الكيمياء الحيوية 2

حلقة كريبس (حلقة حمض الليمون)

Krebs Cycle (Citric Acid Cycle)

الدكتورة

راما حسين ابراهيم

العام الدراسي 2023-2024

I. حلقة كريبس وأهميتها البيولوجية:

تدعى أيضاً بحلقة حمض الليمون Citric acid cycle، أو حلقة الحمض ثلاثي الكربوكسيل Tri-Carboxylic Acid cycle (TCA)، وهي عبارة عن سلسلة من 8 تفاعلات أنزيمية تتم في الميتوكوندريا، تهدف إلى استكمال أكسدة الغلوكوز هوائياً (أي بوجود الأوكسجين) من أجل الحصول على طاقة إضافية.

كما ذكرنا سابقاً، تؤدي عملية تحلل الغلوكوز في الستوبلاسما إلى الحصول على جزيئتي بيروفات. تنتقل البيروفات إلى الميتوكوندريا، حيث تتعرض لعملية نزع كربوكسيل تأكسدي بواسطة معقد أنزيمي يدعى البيروفات ديهيدوجيناز Pyruvate dehydrogenase متحولةً إلى أسيتيل-كوأ مع انطلاق CO_2.

يتم في حلقة كريبس أكسدة زمرة الأسيتيل في الأستيل-كوأ إلى جزيئتي CO_2، مع إرجاع التمائم الأنزيمية NAD+ (Nicotinamide adenine dinucleotide) و Q (Ubiquinone) إلى NADH و QH (Ubiquinol)، على التوالي. تأتي أهمية التمائم الأنزيمية بشكلها المرجَع (NADH و QH) من كونها قابلة لإعادة الأكسدة ضمن مايسمى بالسلسلة التنفسية (أو سلسلة نقل الالكترونات) في الميتوكوندريا، ممايسمح بتوليد جزيئات ATP.

- **إن أهمية حلقة كريبس البيولوجية تتمثل في كونها نقطة تقاطع لكل من عمليات الهدم والبناء للمركبات الكيميائية الحيوية، حيث أنها:**

- ✓ تعتبر السبيل النهائي المشترك للأكسدة الهوائية لكل من السكريات، اللبيدات والبروتينات.
- ✓ تلعب دوراً محورياً في عملية اصطناع الغلوكوز، اصطناع الشحوم وعمليات التحول بين الحموض الامينية.

ولذلك، فإن العيوب الجينية في أنزيمات حلقة كريبس غالباً ماتؤدي إلى الوفاة، أو تسبب على الأقل خلل بالنمو الطبيعي للجسم.

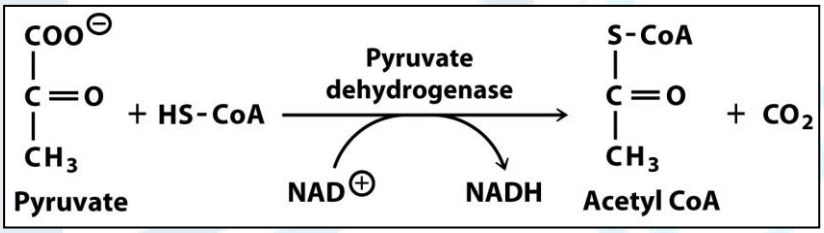
بدايةً سيتم التطرق لعملية تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ، ومن ثم عملية أكسدة الأسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس.

II. تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ Conversion of pyruvate to acetyl-CoA:

كما ذكرنا سابقاً، تلعب البيروفات المتشكلة من عملية تحلل الغلوكوز دوراً محورياً في العمليات الاستقلابية من خلال إمكانية تحولها إلى غلوكوز أو حموض أمينية، أو استخدامها في عمليات إنتاج الطاقة من خلال استكمال استقلابها إما لاهوائياً (تحولها إلى لاكتات) أو هوائياً بحلقة كريبس.

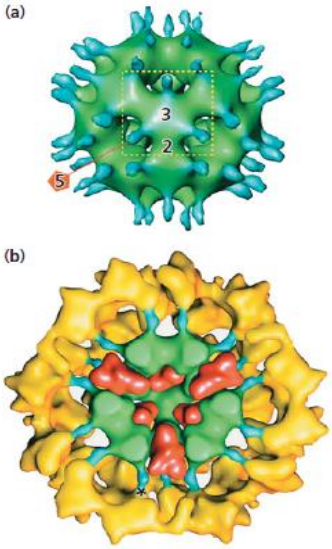
لكي تستطيع البيروفات الدخول في حلقة كريبس، لابد من تحولها بدايةً إلى أسيتيل-كوأ الذي يعتبر الركازة الأساسية لحلقة كريبس. تتم عملية تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ بواسطة معقد كبير من الأنزيمات والتمائم الأنزيمية يدعى **بمعقد البيروفات ديهيدوجيناز Pyruvate dehydrogenase complex**. تتم عملية تحلل الغلوكوز إلى بيروفات في السيتوبلاسما، في حين أن عملية تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ **تتم في الميتوكوندريا** نظراً لتواجد معقد البيروفات ديهيدروجيناز في الميتوكوندريا.

يقوم معقد البيروفات ديهيدروجيناز بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي من البيروفات، يتم خلالها نقل زمرة الأسيتل من البيروفات إلى التميم الأنزيمي HS-CoA، مع انطلاق CO2 وإرجاع +NAD إلى NADH.



يعتبر معقد البيروفات ديهيدوجيناز من أضخم المعقدات الأنزيمية في خلايا حقيقيات النوى، ويتكون من عدة نسخ من 3 أنواع من الأنزيمات:

1) **أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز Pyruvate dehydrogenase (تحت الوحدة E1).**
2) **أنزيم داي هيدروليبوأميد أسيتيل ترانسفراز Dihydrolipoamide acetyltransferase (تحت الوحدة E2).**
3) **أنزيم داي هيدروليبوأميد ديهيدروجيناز Dihydrolipoamide dehydrogenase (تحت الوحدة E3).**



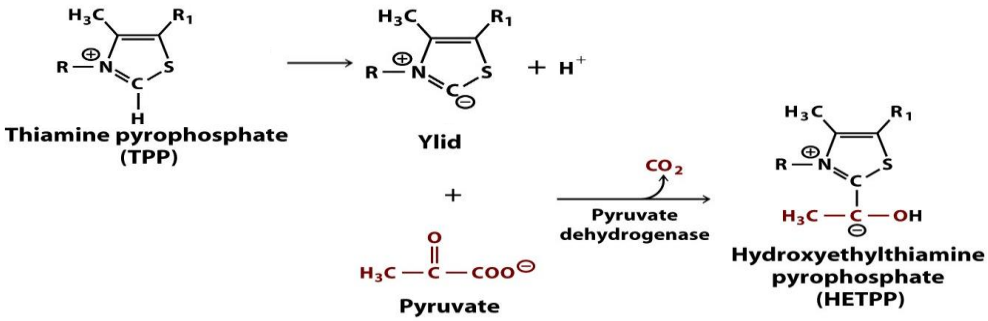
يوضح الشكل التالي صورة توضيحية لمعقد البيروفات ديهيدروجيناز مأخوذة من مجهر الكتروني عالي الدقة. يتكون المعقد الأنزيمي من 60 نسخة من تحت الوحدة E2 متوضعة في المركز (موضحة باللون الأخضر)، و 60 نسخة من تحت الوحدة E1 تتجمع على شكل حلقة محيطة بتحت الوحدات E1 (موضحة باللون الأصفر)، و 12 نسخة من تحت الوحدة E3 تتوضع على السطح (موضحة باللون الأحمر).

يتطلب عمل الأنزيمات الثلاثة الداخلة في تكوين معقد البيروفات ديهيدروجيناز استخدام 5 أنواع من التمائم الانزيمية، هي: +NAD، FAD، Lipoamide، TPP (Thiamine Pyrophosphate)، Coenzyme A (HS-CoA)، التي ستدرس لاحقاً بالتفصيل في بحث التمائم الأنزيمية.

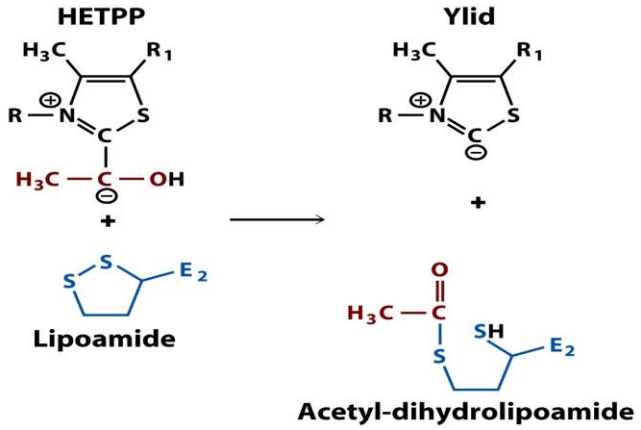
A. مراحل تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ:

تتم عملية تحول البيروفات إلى أسيتل-كوأ عبر 5 مراحل:

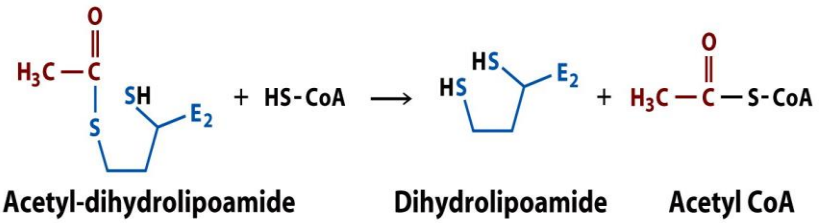
المرحلة 1: يتم هذا التفاعل بوساطة أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز (E1) بوجود التميم الأنزيمي TPP، حيث يتم نزع كربوكسيل تأكسدي من البيروفات مؤدياً إلى تشكل المركب الوسطي هيدروكسي إيتيل-الثيامين بيروفوسفات (HETPP) وانطلاق CO2.



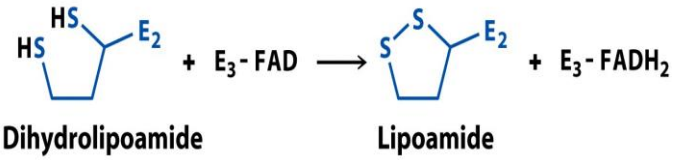
المرحلة 2: يتم هذا التفاعل أيضاً بوساطة أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز (E1) وبوجود التميم الأنزيمي الليبوأميد، حيث يتم أكسدة HETPP وإرجاع الليبوأميد إلى داي هيدروليبوأميد، مع نقل زمرة الأسيتيل من HETPP إلى أحد زمر الثيول الناتجة من إرجاع الليبوأميد.



المرحلة 3: يتم هذا التفاعل بوساطة أنزيم داي هيدروالليبوأميد أسيتيل ترانسفيراز (E2) بوجود التميمين الأنزيميين الليبوأميد و Coenzyme A، حيث يتم نقل زمرة الأسيتيل إلى Coenzyme A ليتشكل الأسيتيل-كوأ ويتحرر داي هيدروالليبوأميد من جديد.



المرحلة 4: يتم هذا التفاعل بوساطة أنزيم داي هيدرواليبوأميد ديهيدروجيناز (E3) بوجود التميم الأنزيمي FAD، ويهدف هذا التفاعل إلى إعادة أكسدة داي هيدرواليبوأميد الذي تمت أكسدته في المرحلة الاولى، حيث يتشكل في نهاية التفاعل الليبوأميد بشكله المؤَكسَد وFADH2.



المرحلة 5: يتم هذا التفاعل أيضاً بوساطة أنزيم داي هيدرواليبوأميد ديهيدروجيناز بوجود التميم الأنزيمي NAD+، حيث يتم إعادة أكسدة التميم الانزيمي FADH2 إلى FAD من أجل إعادة المعقد الانزيمي الكلي إلى شكله الأساسي ليبدأ دورة جديدة من تحويل البيروفات إلى أسيتيل-كوأ.

$$E_3—FADH_2 + NAD^{\oplus} \longrightarrow E_3—FAD + NADH + H^{\oplus}$$

B. تنظيم معقد البيروفات ديهيدروجيناز Regulation of pyruvate dehydrogenase complex:

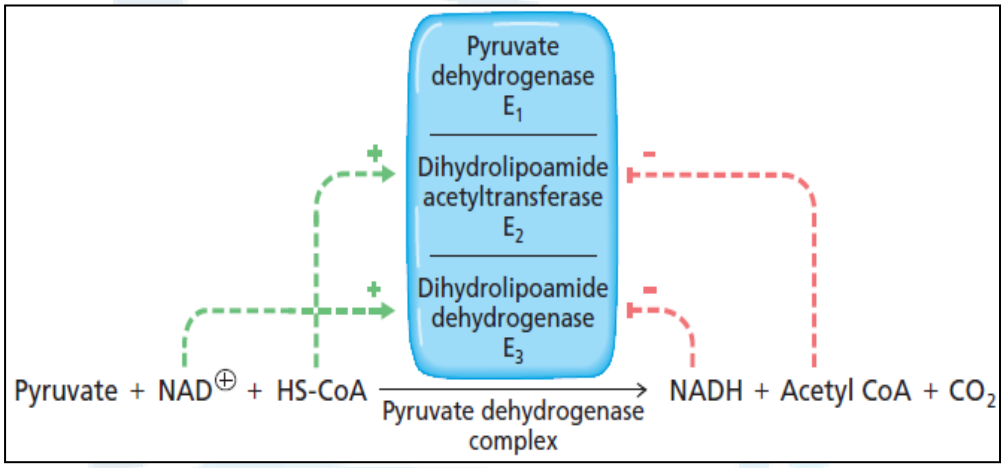
يسمح تنظيم معقد البيروفات ديهيدروجيناز بتحديد مقدار إمداد حلقة كريبس بالأسيتل-كوأ من خلال التحكم بمقدار تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ.

يمكن تعديل فعالية أنزيمات هذا المعقد إما بشكل تفارغي Allosteric modulation أو من خلال التعديلات التساهمية Covalent modification.

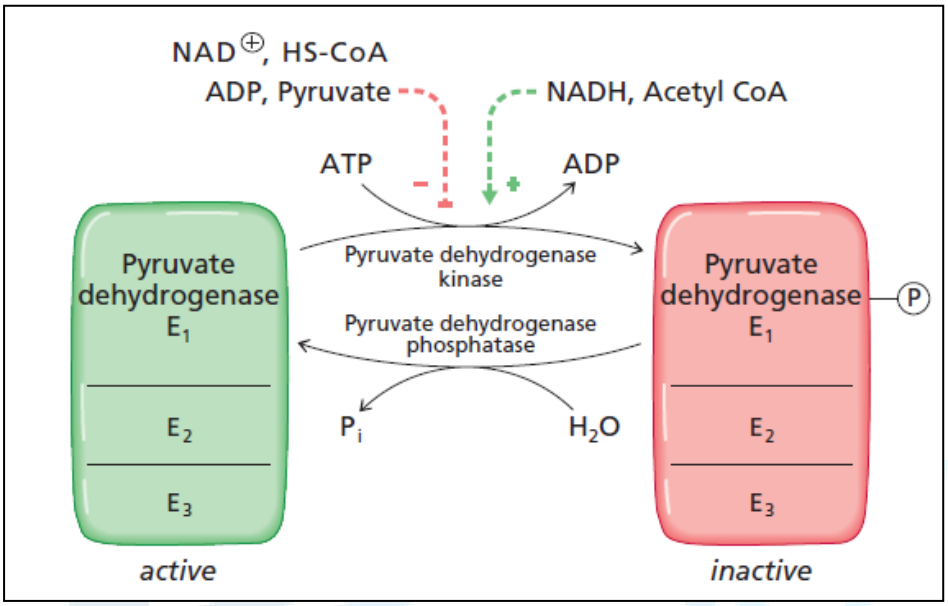
كما في معظم السبل الاستقلابية الاخرى، تستطيع ركائز التفاعل (المواد الداخلة في التفاعل) بتنشيط معقد البيروفات ديهيدروجيناز، بينما تقوم نواتج التفاعل بتثبيطه.

كما يوضح المخطط التالي:

- ✓ يتم تنشيط أنزيم داي هيدروالليبوأميد أسيتيل ترانسفيراز (تحت الوحدة E2) بواسطة الكوأ HS-CoA، بينما يقوم الأسيتيل-كوأ Acetyl-CoA بتثبيطه.
- ✓ يتم تنشيط أنزيم داي هيدروالليبوأميد ديهيدروجيناز (تحت الوحدة E3) بواسطة NAD+، بينما يتم تثبيطه من قبل NADH.



لايوجد معدلات تفارغية منشطة أو مثبطة لأنزيم البيروفات ديهيدروجيناز (تحت الوحدة E1)، وإنما يتم تعديله بشكل تساهمي من خلال عملية إضافة فوسفات بواسطة أنزيم من نوع كيناز (البيروفات ديهيدروجيناز كيناز)، أو نزع زمرة الفوسفات بواسطة أنزيم البيروفات ديهيدروجيناز فوسفاتاز. تؤدي فسفرة البيروفات ديهيدروجيناز إلى تثبيطه، بينما يؤدي نزع الفوسفات إلى تنشيطه.



III. أكسدة الاسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس Oxidation of acetyl CoA in the Krebs cycle:

يمكن للأسيتيل-كوأ المتشكل من البيروفات أو غيره من المركبات (مثل استقلاب الحموض الدسمة وبعض الحموض الامينية) أن يستقلب ضمن حلقة حمض الليمون بشكل كامل إلى جزيئتي CO2. تترافق أكسدة الأسيتيل-كوأ مع نقل الكترونات إلى مجموعة من التمائم الأنزيمية، مؤدياً في النهاية إلى تشكل مكافئات مرجعة (3 جزيئات NADH وQH) قادرة على توليد جزيئات ATP لدى دخولها في السلسلة التنفسية.

تتواجد أنزيمات حلقة كريبس لدى حقيقيات النوى **ضمن الميتوكوندريا**. تختلف وظيفة حلقة كريبس بحسب نوع الخلايا التي تتم فيها. **فمثلا في العضلات**، يكون الهدف من حلقة كريبس بشكل أساسي استكمال هدم الغلوكوز من أجل الحصول على طاقة. **بينما في أعضاء أخرى وخاصةً في الكبد**، تستخدم المركبات الوسطية لحلقة كريبس كنقاط بدء لاصطناع العديد من المركبات الكيميائية الحيوية. ولذلك، تصنف حلقة كريبس **ضمن السبل المزدوجة Amphibolic** التي تجتمع فيها سبل هدم مع سبل بناء.

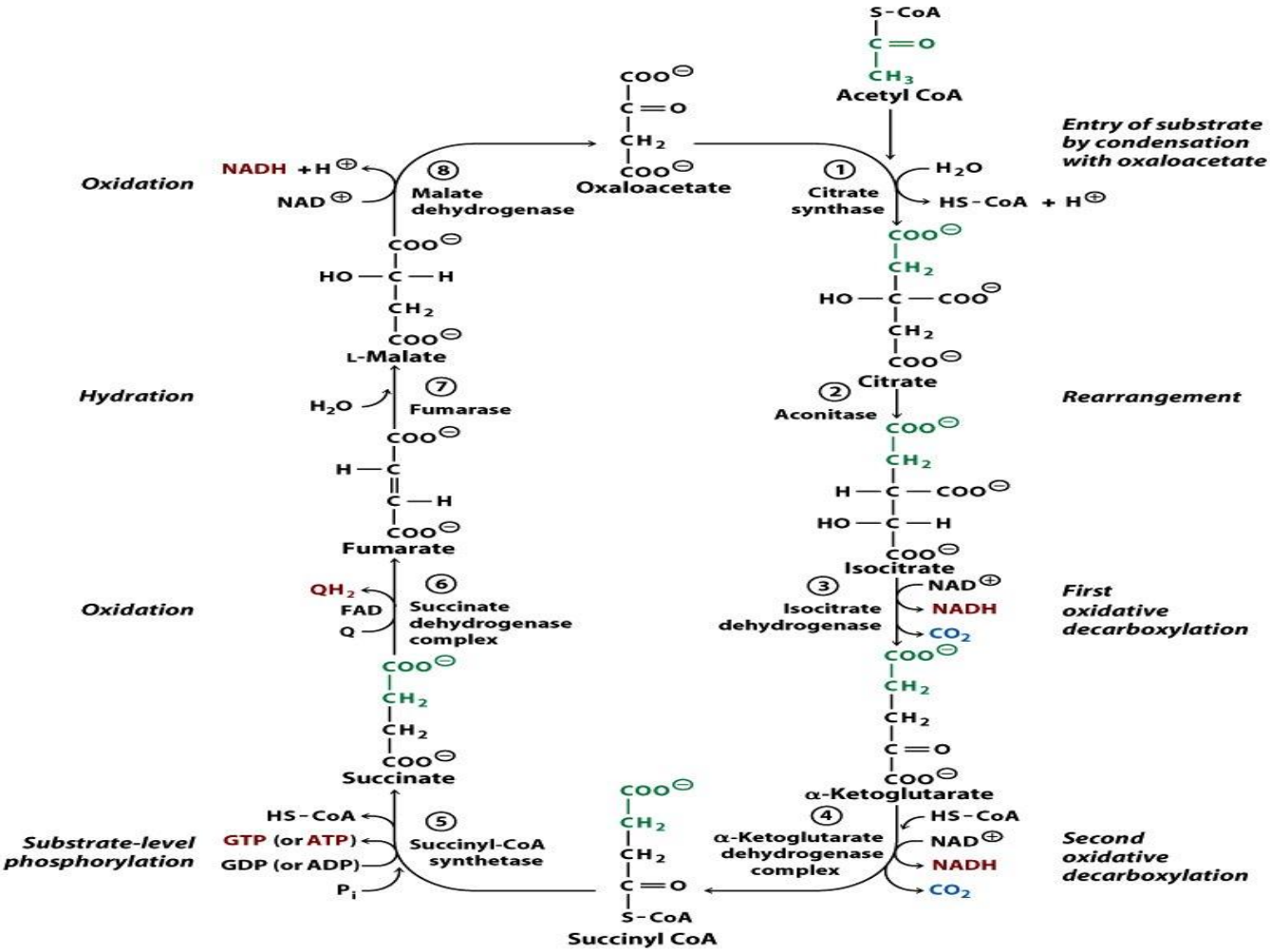
كما ذكرنا سابقاً، تتألف حلقة كريبس من 8 تفاعلات أنزيمية موضحة في الجدول التالي:

Reaction	Enzyme
1. Acetyl CoA + Oxaloacetate + $H_2O \longrightarrow$ Citrate + HS–CoA + $H^{\oplus}$	Citrate synthase
2. Citrate $\rightleftharpoons$ Isocitrate	Aconitase (Aconitate hydratase)
3. Isocitrate + $NAD^{\oplus} \longrightarrow$ α-Ketoglutarate + NADH + CO_2	Isocitrate dehydrogenase
4. α-Ketoglutarate + HS-CoA + $NAD^{\oplus} \longrightarrow$ Succinyl CoA + NADH + CO_2	α-Ketoglutarate dehydrogenase complex
5. Succinyl CoA + GDP (or ADP) + $P_i \rightleftharpoons$ Succinate + GTP(or ATP) + HS–CoA	Succinyl-CoA synthetase
6. Succinate + Q $\rightleftharpoons$ Fumarate + QH_2	Succinate dehydrogenase complex
7. Fumarate + $H_2O \rightleftharpoons$ L-Malate	Fumarase (Fumarate hydratase)
8. L-Malate + $NAD^{\oplus} \rightleftharpoons$ Oxaloacetate + NADH + $H^{\oplus}$	Malate dehydrogenase
Net equation:	
Acetyl CoA + 3 $NAD^{\oplus}$ + Q + GDP (or ADP) + P_i + 2 $H_2O \longrightarrow$ HS–CoA + 3 NADH + QH_2 + GTP (or ATP) + 2 CO_2 + 2 $H^{\oplus}$	

في التفاعل الأول من حلقة كريبس يتم نقل ذرتي الكربون من الأسيتيل-كوأ إلى مركب ثنائي الكربوكسيل حاوي على 4 ذرات كربون هو الاوكسالوأستات Oxaloacetate، فيتشكل مركب ثلاثي الكربوكسيل حاوي على 6 ذرات كربون هو حمض الليمون Citric acid، ولذلك سميت حلقة كريبس أيضاً بحلقة الحمض ثلاثي الكربوكسيل Tricarboxylic acid Cycle (TCA)، أو بحلقة حمض الليمون Citric acid cycle. يتعرض حمض الليمون إلى عمليتي نزع كربوكسيل تأكسدي محرراً جزيئتي CO2 ومشكلا السوكسينات Succinate (الذي يشبه الأوكسالوأسيتات بكونه أيضاً حمض ثنائي الكربوكسيل حاوي على 4 ذرات كربون).

تتمثل المراحل اللاحقة من حلقة كريبس في تحويل السوكسينات إلى أوكسالوأسيتات (المركب البديئي لحقة كريبس)، بما يسمح ببدء دورة أخرى من أكسدة الأسيتل-كوأ.

يوضح المخطط التالي المراحل الثمانية لحلقة كريبس، بالإضافة إلى المركبات الوسطية التي يتم تشكيلها في سياق هذا السبيل:

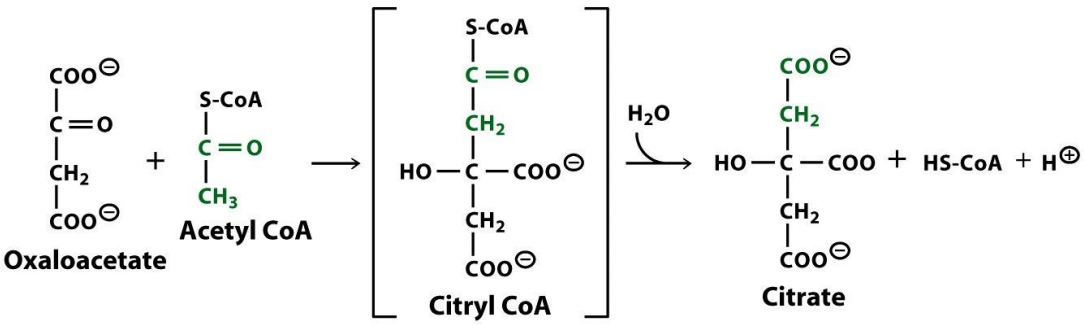


حلقة كريبس Krebs Cycle

1. **المرحلة 1 (أنزيم السيترات سنتاز Citrate synthase):**

يتم في هذه المرحلة تفاعل الأسيتيل-كوأ مع الأوكسالوأسيتات بوجود الماء للحصول على السيترات مع تحرر Coenzyme A وبروتون.

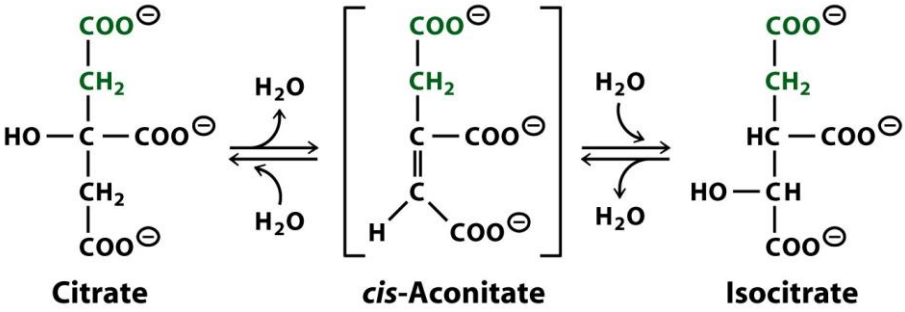
يعتبر السيترات سنتاز من **أنزيمات الترانسفيراز**، حيث أنه يقوم بنقل زمرة الأسيتل من الأسيتيل-كوأ إلى الأوكسالوأسيتات.



2. المرحلة 2 (أنزيم الأكونيتاز Aconitase أو الأكونيتات هيدراتاز Aconitate hydratase):

كما أشرنا سابقاً، تهدف المرحلتين التاليتين من حلقة كريبس إلى نزع كربوكسيل من السيترات بشكل تأكسدي، إلا ان مركب السيترات بشكله الفراغي يعتبر غير قابل للأكسدة، لذلك سيتم بدايةً تحويله إلى مماكب فراغي آخر هو الإيزوسيترات Isocitrate ليتم أكسدته في المرحلة اللاحقة.

تتم عملية المماكبة للستيرات بشكل غير مباشر بواسطة أنزيم الأكونيتاز عبر مرحلتين: يتم في الاولى نزع جزيئة ماء، وفي الثانية إضافة جزيئة ماء بشكل محدد فراغياً Stereospecific للحصول على مماكب فراغي آخر للسيترات (الإيزوسيترات).

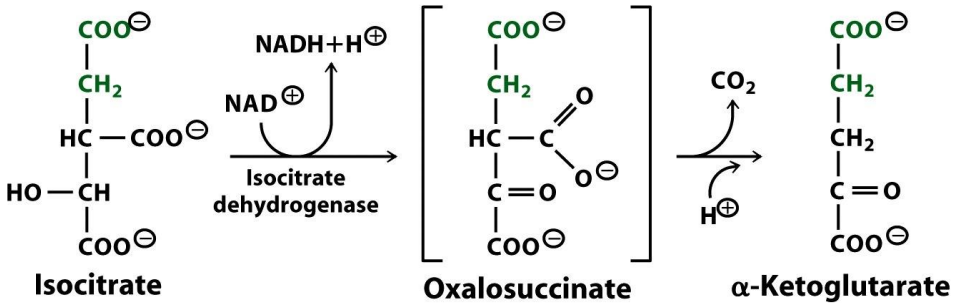


3. المرحلة 3 (أنزيم إيزوسترات ديهيدروجيناز Isocitrate dehydrogenase):

يقوم هذا الأنزيم بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي من الإيزوسيترات مشكلاً α-كيتوغلوتارات α-ketoglutarate (مركب ثنائي الكربوكسيل حاوي على 5 ذرات كربون)، بالإضافة إلى انطلاق CO2.

يقوم هذا الانزيم بأول عملية نزع كربوكسيل تأكسدي Oxidative decarboxylation مؤدية إلى انطلاق CO2 ضمن حلقة كريبس، وأول تفاعل أكسدة-إرجاع مترافق مع تشكل مكافئات مرجعة على شكل NADH ضمن الحلقة.

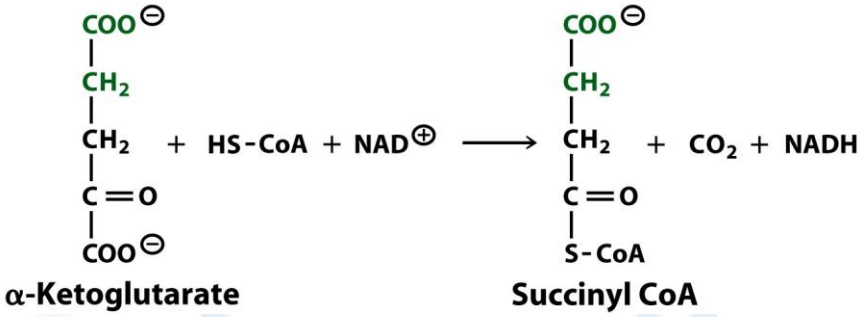
يتم التفاعل على مرحلتين، مترافقاً مع تشكل مركب وسطي غير ثابت هو الأوكسالوسوكسينات Oxalosuccinate.



4. المرحلة 4 (معقد α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز α-ketoglutarate dehydrogenase complex):

يقوم معقد α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي Oxidative decarboxylation من α-كيتوغلوتارات مؤدياً إلى الحصول على السوكسينيل-كوأ Succinyl-CoA، مترافقاً مع انطلاق CO2، وإرجاع NAD+ إلى NADH.

تعتبر هذه المرحلة المرحلة الثانية المنتجة ل CO2 ضمن حلقة كريبس، وثاني تفاعل أكسدة-إرجاع مترافق مع تشكل مكافئات مرجعة على شكل NADH ضمن الحلقة.



يشبه معقد α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز معقد البيروفات ديهيدروجيناز حيث أنهما يملكان نفس آلية التفاعل ويستخدمان نفس التمائم الأنزيمية. يقوم كلا المعقدين الأنزيميين بعملية نزع كربوكسيل تأكسدي من α-كيتوأسيد α-keto acid بوجود HS-CoA، مؤدياً إلى تشكل مركب الأسيل-كوأ Acyl-CoA الموافق، وانطلاق CO2، إرجاع NAD+ إلى NADH.

يتكون معقد α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز من 3 أنزيمات مشابهه لمعقد البيروفات ديهيدروجيناز:

1. α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز α-ketoglutarate dehydrogenase (تحت الوحدة E1).

2. داي هيدروليبوأميد سوكسينيل ترانسفيراز Dihydrolipoamide succinyl transferase (تحت الوحدة E2).
3. داي هيدروليبوأميد ديهيدروجيناز Dihydrolipoamide dehydrogenase (تحت الوحدة E3).

5. المرحلة 5 (أنزيم سوكسينيل-كوأ سنتيتاز Succinyl CoA synthetase):

انطلاقاً من هذه المرحلة يكون الهدف من التفاعلات الانزيمية إعادة تشكيل الأوكسالوأسيتات انطلاقاً من السوكسينيل-كوأ، ولذلك سيتم في هذه المرحلة فصل السوكسينات عن HS-CoA بواسطة أنزيم السوكسينيل-كوأ سنتيتاز.

تتميز رابطة الثيوإستر الموجودة في مركبات الأسيل-كوأ (مثل الأسيتيل-كوأ و السوكسينيل-كوأ...) بكونها رابطة عالية الطاقة High-energy bond، تؤدي عملية حلمهتها إلى تحرر طاقة عالية. وبالتالي فإن حلمهة رابطة الثيوإستر أثناء إنجاز هذا التفاعل ستترافق مع تحرر طاقة عالية يتم خزنها ضمن جزيئات الطاقة مثل ATP و GTP.

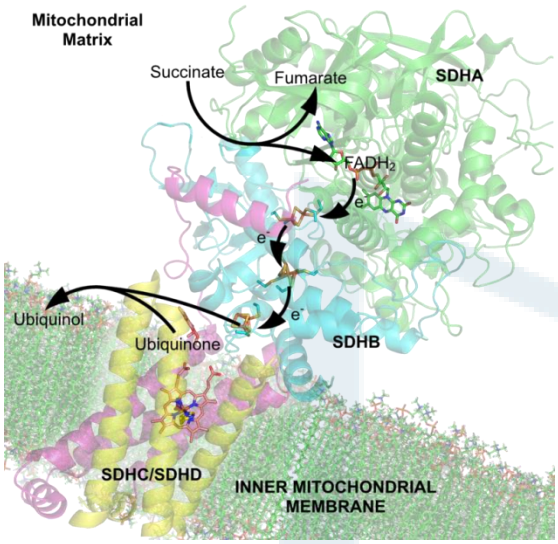
$$\text{Succinyl CoA} + P_i + \text{GDP} \longrightarrow \text{Succinate} + \text{HS-CoA} + \text{GTP}$$

تجدر الإشارة إلى أن أنزيم السوكسينيل-كوأ سنتيتاز يأخذ اسمه من كونه قادر على إنجاز التفاعل بالاتجاه العكس أيضاً، أي باتجاه اصطناع السوكسينيل-كوأ، بوجود طاقة من جزيئة ATP أو GTP.

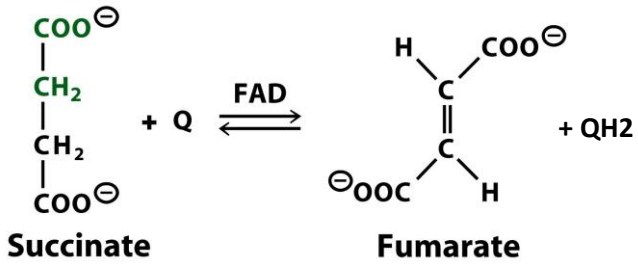
6. المرحلة 6 (معقد سوكسينات ديهيدروجيناز Succinate dehydrogenase complex):

يتواجد معقد السوكسينات ديهيدروجيناز في الميتوكوندريا لدى جميع الأحياء، ويشارك في كل من حلقة كريبس والسلسلة التنفسية (سلسلة نقل الالكترونات) لدى هذه الأحياء.

يقوم هذا المعقد بأكسدة السوكسينات إلى فومارات من خلال عملية نزع هيدروجين مترافقة مع تشكل رابطة مضاعفة CH=CH، وإرجاع التميم الانزيمي الإيبيكوينون ubiquinone (Q) إلى إيبيكوينول ubiquinol (QH2). **يتم في هذه المرحلة ثالث تفاعل أكسدة-إرجاع ضمن حلقة كريبس.**

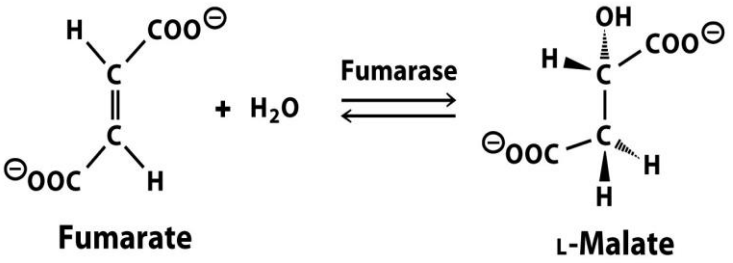


Succinate dehydrogenase complex (Complex II)



7. **المرحلة 7 (أنزيم الفوماراز Fumarase ويدعى أيضاً بالفومارات هيدراتاز Fumarate hydratase):**

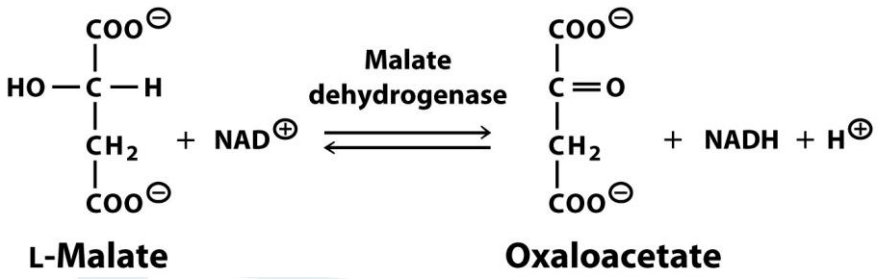
تتم هذه المرحلة بواسطة أنزيم الفوماراز الذي يقوم بتحويل الفومارات إلى مالات Malate من خلال إضافة جزيئة ماء بشكل محدد فراغياً Stereospecific.



8. **المرحلة 8 (أنزيم المالات ديهيدروجيناز Malate dehydrogenase):**

يتم في هذه المرحلة أكسدة المالات إلى أوكسالوأسيتات مع إرجاع جزيئة NAD+ إلى NADH، **وتعتبر رابع تفاعل أكسدة-إرجاع يتم ضمن حلقة كريبس.**

يشبه هذا الأنزيم أنزيم اللاكتات ديهيدروجيناز الذي يقوم بعملية إرجاع البيروفات إلى لاكتات، أو أكسدة اللاكتات إلى بيروفات.



IV. تنظيم حلقة كريبس Regulation of the Krebs cycle:

يوجد ثلاث أنزيمات قابلة للتنظيم ضمن حلقة كريبس:

1. **أنزيم السيترات سنتاز:** تشير الدراسات إلى إمكانية تثبيط فعالية هذا الأنزيم من قبل ATP في الزجاج *in vitro*، في حين أنه يعتقد أن التراكيز الفيزيولوجية الموجودة في الجسم من ATP تكون غير قادرة على تثبيط هذا الأنزيم.
2. **أنزيم الإيزوسيترات ديهيدروجيناز:** يتنشط هذا الأنزيم من قبل شوارد الكالسيوم و ADP، ويتم تثبيطه بواسطة NADH.
3. **معقد α-كيتوغلوتارات ديهيدروجيناز:** يمكن تفعيل تحت الوحدة E1 من المعقد بواسطة شوارد الكالسيوم. لوحظ إمكانية تثبيط المعقد الانزيمي ككل من قبل NADH و السوكسينيل-كوأ في الزجاج *in vitro* وليس في العضوية الحية *in vivo*.

V. إنتاج الطاقة من المكافئات المرجعة Reduced equivalents can fuel production of ATP:

يؤدي التفاعل الكلي لحلقة كريبس إلى إنتاج 3 جزيئات NADH، جزيئة QH2، وجزيئة GTP (أو ATP) لكل جزيئة أسيتيل-كوأ تدخل في الحلقة.

$$\text{Acetyl CoA} + 3\ NAD^{\oplus} + Q + GDP\ (\text{or } ADP) + P_i + 2\ H_2O \longrightarrow$$
$$HS\text{-}CoA + 3\ NADH + QH_2 + GTP\ (\text{or } ATP) + 2\ CO_2 + 2\ H^{\oplus}$$

كما ذكرنا سابقاً، يمكن أكسدة NADH و QH2 ضمن السلسلة التنفسية في الميتوكوندريا، والحصول منها على طاقة على شكل جزيئات ATP. حيث يتم إنتاج حوالي 2.5 جزيئة ATP أثناء أكسدة جزيئة واحدة من NADH إلى NAD+، وحوالي 1.5 جزيئة ATP لدى أكسدة جزيئة واحدة من QH2 إلى Q.

من خلال ماسبق نستنتج أن أكسدة جزيئة أسيتل-كوأ واحدة ضمن الميتوكوندريا تترافق مع إنتاج حوالي 10 مكافئات ATP، كما هو موضح في الجدول التالي:

Reaction	Energy-yielding product	ATP equivalents
Isocitrate dehydrogenase	NADH	2.5
α-Ketoglutarate dehydrogenase complex	NADH	2.5
Succinyl-CoA synthetase	GTP or ATP	1.0
Succinate dehydrogenase complex	QH_2	1.5
Malate dehydrogenase	NADH	2.5
Total		10.0

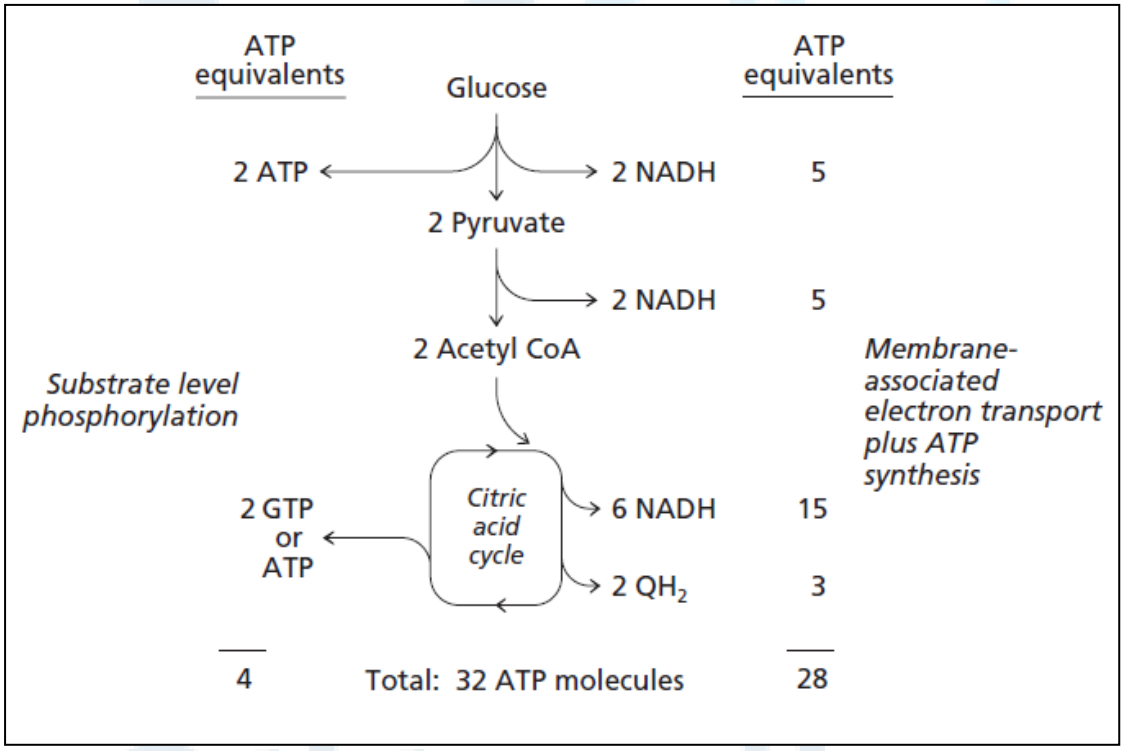
تعتبر حلقة كريبس المرحلة النهائية لهدم العديد من المواد الغذائية الأساسية في الجسم، حيث يتم فيها أكسدة الأسيتيل-كوأ الناتج عن تقويض كل من السكريات، اللبيدات والحموض الأمينية.

لدى حساب كمية الطاقة الكلية الناتجة عن تقويض جزيئة غلوكوز واحدة بدءاً من عملية تحلل الغلوكوز إلى جزيئتي بيروفات، وبعدها تحول البيروفات إلى أسيتيل-كوأ، ومن ثم أكسدة الأسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس، نحصل على مايلي:

- ✓ يتم إنتاج جزيئتي ATP وجزيئتي NADH في سبيل تحلل الغلوكوز، أي أن تحول جزيئة غلوكوز واحدة إلى جزيئتي بيروفات يرافقها إنتاج حوالي 7 مكافئات ATP.

- ✓ أيضاً إن تحول كل جزيئة بيروفات إلى أسيتيل-كوأ يرافقه إنتاج جزيئة NADH، أي جزيئتي NADH لتحلل كلا جزيئتي البيروفات الناتجتين من تحلل جزيئة واحدة من الغلوكوز، وبالتالي مايقارب 5 مكافئات ATP.
- ✓ وكما ذكرنا أعلاه، إن أكسدة كل جزيئة أسيتل-كوأ داخلة في حلقة كريبس يرافقه إنتاج مايقارب 10 مكافئات ATP، أي 20 مكافئ ATP لكلا جزيئتي الاسيتيل-كوأ الناتجتين من تحلل الغلوكوز.

بحساب عدد مكافئات ATP الكلي، نستنتج أن تحلل جزيئة غلوكوز واحدة بشكل كامل ضمن حلقة كريبس يرافقه إنتاج مايقارب 32 مكافئ ATP.



بالاضافة إلى عملية تحلل الغلوكوز، يمكن أيضاً أكسدة جزيئات الغلوكوز بطريق السكاكر الخماسية الفوسفاتية (حلقة البنتوز فوسفات). كما ذكرنا سابقاً إن مرور جزيئة غلوكوز لمرة واحدة عبر هذا السبيل يؤدي إلى تشكل جزيئتي NADH، مقابل خسارة ذرة كربون واحدة من الغلوكوز على شكل CO2. حتى يتم أكسدة جزيئة الغلوكوز

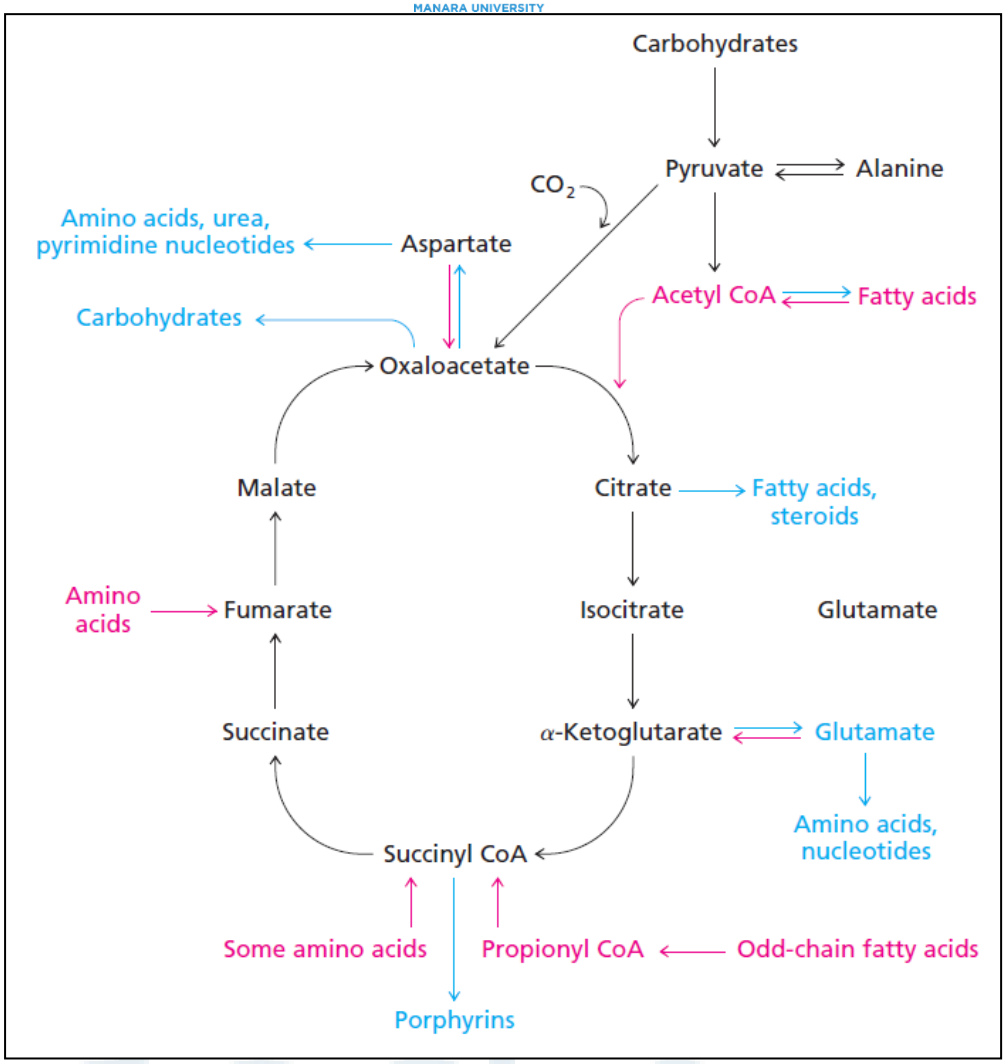
بشكل كامل عبر سبيل السكاكر الخماسية الفوسفاتية (أي تحول جميع ذرات الكربون فيه إلى CO_2) لابد من مروره 6 مرات عبر هذا السبيل، وبالتالي يتم تشكل 12 جزيئة NADPH، أي مايقارب 30 جزيئة ATP.

VI. حلقة كريبس كسبيل اصطناع للمركبات الكيميائية الحيوية:

بالإضافة إلى الدور البيولوجي الهام لحلقة كريبس في عمليات الهدم للمركبات الكيميائية الحيوية بهدف الحصول على طاقة، فإنها تلعب دوراً محورياً في عمليات الاصطناع الحيوي حيث أن المركبات الوسطية التي تشارك فيها تلعب دور طلائع لاصطناع العديد من المركبات الكيميائية الحيوية، على رأسها: الغلوكوز، بعض الحموض الأمينية، الحموض الدسمة، الستيروئيدات، حلقة البورفيرين (التي تدخل بتركيب الهيم) وغيرها.

نظراً لأن استخدام المركبات الوسطية لحلقة كريبس أثناء عمليات الاصطناع الحيوي ستؤدي إلى استنزافها من الميتوكوندريا، فإن هذه العمليات تدعى بالعمليات الاستنزافية **Cataplerotic "depletion" reactions**، وبالتالي لابد من تعويض المركبات المستخدمة من جديد بواسطة تفاعلات كيميائية حيوية أخرى تدعى بتفاعلات الملء **Anaplerotic "filling up" reactions**.

يبين المخطط التالي أهم تفاعلات الاستنزاف Cataplerotic (موضحة باللون الأزرق)، وتفاعلات الملء Anaplerotic (موضحة باللون الوردي) التي تتم من وإلى حلقة كريبس:



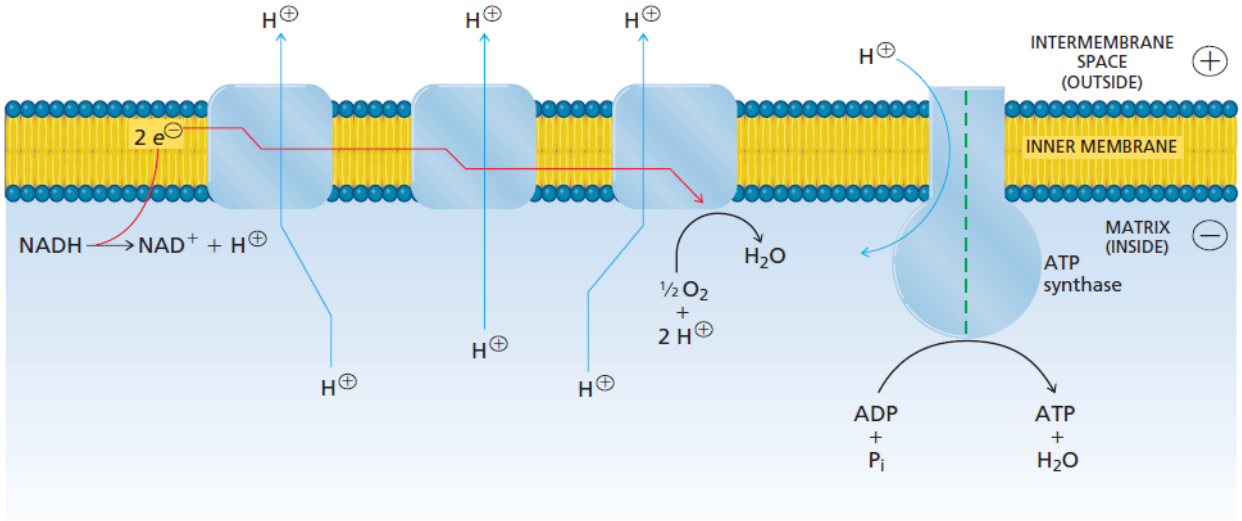
VII. السلسلة التنفسية Respiratory chain، أو سلسلة نقل الالكترونات المرتبطة بالغشاء Membrane-associated electron transport chain:

يعتبر من السبل الاستقلابية المعقدة في الكيمياء الحيوية، ويهدف إلى تحويل المكافئات المرجعة إلى جزيئات ATP.

كما ذكرنا سابقاً، تترافق عملية تحلل الغلوكوز وأكسدة الأسيتيل-كوأ ضمن حلقة كريبس مع إرجاع NAD+ و Q إلى NADH و QH2 على التوالي. إن عملية إعادة الأكسدة اللاحقة لكل من NADH وQH2، ستؤدي إلى نقل الالكترونات عبر سلسلة من المعقدات الأنزيمية والنواقل الالكترونية المرتبطة بغشاء الميتوكوندريا، وستخسر

الالكترونات المنتقلة معظم طاقتها الحرة التي سيتم التقاط بعضها وحفظها على شكل جزيئات ATP (من خلال فسفرة جزيئات ADP إلى ATP). في المرحلة الأخيرة من هذه السلسلة، يتم نقل الالكترونات إلى مستقبل نهائي للالكترونات الذي يكون غالباً الأوكسجين الجزيئي O2، ولذلك فإن هذه العملية تدعى أيضاً **بالفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation**.

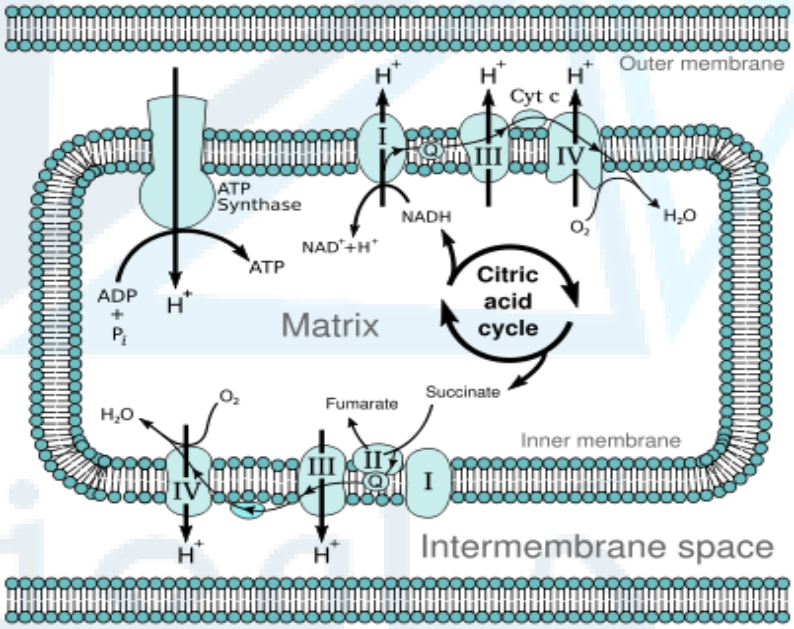
تتطلب عملية نقل الالكترونات هذه المترافقة مع اصطناع ATP وجود مجموعة من الأنزيمات والتمائم الانزيمية Coenzymes، بالإضافة إلى وجود مكون غشائي هو غشاء الميتوكوندريا الداخلي Inner mitochondrial membrane لدى حقيقيات النوى. تأتي ضرورة وجود غشاء خلوي في هذه العملية نظراً لأنه من أجل ربط عملية نقل الالكترونات مع اصطناع ATP لابد من خلق مدروج pH عبر الغشاء، حيث يتم استخدامه من قبل معقد ATP سنتاز (ATP synthase complex) من أجل فسفرة ADP إلى ATP.



تتألف سلسلة نقل الالكترونات من خمس معقدات انزيمية مغروسة في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا، تعطى أرقام لاتينية I، II، III، IV وV حيث أن المعقد V هو ATP سنتاز. تحتوي هذه المعقدات الأنزيمية على مجموعة متنوعة من مراكز الأكسدة-إرجاع، والتي قد تكون على شكل تمائم أنزيمية مثل FAD، FMN أو ubiquinone (Q)، أو على شكل تجمعات حديد-كبريت Fe–S clusters، أو على شكل بروتينات سيتوكروم حاوية على حلقة هيم heme-containing cytochromes، أو على شكل بروتينات حاوية على نحاس copper proteins. تنتقل

الالكترونات عبر مكونات سلسلة نقل الالكترونات من خلال عمليات أكسدة وإرجاع متعاقبة لمراكز الأكسدة-إرجاع سابقة الذكر، من عامل مرجِع Reducing agent إلى عامل مؤكسِد Oxidizing agent.

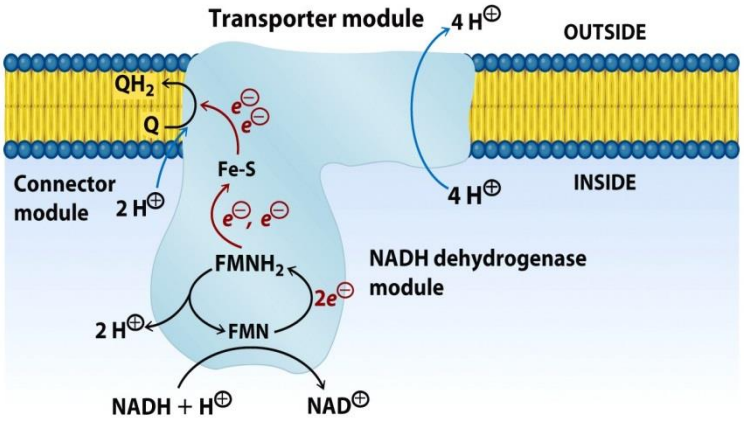
يتم نقل الالكترونات بين المعقدات الأنزيمية المختلفة لسلسلة نقل الالكترونات من خلال بعض التمائم الانزيمية المتحركة mobile coenzymes مثل الايبيكوينون Q و السيتوكروم *c*، حيث يقوم Q بنقل الالكترونات من المعقد I أو II إلى المعقد III، بينما يقوم السيتوكروم *c* بنقل الالكترونات من المعقد III إلى المعقد IV. في نهاية السلسلة يستخدم المعقد IV الالكترونات من أجل إرجاع O2 إلى ماء.



المعقدات الأنزيمية لسلسلة نقل الالكترونات:

1. **المعقد I (Complex I): يدعى NADH:ubiquinone oxidoreductase**، يسمح هذا المعقد بنقل الكترونين من NADH إلى Q محولاً إياه إلى QH2. تتم عملية نقل الالكترونات هذه على مراحل، حيث يتم بداية نقل الكترونين من NADH إلى FMN ليتم إرجاعه إلى FMN2، ثم من FMNH2 إلى تجمعات حديد-كبريت (يوجد على الأقل 8 تجمعات Fe-S ضمن المعقد I)، وفي المرحلة الأخيرة يتم نقل

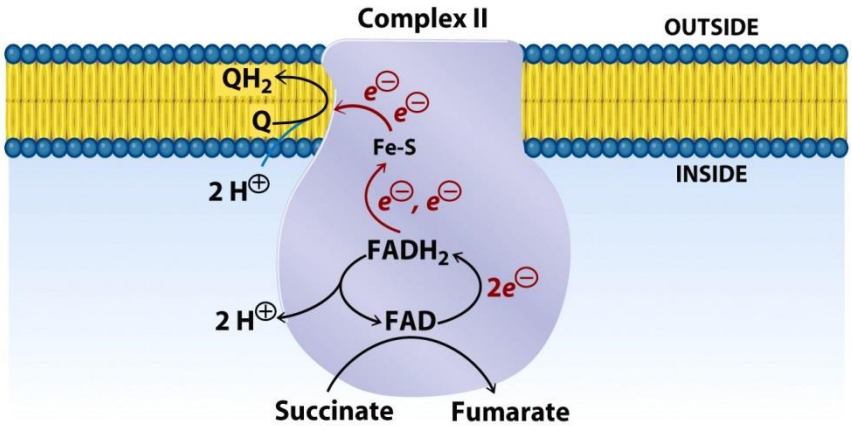
الالكترونات من تجمعات Fe-S إلى Q الذي سيُرجَع إلى QH2. يتميز QH2 بأنه حلول في الدسم، ولذلك فإنه يتوضع ضمن غشاء الخلية اللبيدي ويستطيع التحرك ضمنه بحرية ليقوم بنقل الالكترونات من المعقد I إلى المعقدII أو III. تترافق عملية نقل الالكترونات ضمن المعقد I مع خروج أربع بروتونات H+ من الجزء الداخلي للغشاء إلى الجزء الخارجي منه لكل الكترونين يتم نقلهما من NADH إلى QH2.



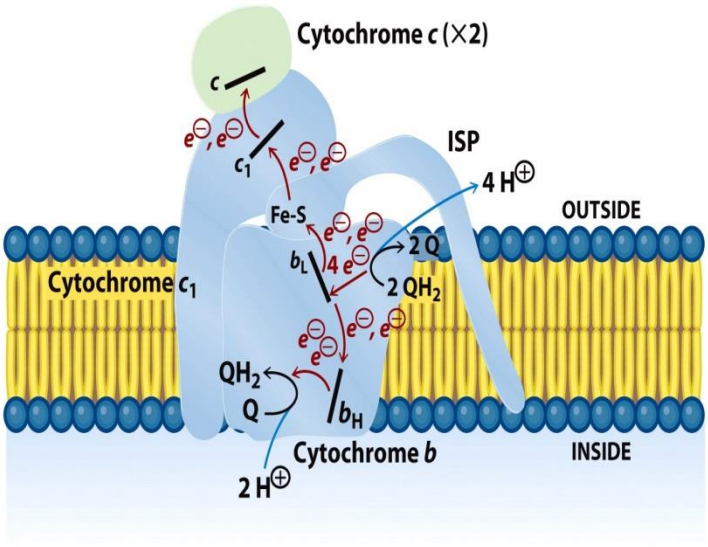
2. **المعقد II (Complex II): يدعى Succinate:ubiquinone oxidoreductase**، أو Succinate dehydrogenase complex. هو ذاته المعقد الانزيمي الذي يقوم بإنجاز المرحلة 6 من حلقة كريبس، حيث أنه يقوم بنقل الالكترونين الناتجين عن أكسدة السوكسينات إلى Q محولاً إياه إلى QH2. تتم عملية نقل الالكترونات عبر هذا المعقد أيضاً على مراحل، حيث يتم بداية نقل الكترونين من السوكسينات إلى FAD أثناء حلقة كريبس، ليتحول FAD إلى FADH2، ومن ثم يتم نقل الالكترونات عبر ثلاث تجمعات Fe-S وصولاً إلى Q ليتم تحويله إلى QH2.

تجدر الاشارة إلى أن المعقد II لايساهم بشكل مباشر في خلق مدروج البروتونات عبر الغشاء الداخلي للميتوكوندريا، وإنما يلعب دور في تزويد باقي أجزاء السلسلة التنفسية بالالكترونات القادمة من أكسدة السوكسينات أثناء حلقة كريبس.

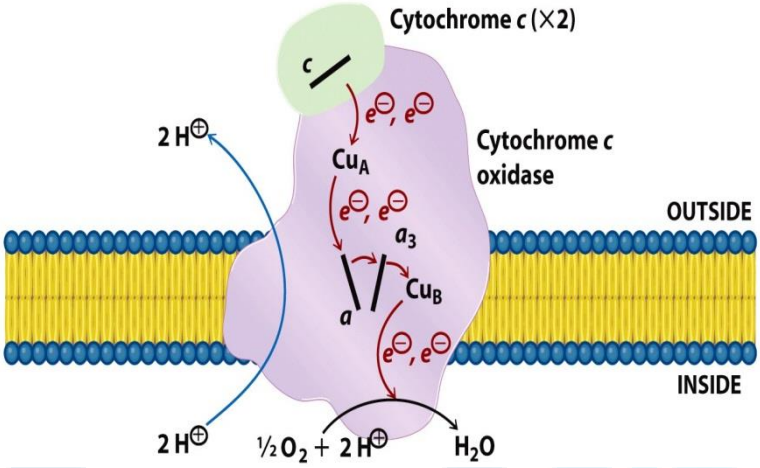
يقوم الإيبيكوينون Q بعد تحوله إلى QH2 بنقل الالكترونات من المعقد I والمعقد II إلى المعقد III.



3. **المعقد III (Complex III): يدعى Ubiquinol:cytochrome *c* oxidoreductase**، يقوم هذا المعقد بأكسدة QH2 الحلول في الدسم ضمن الغشاء الداخلي للميتوكوندريا وإرجاع بروتين السيتوكروم c الحلول بالماء على السطح الخارجي للغشاء. يتم نقل الالكترونات من QH2 إلى السيتوكروم *c* (الذي يشكل الجزء المتحرك من المعقد) على عدة مراحل تمر بالسيتوكروم *b* ثم بتجمعات Fe-S ثم إلى السيتوكروم *c1* وصولاً إلى السيتوكروم *c* المتوضع على سطح المعقد، كماهومبين في الشكل. نظراً لقدرة السيتوكروم *c* على الحركة، فإنه يقوم بنقل الالكترونات إلى المعقد IV في السلسلة التنفسية. يترافق نقل الالكترونات عبر المعقد III مع خروج أربع بروتونات من الجزء الداخلي للغشاء إلى الجزء الخارجي منه.



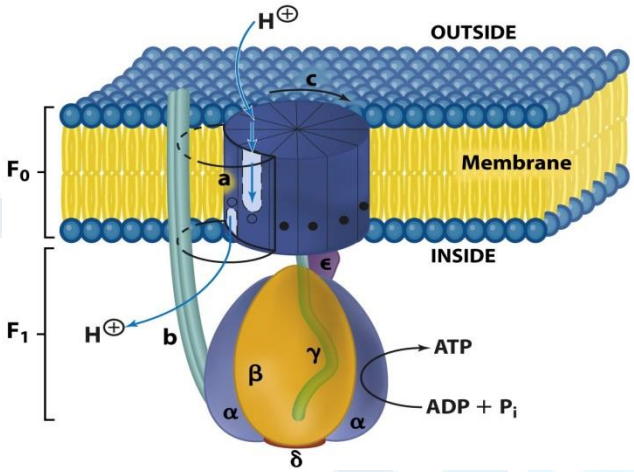
4. **المعقد IV (Complex IV): يدعى Cytochrome *c* oxidase**، حيث أنه يقوم بأكسدة الشكل المُرجَع من السيتوكروم *c* (Reduced cytochrome *c*) المتشكل من قبل المعقد III، و إرجاع O2 إلى جزيئتي H2O. يحتوي المعقد IV على مجموعة من مراكز الأكسدة-إرجاع المتمثلة بجزيئات هيم من النمط *a*، ومجموعة من شوارد النحاس، وبالتالي يتم نقل الالكترونات من السيتوكروم *c* عبر هذه المراكز وصولاً إلى الأوكسجين الجزيئي الذي سيتم إرجاعه إلى ماء. يترافق عمل المعقد IV مع خروج بروتونين من داخل الغشاء إلى خارجه لكل جزيئة ماء متشكلة، أي مايعادل أربع بروتونات لجزيئتي الماء المتشكلتين من إرجاع جزيئة O2 واحدة.



5. **المعقد V (Complex V): يدعى ATP synthase**، يقوم هذا الانزيم باصطناع ATP انطلاقاً من ADP+ فوسفات لاعضوية (Pi) بالاعتماد على مدروج التركيز الغشائي للبروتونات الذي تم خلقه من قبل معقدات سلسلة نقل الالكترونات سابقة الذكر. بالرغم من اسم الانزيم الذي يوحي بقيامه بحلمه ATP (أي تحطيمه)، إلا أنه يقوم بالتفاعل بالاتجاه العكسي، أي باتجاه اصطناع ATP.

كما هو موضح في الشكل المجاور، يتألف هذا المعقد من جزئين:

1. **الجزء F0 المغروس في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا:** يحتوي هذا الجزء على قناة بروتون Proton channel، بحيث أن مرور البروتونات عبر هذه القناة من خارج الغشاء إلى داخله يترافق مع اصطناع جزيئات ATP من قبل الجزء F1 من هذا المعقد.
2. **الجزء F1: يتوضع هذا الجزء من المعقد باتجاه داخل الميتوكوندريا (مطرس الميتوكوندريا Mitochondrial matrix)**، ويحتوي على المركز التحفيزي للمعقد الذي يقوم باصطناع جزيئات ATP انطلاقاً من ADP وPi.



يتميز الجزء F0 بقابليته للدوران أثناء مرور البروتونات عبر القناة، وإن هذا الدوران سيسمح بإحداث تغيرات بنيوية في الجزء F1 تساعده على القيام بعمله التحفيزي في اصطناع ATP. وسطياً، يترافق مرور 10 بروتونات عبر القناة من خارج الغشاء الميتوكوندري إلى داخله مع اصطناع 3 جزيئات ATP (أي تقريباً اصطناع جزيئة ATP واحدة لكل 3 بروتونات تمر عبر الغشاء).