que ocorre antes do Ciclo propriamente dito é a conversão de piruvato a Acetil-CoA pelo complexo piruvato desidrogenase.

Este complexo é inibido por altas concentrações de ATP, por Acetil-CoA e NADH, ou seja, pelos próprios produtos da reação catalisada pelo complexo. Por outro lado, a modulação alostérica positiva do complexo ocorre por altas concentrações de AMP, CoA e NAD<sup>+</sup>, os quais estão acumulados quando pouco acetato flui para o Ciclo do Ácido Cítrico.

O complexo piruvato desidrogenase também está sujeito à modulação covalente através da fosforilação catalisada por uma quinase específica associada ao complexo, chamada piruvato quinase desidrogenase. Quando fosforilado, o



complexo torna-se inativo. Outra enzima do complexo, chamada piruvato desidrogenase fosfatase, remove o grupo fosfato reativando a o complexo. Em estados hiperglicêmicos ocorre a liberação de insulina que, ao atuar sobre seus receptores celulares induz uma casacata de sinalização que estimula a piruvato desidrogenase fosfatase, promovendo a desfosforilação do complexo e, portanto, sua ativação.

A disponibilidade de substratos para a citrato sintase varia com as circunstâncias metabólicas, podendo limitar a velocidade de formação do citrato. Quando a relação NADH/NAD<sup>+</sup> está elevada, as reações de desidrogenação são inibidas. O acúmulo de produtos das reações inibe todos os três passos limitantes da velocidade do ciclo: a succinil-CoA inibe a  $\alpha$  cetoglutarato desidrogenase, o citrato bloqueia a citrato sintase, o ATP inibe tanto a citrato sintase quanto a isocitrato desidrogenase.

O mais importante ponto de regulação do Ciclo de Krebs ocorre na reação catalisada pela isocitrato desidrogenase sobre a qual atuam dois moduladores alostéricos: o ADP, com efeito positivo, e o NADH com efeito negativo. Altos níveis de ADP refletem a necessidade energética da célula, estimulam a enzima, levando à oxidação do citrato. O aumento na velocidade do ciclo culmina na maior formação de coenzimas reduzidas e, conseqüentemente, na ativação da fosforilação oxidativa. À medida que a concentração de ADP diminui, a velocidade da fosforilação oxidativa também decresce, havendo aumento na concentração do NADH, modulador alostérico negativo da isocitrato desidrogenase.

