

4. GAIA: AZIDO TRIKARBOXILIKOEN ZIKLOA

Aurkibidea

1. Sarrera
2. Zikloaren ezaugarri nagusiak
3. Azetil CoA-ren jatorria
4. Zikloa
5. Erregulazioa
6. Izaera anfibolikoa
7. Zikloaren bitartekarien berreskurapena: erreakzio anaplerotikoak

1. SARRERA

Azido karboxilikoaren zikloa, azido zitrikoaren zikloa edota krebs-en zikloa bezala ezagutzen dena, Hans Krebs-ek aurkitu zuen 1937an eta Nobel saria eman zioten 1953an. Ez zen Krebs-ek aurkitu zuen lehenengo zikloa, bost urte lehenago urearen zikloa eta gliozilatoaren zikloa ere aurkitu baitzituen.

Bidezidor ziklikoaren funtzio nagusia, **Azetil-CoA** (Azetil A koentzima) oxidatzea da, energia lortzeko. Azetil-CoA ziklo batean ematen den erreakzio sekuentzia entzimatikoko baten bidez oxidatzen da. Oxidazioaren ondorioz, arnas katean ikusi ditugun NADH eta FADH₂ molekula horietako asko ziklo honetan eratzten dira.

2. ZIKLOAREN EZAUGARRI NAGUSIAK

1. Helburua: Lehen esan bezala, bidezidor metaboliko zikliko bat da, **helburu nagusitzat Azetil-CoA oxidatzea** duena, arnas-katerako NADH eta FADH₂ molekulak eratzeko. Halere, baditu beste hainbat funtzio metaboliko eta izaera anfibolikoa du.

2. **Prozesu aerobio eta itzulezina** da. Aerobioa da soilik oxigenoaren presentzian gertatzen delako.

3. Kokapena: **Mitokondrioan gertatzen** da ziklo hau.

**Salbuespena, arnas-kateko osagaia den mitokondrioaren barne mintzean dagoen entzima da.*

4. Krebs zikloa erregai molekulen oxidazioko azken bide komuna da. Ahalmen erreduzitzaileak eskuratzen dira, geroago arnas-katean erabiltzeko.

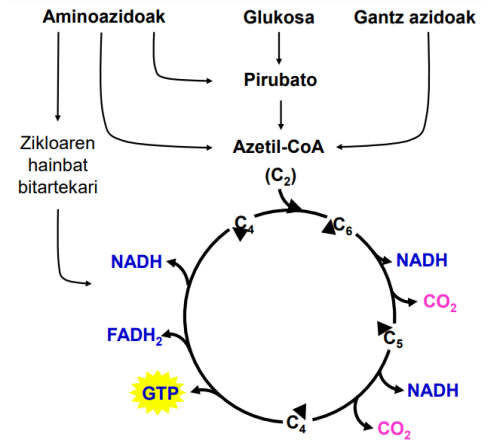
3. AZETIL-CoAren JATORRIA

Krebs zikloan substratu nagusia Azetil-CoA da. Molekula hau eskuratzeko bide ezberdinak daude.

1. Glukosaren oxidazio aerobikoan: Glukosaren oxidazioaren lehen erreakzioan, glikolisian, glukosatik pirubatoa lortzen dugu. Pirubatoa, Azetil-CoA bihurtzen da egoera aerobioetan pirubato deshidrogenasaren bidez.

2. Gantz-azidoen oxidazioan: β -oxidazioan, gantz-azidoetatik Azetil-CoA lortzen da.

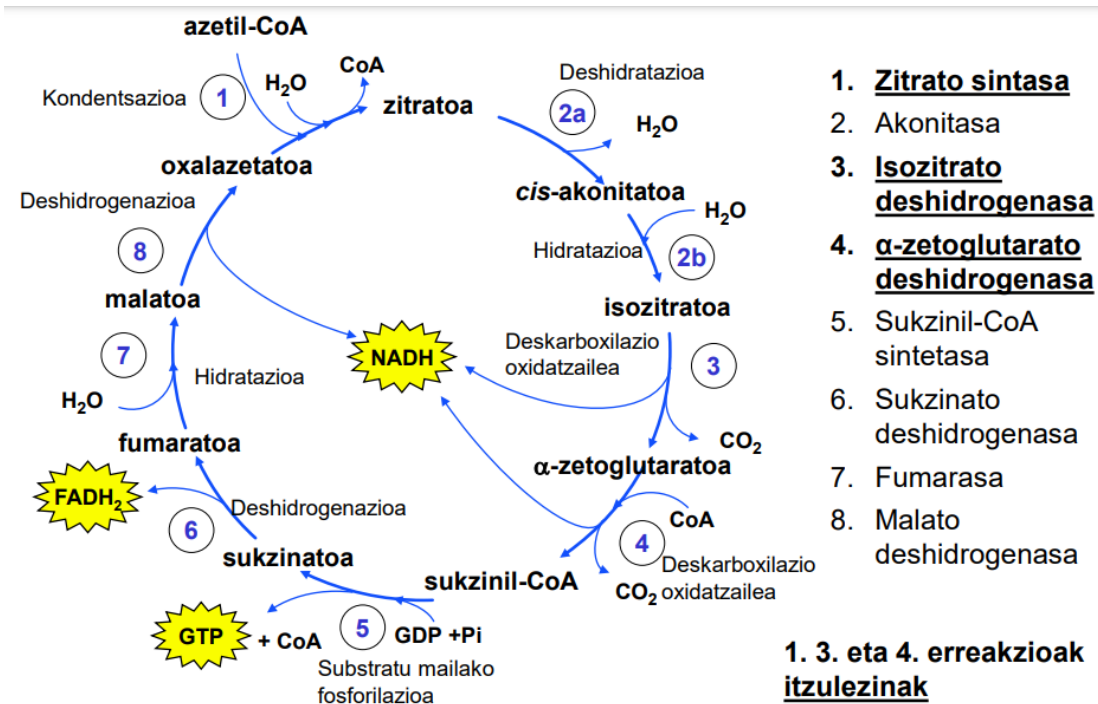
3. Hainbat aminoazidoen degradazioan: pirubatoa, Azetil-CoA edo krebs zikloaren hainbat bitartekari sor daitezke.



Zikloaren **bitartekari** batzuk erabiltzen dira hurrengoko prozesu biosintetikoetan.

4. ZIKLOA

Krebs zikloan 8 erreakzio entzimatikoen ematen dira. 9 gertatzen direla ere esan daiteke, izan ere, bigarren erreakzioak bi zati ditu, baina zuzenena 8 direla esatea da. Horietako bakoitzean entzima bat erabiliko da eta erreakzio bakoitzak bere ezaugarriak izango ditu. Bidezidor hau erabiltzen da bitartekariak lortzeko.



1. **Zitrato sintasa**
2. Akonitasa
3. **Isoitrato deshidrogenasa**
4. **alpha-zetoglutarato deshidrogenasa**
5. Sukzinil-CoA sintetasa
6. Sukzinato deshidrogenasa
7. Fumarasa
8. Malato deshidrogenasa

1, 3. eta 4. erreakzioak itzulezinak

**ITZULEZINAK DIREN ERREAKZIOAK ESKUINEAN AZPIMARRATUTA DAUDEN ERREAKZIOAK IZANGO DIRA ETA ONDOREN GORRIZ ADIERAZITA DAUDENAK; 1, 3 eta 4 erreakzioak!*

1. **ERREAKZIOA: Kondentsazioa:**

Lehen erreakzioan, **Azetil-CoA (2C) kondentsatu** egiten da **oxalazetatoarekin (4C)** eta ondorioz, **zitratoa** edo azido zitrikoa (**6C**) **sortzen** da. Erreakzioan **H₂O** molekula bat erabiltzen da eta **A koentzima askatzen** da. Zitrato sintasak katalizatzen du eta **itzulezina** da, beraz zikloko lehen kontrol puntutzat hartzen da.

Erreakzio hau oso exergonikoa da. Bere Gibbs energia askearen aldaketa egoera biokimiko estandarretan $\Delta G^{\circ} = -9$ Kcal/mol da.

2. **ERREAKZIOA: Deshidratazio / hidratazioa:** isomerizazio erreakzio bat da.

2.1. Lehenik, **zitratoa (6C) deshidratatu** egiten da eta **cis-akonitatoa sortzen** da ur molekula bat askatuz.

2.2. Bigarren zatian, **cis-akonitatoa** (bitartekaria) **hidratatu** egiten da eta **isozitratoa sortzen** da, zitratoaren isomeroa.

Akonitasa entzimak katalizatzen du eta **itzulgarria** da.

3. **ERREAKZIOA: Deskarboxilazio oxidatzailea:**

Isozitratoa deskarboxilatu egiten da eta **α -zetoglutaratoa (5C) sintetizatzen** da. Deskarboxilazioaren ondorioz, **CO₂a askatzen** da eta lehen **NADH** molekula **ekoitzen** da. Erreakzio hau Isozitrato deshidrogenasak katalizatzen du eta hau ere **itzulezina** da, beraz beste kontrol puntutzat hartzen da.

4. **ERREAKZIOA: Deskarboxilazio oxidatzailea:**

α -zetoglutaratotik, sukzinil-CoA (4C) sintetizatzen da. Horretarako **A koentzima** erabiltzen da eta deskarboxilazio bat ematen denez, **CO₂ molekula bat askatzen** da eta beste **NADH bat ekoitzen** da. Sukzinil-CoA energia maila altuko konposatua da. α -zetoglutarato deshidrogenasa entzimak katalizatzen du eta **itzulezina** da; beraz beste kontrol puntu bat da. Entzima hau, konplexu multientzimatikoa bat da; 5 koentzima erabiltzen ditu. Pirubato deshidrogenasa entzima honen antzekoa da, hau ere konplexu multientzimatikoa da.

5. **ERREAKZIOA: Substratu mailako fosforilazioa:**

Sukzinil-CoA energia maila altuko konposatua da; beraz, erreakzio honetan **A koentzima** askatu eta askatutako energiarekin **GDP** molekula bat fosforilatu eta **GTP** molekula bat sortzen da. **GTP** honetatik **ATP** molekula bat ekoiz daiteke. Erreakzioaren ondorioz **sukzinatoa ekoitzen** da.

Sukzinil-CoA sintetasak katalizatzen du eta **itzulgarria** da.

**Sintetasa → energia gastatu, ATParen hidrolisia beharrezkoa da. (sintasak ez du behar energiarik)*

ATP ekoizteko bide ezberdinak daude, substratu mailako fosforilazioa eta arnas katearekin akoplatutako fosforilazio oxidatzailea izango. Substratu mailako fosforilazioaren kasuan, energia altuko konposatu batekin akoplatuta ATParen eraketa (kasu honetan GTParen eraketa) daukagu.

Sukzinil-CoA sintetasa entzima, erreakzioa alderantziz izango balitz bezala idatzita dago.

6. ERREAKZIOA: Deshidrogenazioa:

Sukzinatetik fumaratoa sortzen da. Sukzinato deshidrogenasak katalizatzen du eta itzulgarria da. Kasu honetan ez dago energia nahikorik NADH bat eratzeko beraz, **FADH₂** molekula bat sortzen da.

Sukzinato deshidrogenasa, mitokondrioaren barne mintzean kokatzen den entzima da. Entzima hau, arnas katean parte hartzen duen bigarren konplexua da. Beraz, FADH₂a sortu bezain laster arnas katean sartzen da.

7. ERREAKZIOA: Hidratazioa:

Fumaratoa hidratatu egiten da, beraz **H₂O** molekula bat erabiltzen da eta **malatoa ekoizten** da. Erreakzio hau Fumarasa entzimak katalizatzen du eta itzulgarria da.

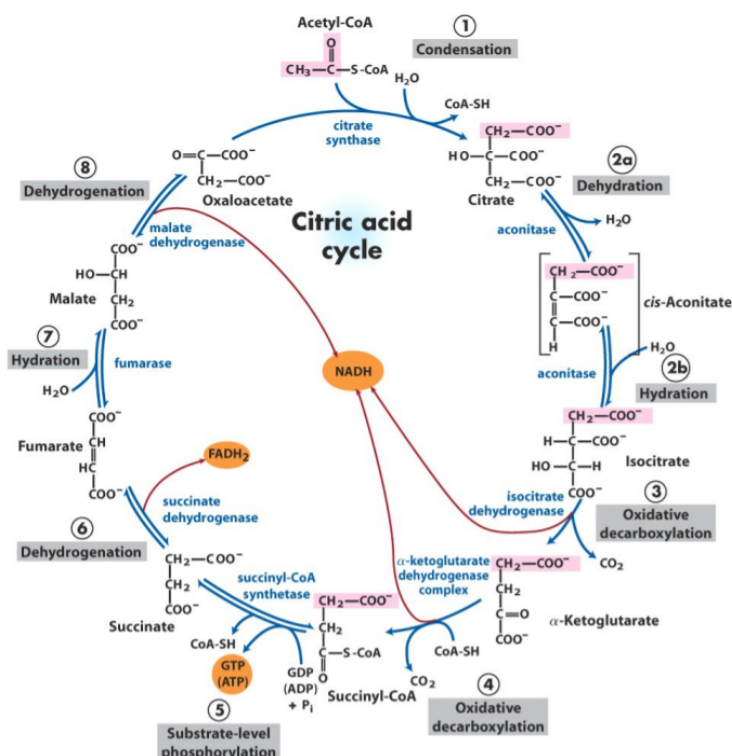
8. ERREAKZIOA: Deshidrogenazioa (erredox erreakzioa da):

Azken erreakzioa Malato deshidrogenasak katalizatzen du eta **oxalazetatoa berreskuratzen** da malatetik abiatuta. Erreakzio honetan azken **NADH molekula sortzen** da eta itzulgarria da.

Zikloan Azetil-CoA bat sartzen da (2C). Azetil-CoAren karbonoak (beheko irudian larrosaz agertzen direnak), zikloaren barruan mantendu egingo dira, gutxienez zikloaren bira oso bat ematen duten arte. Izan ere, zikloan bira bakoitzean **CO₂ eran askatzen diren C-ak oxalazetatoarenak** izango dira. Irudian ikus daitekeen bezala, Azetil-CoAren propioak diren karbonoak mantendu egiten dira erreakzio ezberdinak gertatzen badira ere (zitratoak, cis-akonitratoak, isozitratoak, α-zetoglutaratoak eta sukzinil-CoA guztiek Azetil-CoAren karbonoak izango dituzte). **Sukzinatetik aurrera** agertzen diren molekulak **simetrikoak** direnez, Azetil-CoAren C-ak mantendu arren, **ez dira markatzen**.

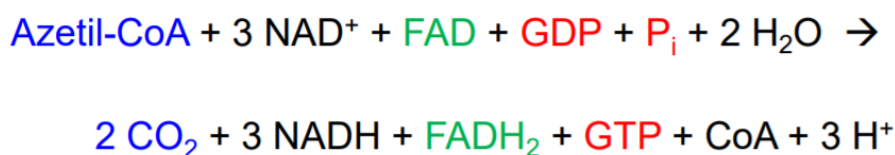
Hortaz, **Krebs zikloaren bira bat gertatzean askatzen diren karbonoak ez dira Azetil-CoArenak izango, oxalazetatoarenak baizik**. Horrela, Azetil-CoAren karbonoak askatzeko gutxienez bi bira gertatu behar dira, eta Azetil-CoAren karbonoak askatzeko probabilitatea %50ekoa izango da.

**Egiturak ez dira jakin behar.*



ZIKLOAREN ESTEKIOMETRIA

Krebsen zikloaren bira bakoitzean honako hau gertatzen da:
(Protoiak nondik datozen jakitea ez da beharrezkoa)



Goikoa: erabiltzen dena, kontsumitutakoa

Behakoa: lortzen dena, etekina

- Azetil-CoA molekula bat oxidatu eta 2 CO_2 molekula askatuko dira
- 3 NAD^+ erreduzitzen dira 3 NADH lortuz
- FAD molekula bat erreduzitzen da FADH_2 molekula bat lortuz
- GDP eta P_i (fosfato ez-organiko) bana erabiltzen dira GTP bat lortzeko (*GDParen fosforilazioa*)
- 2 H_2O erabiltzen dira CoA bat eta 3 H^+ lortzeko

Lortutako energia kantitateari dagokionez, 3 NADH , 1 FADH_2 eta 1 ATP (1 GTP ren baliokidea) lortzen dira. Beraz, **12 ATP** lortzen dira Azetil-CoA ren oxidazio batean (Krebsen zikloaren bira batean).

5. AZIDO TRIKARBOXILIKOAREN ZIKLOAREN ERREGULAZIOA

Zikloaren erreakzio itzulezinak dira erregulatuak izango direnak:

- Zitrato sintasa (1. erreakzioan)
- Isozitrato deshidrogenasa (3. erreakzioan)
- α -zetoglutarato deshidrogenasa (4. erreakzioan)

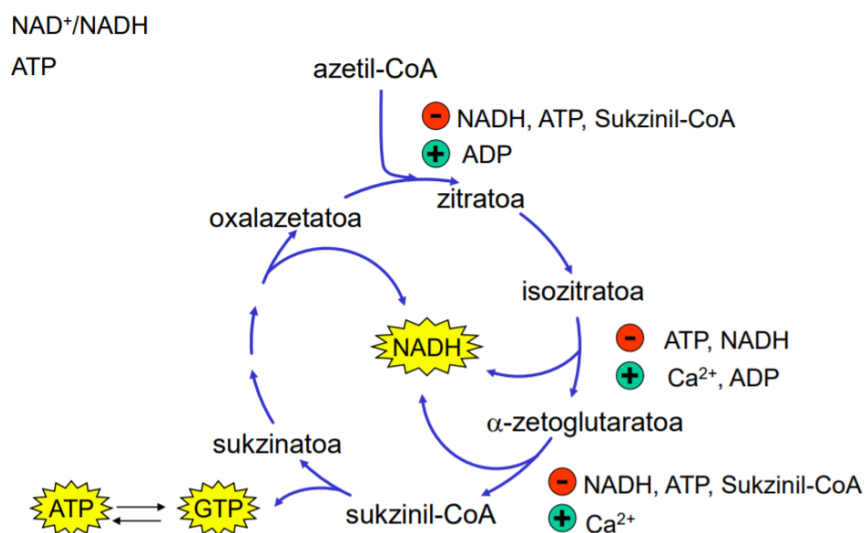
Erregulazio mekanismo orokorra:

- **Substratuen eskuragarritasunak** entzima hauen aktibitatea erregulatuko du, substratuaren kontzentrazioa altua denean entzimak aktibatuz. (*azetil CoA eta oxalazetatoa badaukagu erreakzioa gertatuko da*)
- **Produktuen metaketa** gertatzen bada, entzimak inhibitu egingo dira.
- **Zikloaren produktuak, NADH eta ATP**, zelularen energia mailaren adierazleak izango dira. NADH eta ATP mailak altuak badira, energia maila altua adieraziko dute eta beraz, ez da zikloaren beharrik egongo (inhibituko da).

Hori dela eta, esan dezakegu zikloaren erregulazioa energia behararen arabera gertatzen dela (E behar denean \rightarrow krebs zikloa aktibatu).

Ondorioz, NAD-NADH erlazioak eta ADP-ATParen arteko erlazioak eragina izango du ziklo honetan.

Zelularen energia beharren arabera



Entzima bakoitza inhibitzaile eta aktibatzaile desberdinen bidez erregulatuko da (erregulatuak alosterikoak):

- **Zitrato sintasa:**

- Inhibitzaile alosterikoak **NADH, ATP** eta **Sukzinil-CoA** (zikloaren bitartekari bat, honen kontzentrazioa igotzeak esan nahi du zikloaren bitartekariak badauzkagula, eta zikloa geldituko da) izango dira.
- + Aktibatzailea **ADP** izango da (ADP asko badago ATP gutxi egongo da eta horregatik energia beharko dugu).
- **Isozitrato deshidrogenasa:**
 - **NADH eta ATP** izango dira erregulatzailerik negatiboak.
 - + Erregulatzailerik positiboak (aktibatzaileak) **ADP eta Ca²⁺** izango dira. (muskuluen uzkurduan, energia behar da; ondorioz, kaltzioa muskuluen uzkurduan isurtzen da, eta prozesu horretan ATP asko kontsumitzen denez, Krebs zikloaren aktibazioa emango da).
- **α-zetoglutarato deshidrogenasa:**
 - Inhibitzaileak **NADH, ATP eta Sukzinil-CoA** (Sukzinil-CoA erreakzioaren produktua da, eta askotan erreakzioaren produktua entzimaren inhibitzailea da) izango dira.
 - + Aktibatzailea **Ca²⁺** izango da

6. AZIDO TRIKARBOXILIKOAREN ZIKLOAREN IZAERA ANFIBOLIKOA

Esan dugun bezala, Krebs zikloaren funtzioa ez da soilik Azetil A koentzimaren oxidazioa (prozesu katabolika), baizik eta prozesu biosintetikoetan ere erabiltzen da aintzindari desberdinak sortzeko (prozesu anabolikoak). Horregatik, Krebsen zikloa **anfibilikoa** dela esaten dugu; hau da, alde batetik degradatzailea da, baina beste alde batetik biosintetikoa den prozesu bat da.

Prozesu biosintetikoetan, bitartekari batzuk aintzindari gisa erabiltzen dira konposatu ezberdinak sortzeko.

1. **GLUKOSA SORTZEKO: Oxalazetatotik Fosfoenolpirubatoa (PEP)** sortzen da. Erreakzio hau berez glukoneogenesi prozesuaren bigarren erreakzioa da. Beraz, Fosfoenolpirubatoa glukoneogenesiaren bitartekari bat da, eta prozesu horretatik glukosa lor dezakegu.
2. **GANTZ AZIDOAK ETA KOLESTEROLA SORTZEKO (lipidoen biosintesisirako):** Biak **zitrato** lortzen dira. Izatez, bai kolesterola, bai gantz azidoak sintetizatzen aintzindaria Azetil-CoA da. Koentzima hau mitokondrioetan eratzen da (pirubatoaren deskarboxilazio oxidatzailea eta gantz azidoen β-oxidazioa mitokondrioetan gertatzen baitira).

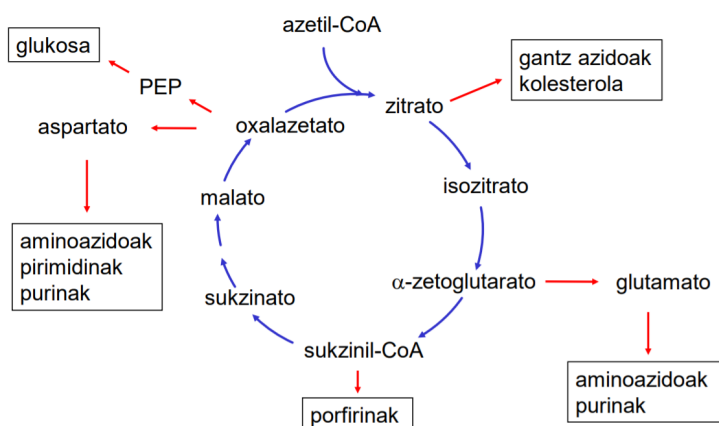
Beraz, ondoko hau ondoriozta dezakegu:

- a) Gantz azidoen oxidazioa → Mitokondrioetan ematen da.
- b) Gantz azido eta kolesterolaren sintesia → Urrats batzuk zitosolean eta beste batzuk erretikulu endoplasmaticoan.

Gantz azidoen degradazioa gertatzen denean, ez da gertatuko gantz azidoen sintesia, baina bai gerta daiteke gantz azidoen sintesia glukosaren erabilera gertatzen denean, hau da, glukosatik Azetil-CoA lortzen dugunean. Glukosaren oxidazioa pirubatoraino zitosolean ematen da. Pirubatotik, Azetil-CoAren lorpena; aldiz, mitokondrioan.

Hala ere, Azetil-CoA ezin du mitokondrioen mintza zeharkatu; beraz, **Azetil A koentzima hori mitokondriotik zitosolera garraiatzeko zitrato forma hartzen du** (zitrato moduan mintza zeharkatzeko gai delako). Ondoren zitosolean ATP zitrato liasa entzima daukagu berriro Azetil-CoA berreskuratzeko eta prozesu hauetan erabili ahal izateko (entzima honek zitratotik Azetil-CoA lortzeko erreakzioa katalizatzen du).

3. **AMINOAZIDOAK ETA PURINA NUKLEOTIDOAK LORTZEKO:** α -zetoglutaratetik transaminazio baten bidez **glutamatoa** lor daiteke eta glutamatotik beste **aminoazido** batzuk eta **purina** nukleotidoak lortzen dira.
4. **AMINOAZIDOAK, PURINA ETA PIRIMIDINAK LORTZEKO:** Oxalazetatoarekin gauza bera gertatzen da. **Oxalazetatotik aspartatoa** transaminazio bidez lortzen da, eta, aspartatetik beste **aminoazido batzuk** lor daitezke, baita **purina eta pirimidina** nukleotidoak ere.
5. **PORFIRINAK SINTETIZATZEKO:** **Sukzinil-CoA**tik **porfirina** lortzen da. **Porfirina ezinbestekoa** da protoporfirina IX moduan **Hemo taldea** eratzeko (Hemoglobinan eta arnas katearen zitokromoetan agertzen den taldea). Egitura konplexu hori sintetizatzeke Sukzinil-CoA eta glisina (aminoazido sinpleena dena) behar dira, besterik ez. (Erreakzio desberdinak gertatuko dira prozesuan, kondensazio batzuk adibidez)



7. ZIKLOAREN BITARTEKARIEN BERRESKURAPENA: ERREAKZIO ANAPLEROTIKOAK

Aintzindari biosintetikoak lortzeko Krebs zikloaren bitartekariak erabiltzen dira, horrenbestez, bitartekari hauek kontzentrazio tarte jakin batean mantentzea, ez agortzea alegia, bizitzarako ezinbestekoa da. Izan ere, bitartekariak agortzekotan, ez da oxalazetatorik sortuko, eta oxalazetatorik gabe ez da Azetil A koentzimarik oxidatuko.

Prozesu biosintetikoetan erabiltzen diren zikloaren bitartekariak berreskuratzeko erreakzio batzuk izango ditugu, **erreakzio anaplerotikoak** hain zuzen (hitz hau grekotik dator: ana=bete, plerotiko=goraino).

Erreakzio anaplerotiko garrantzitsuenak hurrengoak dira:

- 1. PIRUBATO KARBOXILASAK** katalizatzen duen erreakzioa: Pirubatoaren karboxilazioa geratzen da **oxalazetatoa** lortzeko, CO_2 molekula bat erabilia. Hau glukoneogenesiaren lehenengo erreakzioa da (*glukosaren eraketarako erabiltzen den lehenengo erreakzioa alegia*). **Erreakzioa itzulezina da.**
- 2. FOSFOENOLPIRUBATO (PEP) KARBOXIKINASAK** katalizatzen duen erreakzioa: Fosfoenolpirubatotik (PEP) **oxalazetatoa** lortzen dugu. **Erreakzioa itzulgarria da.** (*Glukoneogenesian erreakzio hau kontrako noranzkoan ikusiko dugu, hau da, oxalazetatotik PEP lortzea*).
- 3. ENTZIMA MALIKOAK** katalizatzen duen erreakzioa: **Pirubatotik malatoa** lortzen dugu erreakzio honen bidez. **Erreakzioa itzulgarria da.** (*Gantz Azidoen sintesian erreakzio hau kontrako noranzkoan ikusiko dugu, hau da, malatotik pirubatoa lortzea NADPH eskuratzearren*).
- 4. TRANSAMINASEK** katalizatzen duten erreakzioa: **Glutamatotik α -zetoglutaratoa** eta **aspartatotik oxalazetatoa** lortzen ditugu transaminazioetan. **Erreakzioak itzulgarriak dira.**

