

# Ciclo del ácido cítrico

El ciclo del ácido cítrico oxida acetil-CoA, producto común de la degradación de la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos cetogénicos, a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  con la producción de NADH y  $\text{FADH}_2$ . Muchos aminoácidos glucogénicos pueden ser oxidados vía el ciclo del ácido cítrico por su conversión a uno de los intermediarios del ciclo. Las actividades de las enzimas regulatorias del ciclo del ácido cítrico (citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa), están controladas por la disponibilidad de sustratos y por inhibición por retroalimentación de intermediarios del ciclo.

# Ciclo del ácido cítrico Ciclo de Krebs o de los ácidos tricarboxílicos

En condiciones anaerobias, las células animales reducen el [piruvato](#) a lactato, en las levaduras a etanol. Por el contrario, en condiciones aerobias, el piruvato ingresa a la [matriz mitocondrial](#) y es convertido a acetil-Coenzima A (AcCoA) para llevar estos Carbonos a su estado de oxidación total en el ciclo del ácido cítrico.

El ciclo del ácido cítrico, considerado el embudo del metabolismo, consiste ocho reacciones enzimáticas, todas ellas mitocondriales en los eucariontes. El ciclo del ácido cítrico es la vía central del metabolismo aerobio: es la vía oxidativa final en el catabolismo de los carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos, además es una fuente importante de intermediarios de vías biosintéticas. En muchas células la acción acoplada del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones son responsables de la mayoría de la energía producida.

## Historia:

Si los libros científicos fueran crónicas que narraran el tortuoso camino de la ciencia para viajar de una hipótesis a la siguiente, desechando la primera y fortaleciendo la segunda, serían más cercanos a las realidades del progreso científico que a la ordenada narrativa que a menudo presentan. Estas realidades son perfectamente ilustradas por la historia y descubrimiento del ciclo del ácido cítrico.

La historia comienza a principios de la década de los 30's con el descubrimiento de que al agregar succinato, fumarato y malato a músculos machacados incrementa la velocidad del consumo de Oxígeno. El oxaloacetato se incorporó a la lista de ácidos dicarboxílicos cuando se descubrió que se podía formar en condiciones aeróbicas a partir del piruvato. En 1935 A. Szent-Györgyi propuso que ciertos pares de ácidos dicarboxílicos eran interconvertidos por la acción de deshidrogenasas y que este proceso estaba relacionado con la respiración.

Aunque el ácido cítrico fue descubierto en 1784 por Carl Wilhelm Scheele en el jugo de limón, y no fue hasta 1937 que los científicos entendieron su participación en el metabolismo. Carl Martius y Franz Knoop mostraron que el ácido cítrico es convertido en  $\alpha$ -cetoglutarato por medio del isocitrato. Se supo también que el  $\alpha$ -cetoglutarato puede ser oxidado a succinato.

La formación del citrato era la pieza faltante para poder armar completamente el rompecabezas metabólico. El descubrimiento que resolvió este rompecabezas y unificó el metabolismo fue hecho en

1937 por Sir Hans Krebs y W.A. Johnson: ellos mostraron que el citrato es derivado del piruvato y del oxaloacetato completando lo que se conoce como el ciclo del ácido cítrico. En 1953 Krebs ganó el premio Nobel por estas importantes aportaciones.

Se necesitó de una década para demostrar que el Ac-CoA, derivado del piruvato, es la fuente intermediaria de los fragmentos de dos Carbonos que se combinan con el oxaloacetato para formar citrato.

En 1948 E.P. Kennedy y A. Lehninger descubrieron que en mitocondrias aisladas de homogenizados de hígado de rata, se llevaban a cabo la oxidación del piruvato y de todos los intermediarios del ciclo de Krebs a expensas de O<sub>2</sub>, por tanto contienen todas las enzimas necesarias para catalizar las reacciones del ciclo y del transporte energético. Algunas de las enzimas que participan en este proceso, están en la matriz mitocondrial, otras unidas a la membrana interna. En algunos tejidos, en el citosol, se encuentran la aconitasa (hidrolasa), la isocitrato deshidrogenasa (NADP<sup>+</sup> dependiente), la fumarasa y la malato deshidrogenasa.

La respiración es el proceso por medio del cual las células aeróbicas obtienen energía a partir de la oxidación de las moléculas combustibles por el oxígeno.

El ciclo de Krebs, es la ruta central común para la degradación de los restos acetilo (de 2 átomos de C) que derivan de los glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos. Es una ruta universal, catalizada por un sistema multienzimático que acepta los grupos acetilo del acetil-CoA como combustible, degradándolo hasta CO<sub>2</sub> y átomos de Hidrógeno, que son conducidos hasta el O<sub>2</sub> que se reduce para formar H<sub>2</sub>O (en la cadena de transporte de electrones).

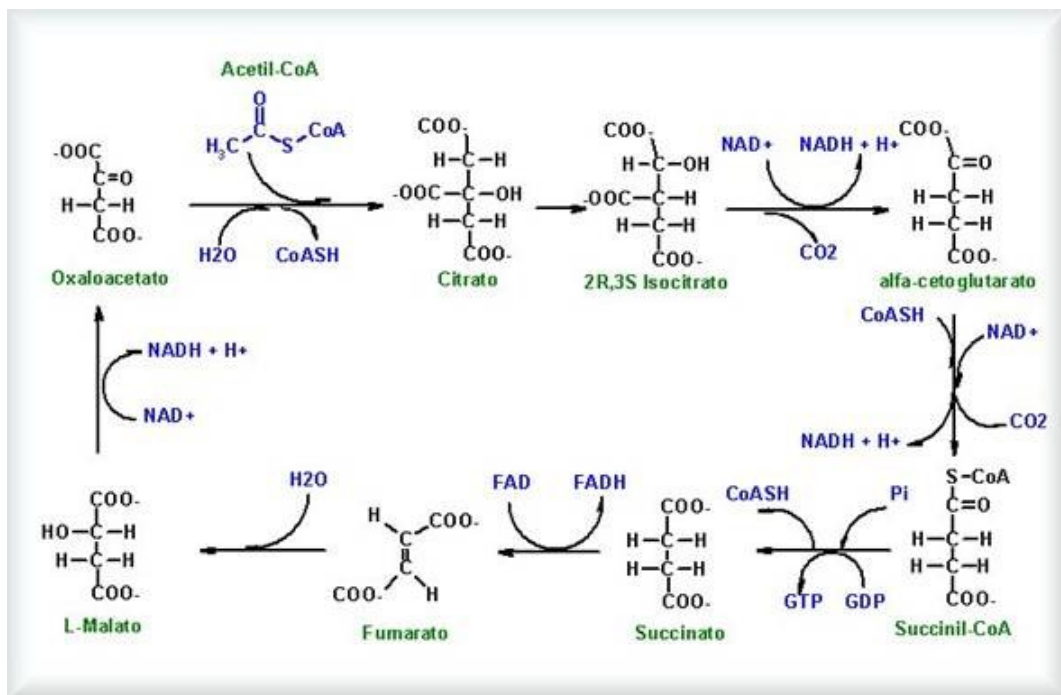


Figura: las reacciones del ciclo de Krebs.

La oxidación del piruvato a Ac-CoA es catalizada por el complejo multienzimático de la piruvato deshidrogenasa (PDH), el proceso que es muy complicado, se resume en:

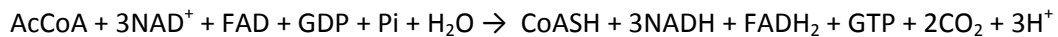


Esta reacción irreversible en tejidos animales, no forma parte del ciclo de Krebs, pero constituye un paso obligatorio para la incorporación de los glúcidos al ciclo.

El trabajo acoplado del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones es la mayor fuente de energía metabólica.

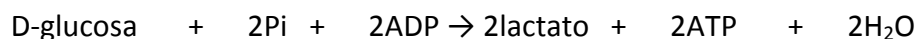
El metabolismo aerobio del piruvato por el ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones produce mucha más energía que la simple conversión aerobia del piruvato a lactato o etanol. En condiciones aerobias, el piruvato sufre una descarboxilación oxidativa con la formación de AcCoA. El grupo acetilo del AcCoA es transferido al oxaloacetato para dar citrato

En reacciones subsecuentes, dos de los átomos de Carbono del citrato se oxidan a  $\text{CO}_2$  y el oxaloacetato es regenerado. La reacción neta de ciclo del ácido cítrico también produce tres moléculas de NADH, una de  $\text{FADH}_2$  y una molécula del compuesto trifosfato de guanosina (GTP) altamente energético (en algunos organismos es directamente ATP) por cada molécula de AcCoA oxidada

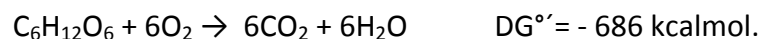


Las moléculas de NADH y  $\text{FADH}_2$  son oxidadas en la cadena de transporte de electrones con la formación de ATP en la fosforilación oxidativa. El ATP puede ser producido a partir del GTP vía una fosforilación a nivel de sustrato, que es la transferencia de un grupo fosforilo de un compuesto rico en energía como el GTP, al ADP.

La conversión anaeróbica de glucosa a lactato por la glucólisis ocurre con un cambio en la energía libre estándar de  $- 30 \text{ kcal mol}^{-1}$



La oxidación completa de la glucosa a bioxido de Carbono y agua por la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones ocurre con un cambio en la energía libre estándar de  $- 686 \text{ kcal mol}^{-1}$ , un cambio de más de 20 veces:



Alrededor del 40 % de la energía liberada por la oxidación de los alimentos es conservada en forma de ATP. Aproximadamente tres moléculas de ATP son producidas por cada molécula de NADH oxidada a  $\text{NAD}^+$  y aproximadamente dos moléculas de ATP son producidas por cada molécula de  $\text{FADH}_2$  oxidada a FAD por la cadena de transporte de electrones. Un máximo de 38 moléculas de ATP pueden ser producidas por la oxidación completa de la glucosa

# Las reacciones del ciclo del ácido cítrico

## FORMACIÓN DEL ÁCIDO CÍTRICO

La enzima citrato sintasa fue descrita por Severo Ochoa quien la denominó como enzima condensante, pues lleva a cabo una condensación aldólica entre el metilo del Ac-CoA y el carbonilo del oxaloacetato, en la reacción se hidroliza el tioéster y se forma el CoA-SH (succinil-CoA). Esta enzima también cataliza la formación del monofluorocitrato a partir de monofluoro-Ac-CoA. Esta reacción es letal, pues el fluoroacetato no es tóxico, pero el fluorocitrato es inhibidor de la aconitasa, siguiente enzima del ciclo. La citrato sintasa es inhibida por succinil-CoA, ATP, NADPH, ésteres de CoA y ácidos grasos de cadena larga (18C), no se sabe si esto último tiene significado biológico.

La reacción de la citrato sintasa se divide en tres pasos, los dos primeros son concertados: 1.- formación del anión tienolato; 2.- formación del S-citril-CoA (una molécula quiral) y 3.- formación de citrato y liberación de CoASH.

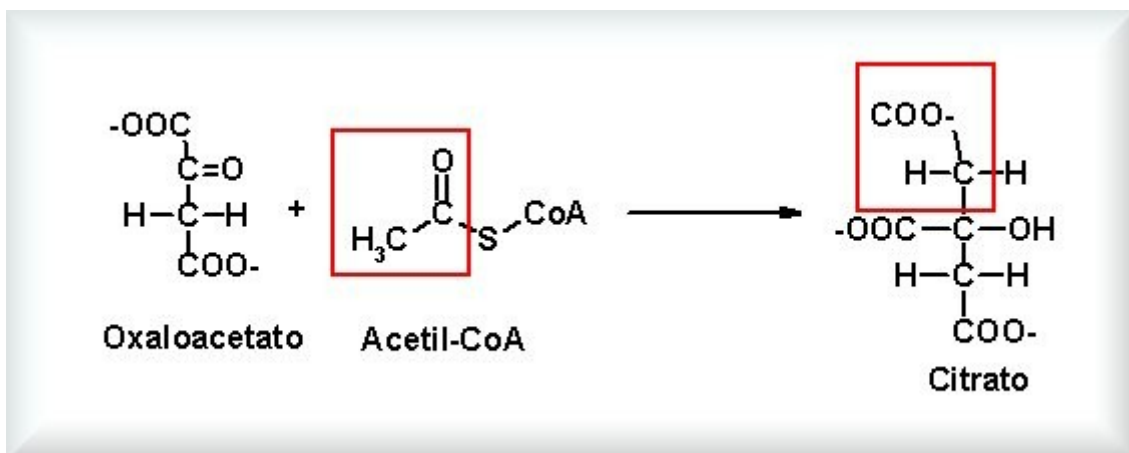


Figura: representación de la transformación del oxaloacetato en citrato.

## FORMACIÓN DEL ISOCITRATO

La aconitasa cataliza la interconversión entre estos isómeros. La enzima contiene Fe(II) y necesita un tiol como cisteína o glutatión (Glu-Cys-Gly) para efectuar la reacción. Cataliza la adición reversible de H<sub>2</sub>O al doble enlace del ácido cis-aconítico, el H y el OH del agua siempre se acoplan en posición *trans* entre ellos a través de la formación del intermediario *cis*-aconitato.

# FORMACIÓN DEL $\alpha$ -CETOGLUTARATO

Es una descarboxilación oxidativa del isocitrato para formar  $\alpha$ -ceto(oxo)glutarato y la generación de la primera molécula de  $\text{CO}_2$  y NADH del ciclo. La enzima que cataliza la reacción es la isocitrato deshidrogenasa, que existe en dos isoformas, una dependiente de  $\text{NAD}^+$  que sólo se encuentra en mitocondria y otra dependiente de  $\text{NADP}^+$  que también está en citoplasma.

La enzima dependiente de  $\text{NAD}^+$  es el catalizador principal de la vía, necesita ADP como modulador positivo, así como  $\text{Mg}^{2+}$ . Es un homooctámero de 380,000 que es inhibido por NADH y ATP. La isocitrato deshidrogenasa dependiente de  $\text{NADP}^+$  no es alostérica.

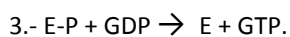
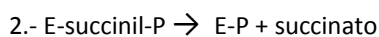
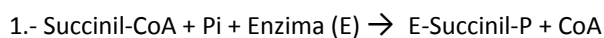
# FORMACIÓN DE SUCCINIL-CoA

En animales, es una oxidación irreversible del  $\alpha$ -ceto(oxo)glutarato, proceso catalizado por el complejo de la  $\alpha$ -ceto(oxo)glutarato deshidrogenasa que consiste en la descarboxilación oxidativa de un cetoácido ( $\alpha$ -ceto(oxo)glutarato), liberando el segundo  $\text{CO}_2$  y NADH del ciclo del ácido cítrico. El proceso en general recuerda la reacción catalizada por el complejo multienzimático de la [piruvato deshidrogenasa](#); en este caso las enzimas que forman el complejo son:  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa ( $E_1$ ), dihidrolipoil transsuccinilasa ( $E_2$ ) y dihidrolipoil deshidrogenasa ( $E_3$ ). La reacción es análoga a la oxidación del piruvato a Ac-CoA y se produce por el mismo mecanismo, participan como coenzimas: PPI de [tiamina](#), ácido lipóico, CoA, FA

# FORMACIÓN DEL SUCCINATO

Es una disociación del succinil-CoA, la CoA no se pierde por simple hidrólisis, sino en una reacción de conservación de la energía con el difosfato de guanosina y fósforo inorgánico.

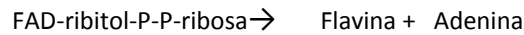
La enzima es la succinil-CoA sintetasa (también llamada succinato tiocinasa), que sintetiza un enlace de alta energía en el GTP. Se ha encontrado que el mecanismo se lleva por la fosforilación de la enzima en una histidina, el mecanismo de reacción consiste de tres eventos:



El GTP cede su  $-\text{P}$  al ADP para formar ATP reacción catalizada por la nucleósido difosfato cinasa, esta es una fosforilación a nivel de sustrato como la que cataliza la [piruvato cinasa](#) en la glucólisis.

## FORMACIÓN DEL FUMARATO

La oxidación del succinato es catalizada por la succinato deshidrogenasa, flavoproteína que contiene FAD unido covalentemente.



Esta enzima está unida a la membrana interna mitocondrial, el FAD actúa como un aceptor de hidrógenos en la reacción.

Esta enzima es una ferrosulfoproteína de 100,000 kDa, que contiene un FAD, 8 átomos de Fe y 8 de azufre; es un heterodímero. En la subunidad mayor (70,000 kDa), se encuentra el FAD, 4Fe y 4S; la otra subunidad es de 30,000 Da. La succinato deshidrogenasa es activada por succinato, fósforo inorgánico, ATP, y coenzima Q (CoQ) reducida. Por otra parte, es inhibida por oxaloacetato, su actividad es mucho mayor que las demás enzimas del ciclo y que las de la cadena respiratoria.

## FORMACIÓN DEL L-MALATO

La hidratación reversible del fumarato a L-malato es catalizada por la fumarasa, que es una enzima hidratasa.

La fumarasa tiene un peso molecular de 200,000 kDa, es un homotetrámero activo (sus monómeros son inactivos cuando se separan). Esta enzima es inhibida por ATP, y es estereoespecífica para su sustrato.

## FORMACIÓN DEL OXALOACETATO

Es la última reacción del ciclo. La malato deshidrogenasa  $\text{NAD}^+$  dependiente cataliza la oxidación del L-malato a oxaloacetato. Es una enzima estereoespecífica, se encuentran 2 isoformas en animales, una mitocondrial y otra citoplásmica.

# Las transiciones moleculares que ocurren durante el ciclo de Krebs

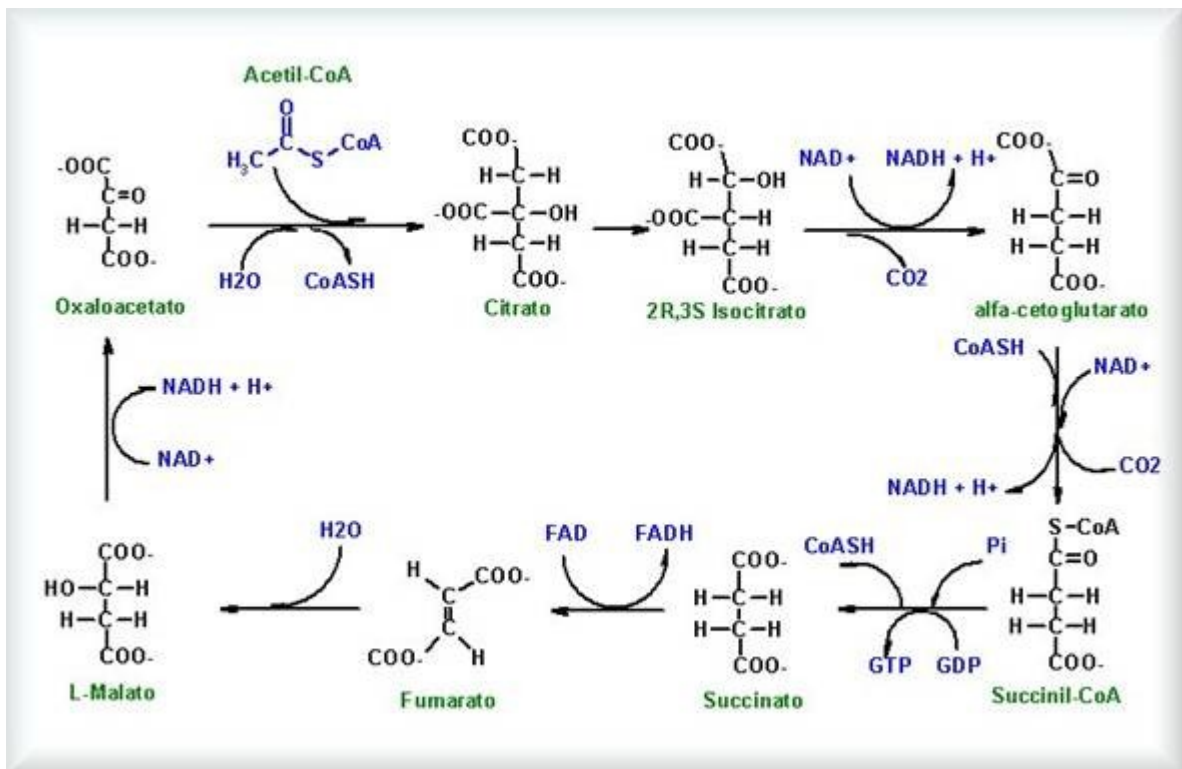


Figura: Representación de las transiciones moleculares que ocurren durante el ciclo de Krebs.

## Las reacciones parciales del ciclo de los ácidos tricarboxílicos

Reaction	Enzyme	$\Delta G^{o'}$ (kJ/mol)
1. Acetyl-CoA + oxaloacetate + H <sub>2</sub> O $\longrightarrow$ citrate + CoA-SH + H <sup>+</sup>	Citrate synthase	-32.2
2a. Citrate $\rightleftharpoons$ <i>cis</i> -aconitate + H <sub>2</sub> O	Aconitase	} +6.3
2b. <i>cis</i> -Aconitate + H <sub>2</sub> O $\rightleftharpoons$ isocitrate	Aconitase	
3. Isocitrate + NAD <sup>+</sup> $\rightleftharpoons$ $\alpha$ -ketoglutarate + CO <sub>2</sub> + NADH	Isocitrate dehydrogenase	-20.9
4. $\alpha$ -Ketoglutarate + NAD <sup>+</sup> + CoA-SH $\rightleftharpoons$ succinyl-CoA + CO <sub>2</sub> + NADH	$\alpha$ -Ketoglutarate dehydrogenase complex	-33.5
5. Succinyl-CoA + P <sub>i</sub> + GDP $\rightleftharpoons$ succinate + GTP + CoA-SH	Succinyl-CoA synthetase	-2.9
6. Succinate + FAD (enzyme-bound) $\rightleftharpoons$ fumarate + FADH <sub>2</sub> (enzyme-bound)	Succinate dehydrogenase	0
7. Fumarate + H <sub>2</sub> O $\rightleftharpoons$ L-malate	Fumarase	-3.8
8. L-Malate + NAD <sup>+</sup> $\rightleftharpoons$ oxaloacetate + NADH + H <sup>+</sup>	Malate dehydrogenase	+29.7
	Net	<u>-57.3</u>



# El ciclo de los ácidos tricarboxílicos y su función en el metabolismo central

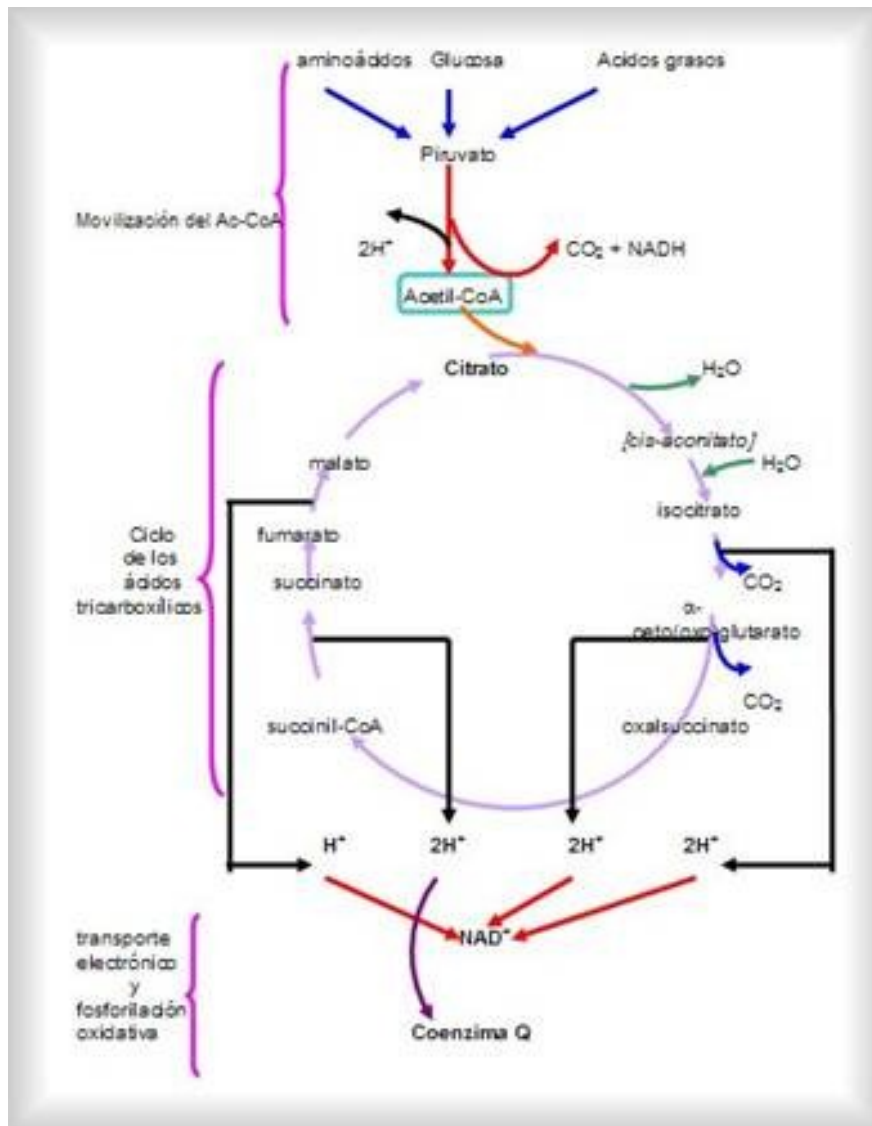
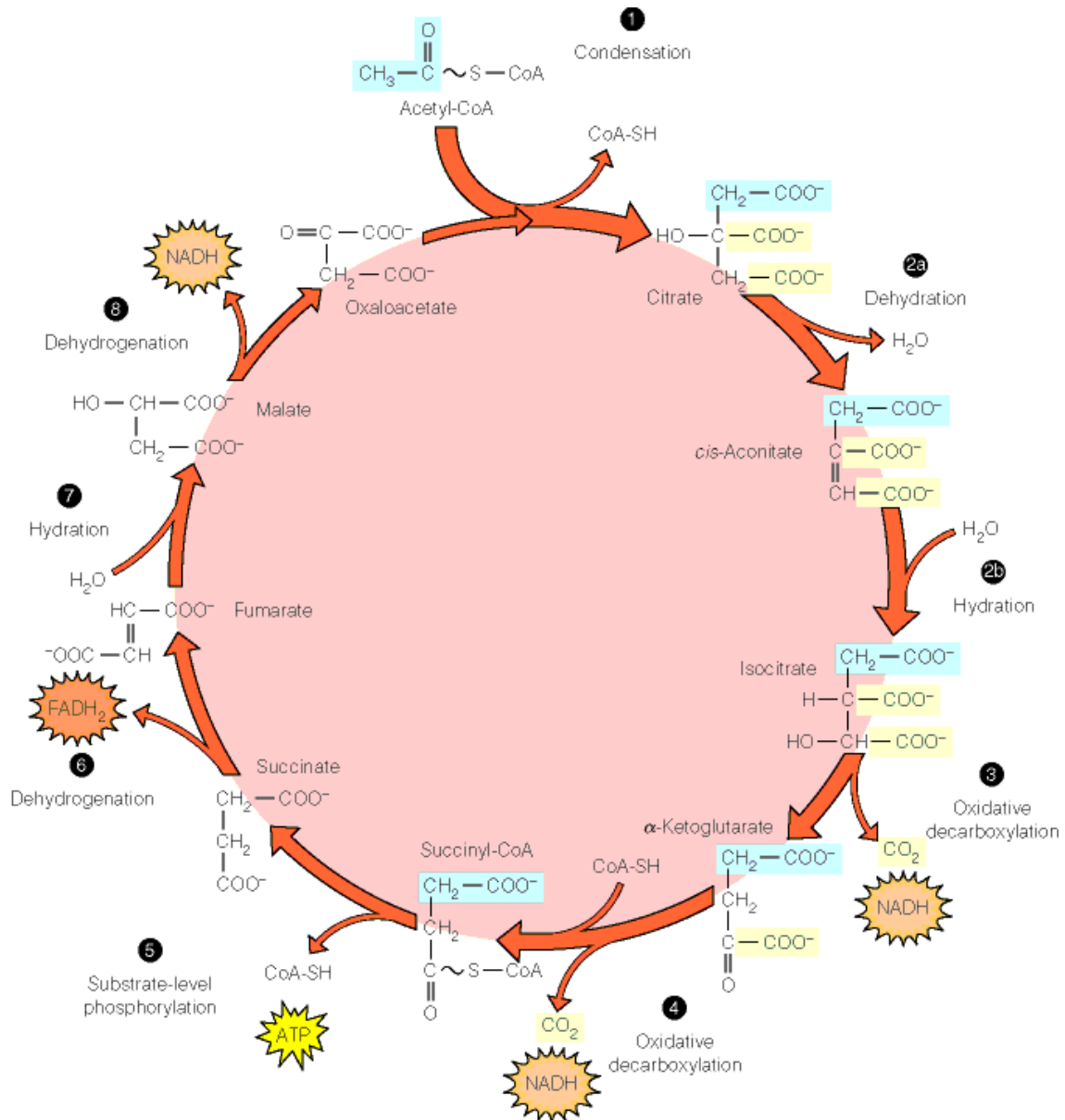


Figura: representación del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y su función en el metabolismo central.

# Esquema ciclo de Krebs

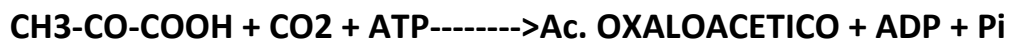


# Reacciones Anapleiróticas

Existen algunas reacciones que están destinadas a reponer algunos de los intermediarios del CTC. El ác. Oxaloacético cumple una función catalítica en este, ya que después de su adición experimental o in vitro se ha observado un elevado consumo de Oxígeno, mayor que el necesario para metabolizarlo. Por lo tanto, los mecanismos para mantener su concentración en estado estable son de fundamental importancia para el metabolismo oxidativo.

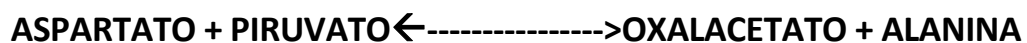
La primera de estas reacciones que aporta Oxaloacetato, es por la carboxilación del Piruvato con ATP y Biotina en el hígado y riñón por la enzima PIRUVATO CARBOXILASA. Esta es una enzima alostérica y es activada por Acetil-SCoA (Fig. 7 - 9):

## Biotina



Otras reacciones que alimentan de intermediarios al CTC, son las originadas por la Transaminación de algunos aminoácidos, como lo son el Aspartato y el Glutamato. Estos aminoácidos por acción de una Transaminasa, con una constante de equilibrio cercana a uno, cuyas reacciones son reguladas por aporte de substrato y remoción de productos forman los intermediarios del CTC, Oxaloacetato y  $\alpha$ -Cetoglutarato:

## PALP



## PALP



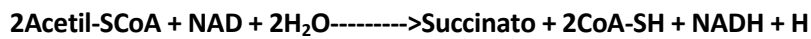
Otro caso de interés ocurre en el músculo cardíaco y esquelético donde la enzima Mállica produce Piruvato a partir del Malato que encuentra en el citoplasma. El Malato proviene del Citrato que ha abandonado la Mitocondria cuando el CTC está inhibido por exceso de ATP.



Esta enzima produce gran parte del NADPH necesario para el metabolismo biosintético de los Lípidos en el citoplasma a partir del Citrato. Este último al salir al citoplasma se descompone en sus precursores, Acetil-SCoA y Ac. Oxaloacético por la acción de la Citrato Liasa con el gasto de una molécula de ATP. El Acetil-SCoA transportado al citoplasma desde la mitocondria será el precursor de los ácidos grasos.

# Ciclo Glioxílico

Este Ciclo ocurre en los Glioxisomas de las plantas, especialmente en las semillas y se emplea para convertir Ácidos Grasos en Glucosa (Fig. 14 - 9). Se le puede considerar a este Ciclo como anaplerótico y su balance general es:



En él se emplean dos enzimas distintas al resto, la Isocitrato Liasa y la Malato Sintasa. Ambas permiten la incorporación de dos moléculas de Acetil-SCoA al Ciclo Tricarboxílico. Las reacciones normales de descarboxilación del CTC no se encuentran presentes en este Ciclo Glioxílico.

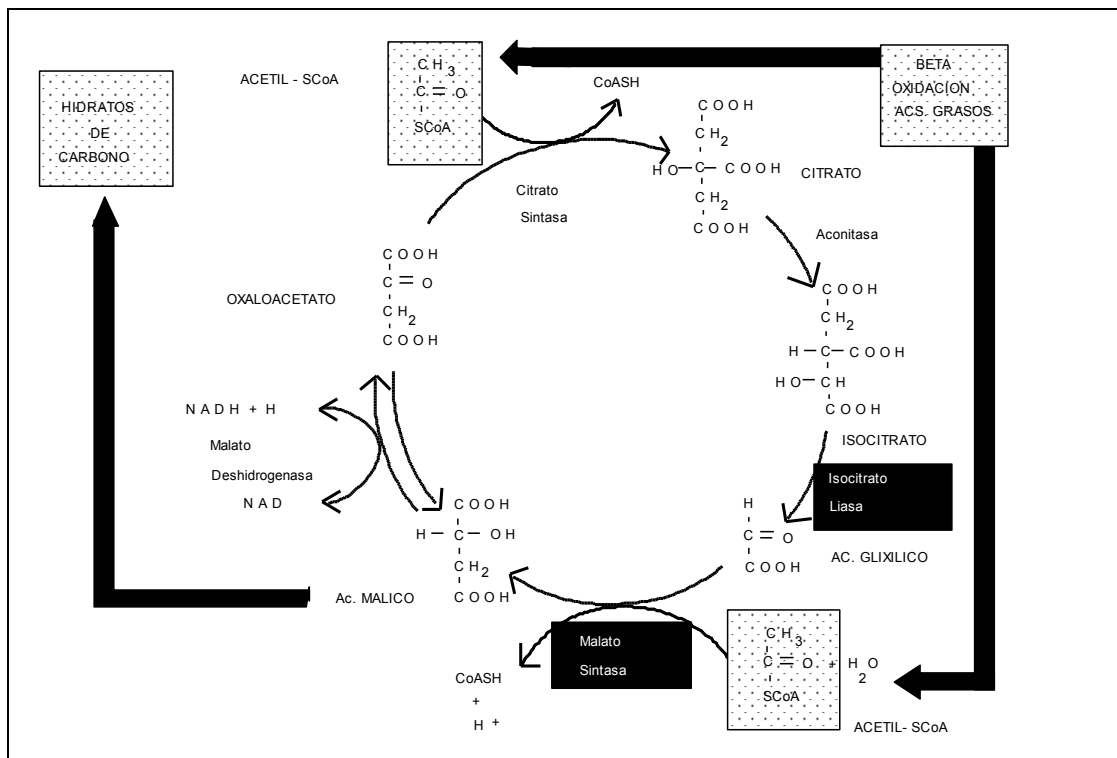


Fig. 14 - 9. Ciclo biosintético o Ciclo Glioxílico.

El Malato acumulado de esta manera se destina a la síntesis de Hidratos de Carbono al igual que en la Gluconeogénesis.