حلقة كريبس TCA cycle

أ.د.فيصل رضوان

فهرس محتويات المحاضرة

مقدمة .....

الوقود الأساسي للحلقة .....

تصنيف تفاعلات حلقة كريبس بحسب نوع التفاعل : .....

الانزيمات التي تتواسط الحلقة .....

تفاعلات حلقة كريس .....

الطاقة الناتجة عن حلقة كريبس : .....

دور حلقة كريبس في الاصطناع الحيوي : .....

تنظيم حلقة كريبس .....

تثبيط تفاعلات حلقة كريبس .....

أنزيم PDH .....

مقدمة

تعد حلقة كريبس اهم مسلك استقلابي في البدن وقد اكتشفها العالم هانس كريبس

تدعى بحلقة ثلاثية الكربوكسيل (Cycle Acid Tricarboxilic) نظرا لاحتوائها على الاحماض ثلاثية الكربوكسيل التالية : السيترات – الاكونيتات- الايزو سيترات .

تستمد اكثر من ٩٥% من الطاقة من حلقة كريبس (مرتبطة مع السلسة التنفسية) ، تحدث في جميع النسج لكن **في الكبد بشكل أساسي .**

فيما يلي مقارنة بين حلقة كريبس وسبيل تحلل السكر :

حلقة كريبس	تحلل السكر
تتألف من ٨ خطوات محفزة انزيميا	تتألف من ١٠ خطوات محفزة انزيميا
جميع التفاعلات تجري في مطرق المتقدرات	جميع التفاعلات تتم في السيتوزول
هي السبيل الثاني من حيث الأهمية	السبيل الأول من حيث الأهمية
اهم الأعضاء التي تتم فيها الحلقة هو الكبد	اهم الخلايا الي تقوم بسبيل تحلل السكر هي الكريات الحمر
تؤدي لانتاج كمية كبيرة من الطاقة	يؤدي تحلل السكر لانتاج كمية اقل من الطاقة
لمستقلبات حلقة كريبس أهمية كبيرة في الاصطناع الحيوي	قلة من مستقلبات اصطناع السكر تستخدم في الاصطناع الحيوي
وقود العملية هو الاستيل كو انزيم A	وقود العملية هو الغلوكوز
غالبية التفاعلات هي اكسدة بنزع الهيدروجين	غالبية التفاعلات هي فسفرة على مستوى الركيزة

الوقود الأساسي للحلقة

ينتقل البيروفات من السيتوزول للمطرق بواسطة ناقل يدعى ناقل البيروفات (Pyruvate Transports (PT،ثم يتأكسد ل استيل كو انزيم A بواسطة مقعد (Pyruvate dehydrogenase (PDH.وبالتالي فان أي خلل في ناقلات البيروفات او في معقد PDH (او نقص في تمائمه الانزيمية) سيؤدي لخلل في حلقة كريبس .

وقود هذه الحلقة : الغلوكوز ، الأحماض الدسمة ، الأجسام الكيتونية ، و الأحماض الأمينية .

نذكر انه تم اكتشاف الكو انزيم A عام ١٩٤٥ من قبل العالم ليبمان ، والرابطة الغنية فيه هي الرابطة الثيو استيرية .

تصنيف تفاعلات حلقة كريبس بحسب نوع التفاعل :

التفاعل	الركيزة
تكثف	استيل كو انزيم A واكزالو اسيتات
نزع ثم إضافة جزيء ماء	سيترات
نزع الكربوكسيل التاكسدي	ايزو سيترات
نزع الكربوكسيل التاكسدي	الفا – كيتو غلوتارات
الفسفرة على مستوى الركيزة	سوكسينيل كو انزيم A
الاكسدة بنزع الهيدروجين	السوكسينات
اماهة	فومارات
الاكسدة بنزع الهيدروجين	المالات

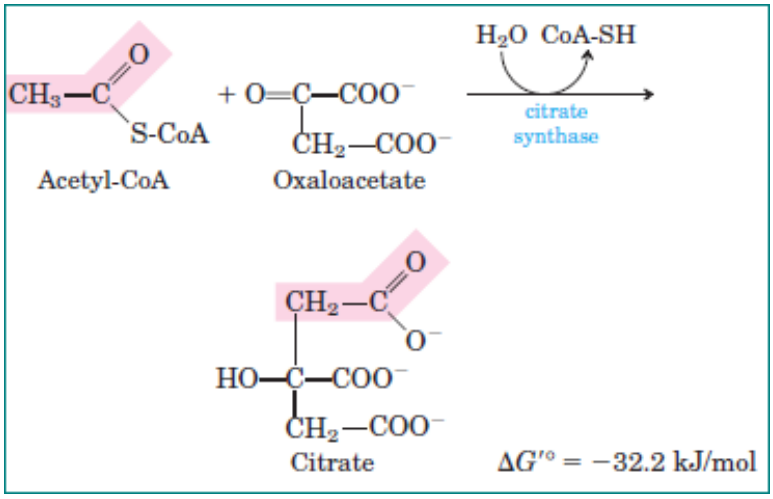
الانزيمات التي تتواسط الحلقة

متسلسلة حسب تسلسل التفاعلات :

PDH-سيترات سينثازCitrate synthase-اكونيتاز aconitase-اكونيتاز aconitase-ايزو سيترات ديهدروجيناز isocitrate dehydrogenase-ketoglutarate dehydrogenase-الفا كيتو غلوتارات ديهيدروجيناز-سوكسونيل كو انزيم Aسنثاز succinyl CoA synthase-سوكسينات ديهدروجيناز Succinat dehydrogenase-فيومارازfumarase-مالتات ديهدروجيناز malate dehydrogenase.

تفاعلات حلقة كريس

١. تشكل السيترات:



يعد التفاعل الاول في حلقة كريبس (ليس اكسدة البيروفات) ، يتم في هذا التفاعل تكثف الاستيل كو انزيم A مع الاوكزالو اسيتات وهو تفاعل غير عكوس يحفزه انزيم السيترات سنثاز وهو ناشر للطاقة لان السيترات مركب عالي الطاقة ، هذا ويقوم السيترات بوظائف أخرى (عدا كونه مستقلبا في حلقة كريبس)، فهو :

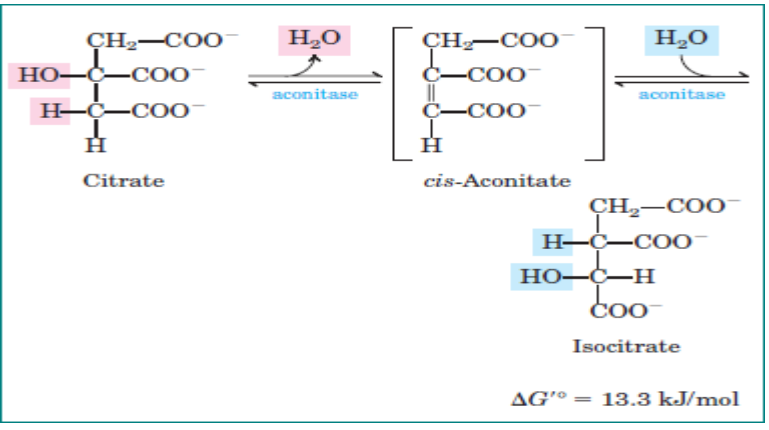
a. مصدر لانتاج الاستيل كو انزيم A اللازم لتركيب الحموض الدسمة.

b. تثبيط PKFوتفعيل الاستيل كو انزيم A كربوكسيلاز (وهو انزيم الخطوة المحددة لاصطناع الحموض الدسمة).

تتكون الأوكزالو أسيتات من ٤ ذرات كربون أما الأستيل CO-A يتألف من ذرتين بالتالي يكون السيترات سداسي ذرات الكربون .

إذا كانت العضوية بحاجة الطاقة تكمل حلقة كريبس ، بينما إذا كانت العضوية بحاجة السيترات (لاصطناع بعض الجزيئات العضوية المهمة مثلاً) عندها تعبر السيترات عبر مكوك السيترات إلى السيتوزول الخلوي و تتفكك إلى الأستيل CO-A و الأوكزالو أسيتات تدخل في عمليات الاصطناع الحيوي .

٢. مزامرة السيترات :

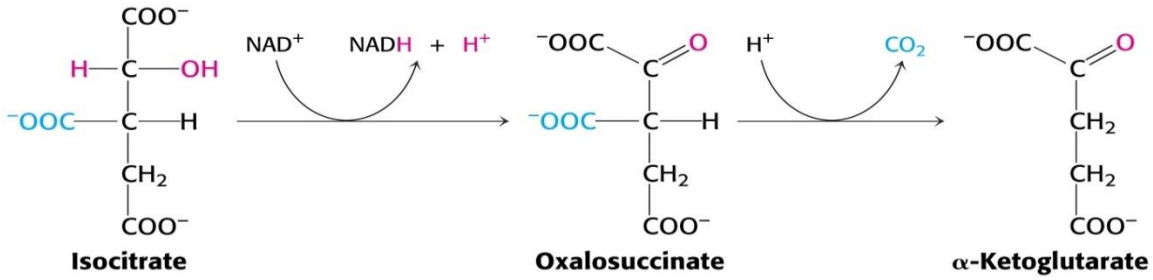


يحفزه انزيم الاكونيتاز وينتج الايزو سيترات ، وفيه يتم تشكيل وإعادة تشكيل مماكبات السيترات عن طريق حذف واضافة جزيء ماء وتوجد الاكونيتات المقرونة cis كمتوسط مرتبط انزيميا .

٣. اكسدة الايزو سيترات:

عملية نزع الكربوكسيل التاكسدي للايزو سيترات بواسطة انزيم الايزو سيترات ديهدروجيناز والناتج هو الفا-كيتو غلوتارات ،وهو

تفاعل غير عكوس ، وهو تفاعل الاكسدة بنزع الهيدروجين الأول في الحلقة .وتنتج اول جزيئة NADH وأول جزيء CO2في الحلقة .

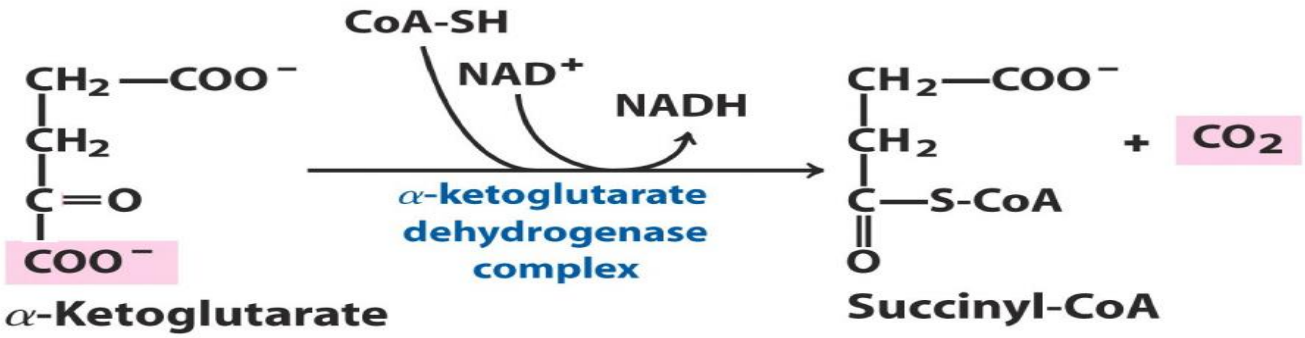


1st NADH produced **1st CO_2 removed**

٤. تشكل السوكسونيل كو انزيم A:

هو تفاعل نزع الكربوكسيل التأكسدي من الفا كيتو غلوتارات ، يحفزه المعقد الانزيمي الفا كيتو غلوتارات ديهدروجيناز وهو معقدشبيه بال PDH. وهو تفاعل الاكسدة الثاني في الحلقة وهنا تنتج ثاني جزيئة NADHوثاني جزيء CO2.

لمستقلبات هذا التفاعل أهمية في الاصطناع الحيوي (يتكثف السوكسونيل كو A مع الغليسين ليشكل الهيم).



2nd NADH produced, 2nd CO2 removed
Enzyme: α-ketoglutarate dehydrogenase

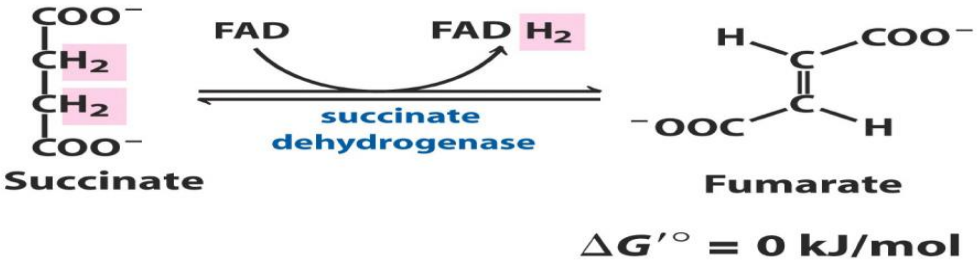
٥. تشكل السوكسينات:

الانزيم هو السوكسينات ثيوكيناز (سوكسونيل كو Aسينثاز)،يتشكل جزيء GTP وهو يعادل طاقيا جزيء ATP،هذا التفاعل هو التفاعل الوحيد الي تتم فيه **الفسفرة على مستوى الركيزة** (بينما في تحلل السكر هنالك تفاعلان تتم فيهما الفسفرة على مستوى الركيزة).

A GTP (ATP) produced

٦. تشكل الفومارات:

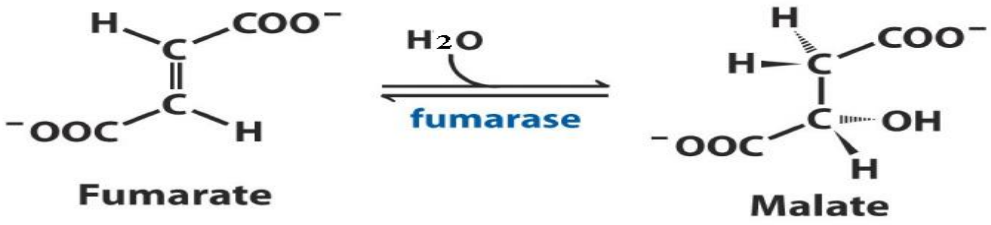
تفاعل اكسدة السوكسينات بواسطة انزيم السوكسينات ديهدروجيناز ، وينتج جزيء $FADH_2$ لان طاقة السوكسينات لا تكفي لارجاع NAD^+.



A FADH2 produced

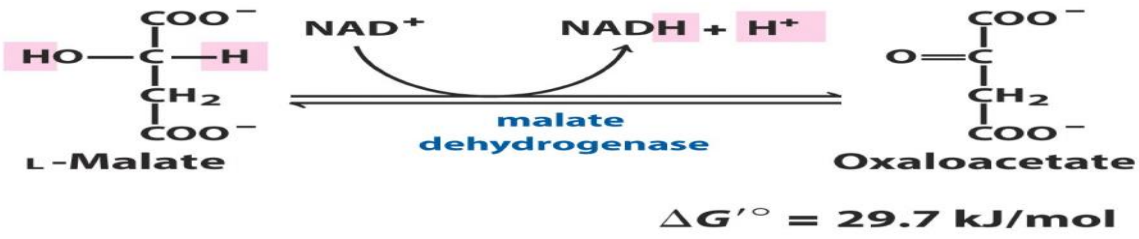
٧. تشكل المالتات:

هو تفاعل اماهة الفومارات بواسطة الفوماراز ، وهو تفاعل غير عكوس .

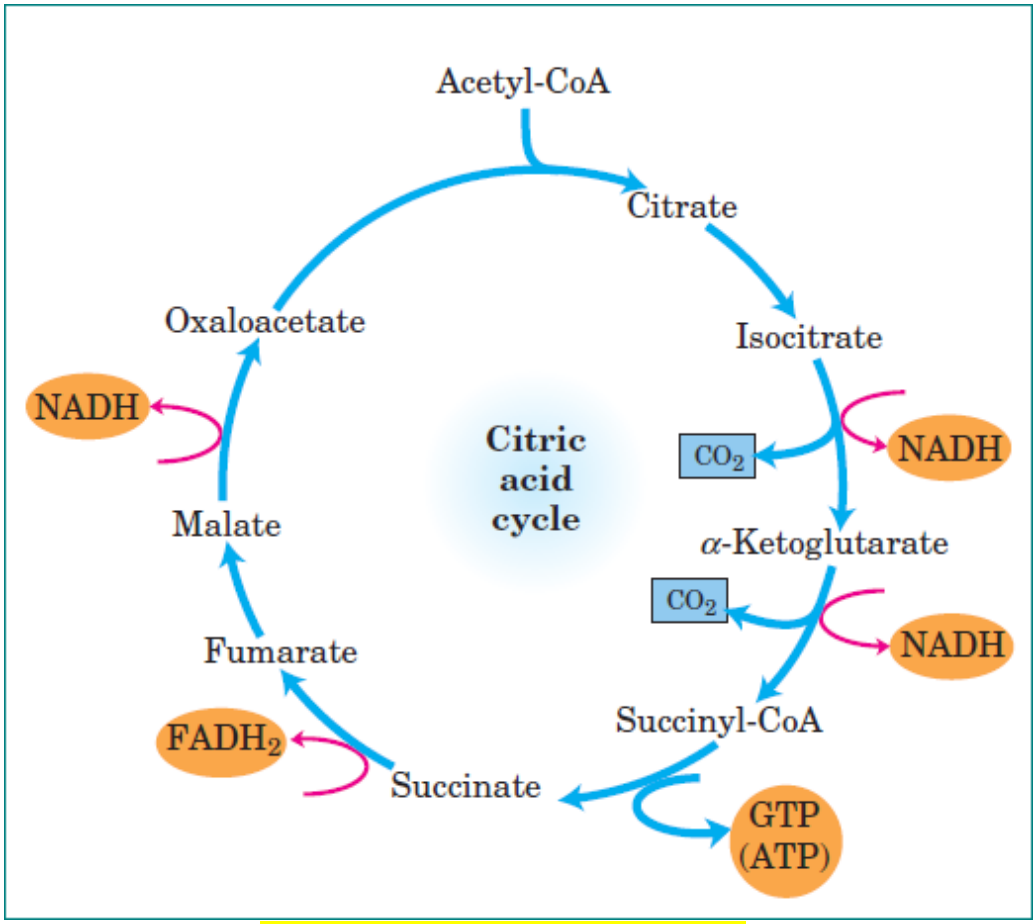


٨. اكسدة المالات :

الى اوكزو اسيتات بواسطة انزيم المالتات ديهدروجيناز .وهو التفاعل الثالث لانتاج NADH.



3rd NADH produced



و فيما يلي مخطط عام لتفاعلات حلقة كريبس

الطاقة الناتجة عن حلقة كريبس :

الناتج الكلي من ال ATP في اكسدة من الاستيل كو انزيم Aهو :

مصدر الATP	الأستيل كو أنزيم A
أكسدة 3NADH	9ATP
أكسدة $FADH_2$	2ATP
الفسفرة على مستوى الركيزة	1ATP
الحصيلة	12ATP

اذا يكون المجموع ١٢ جزيئة ATPمن كل جزيئة استيل كو انزيم A وبما انه لدينا جزيئتان يكون المجموع ٢٤ .

يمكن حساب حصيل الطاقة بدءا من الغلوكوز :

اكسدة جزيئة واحدة من الغلوكوز هوائيا تنتج ٦-٨ ATP، واكسدة البيروفات إلى استيل كو انزيم A ينتج عنها جزيء NADH(أي جزيئات٣ ATP) ولكن كل غلوكوز تعطي جزيئتي بيروفات أي ٦ ATP ، ومنه تكون

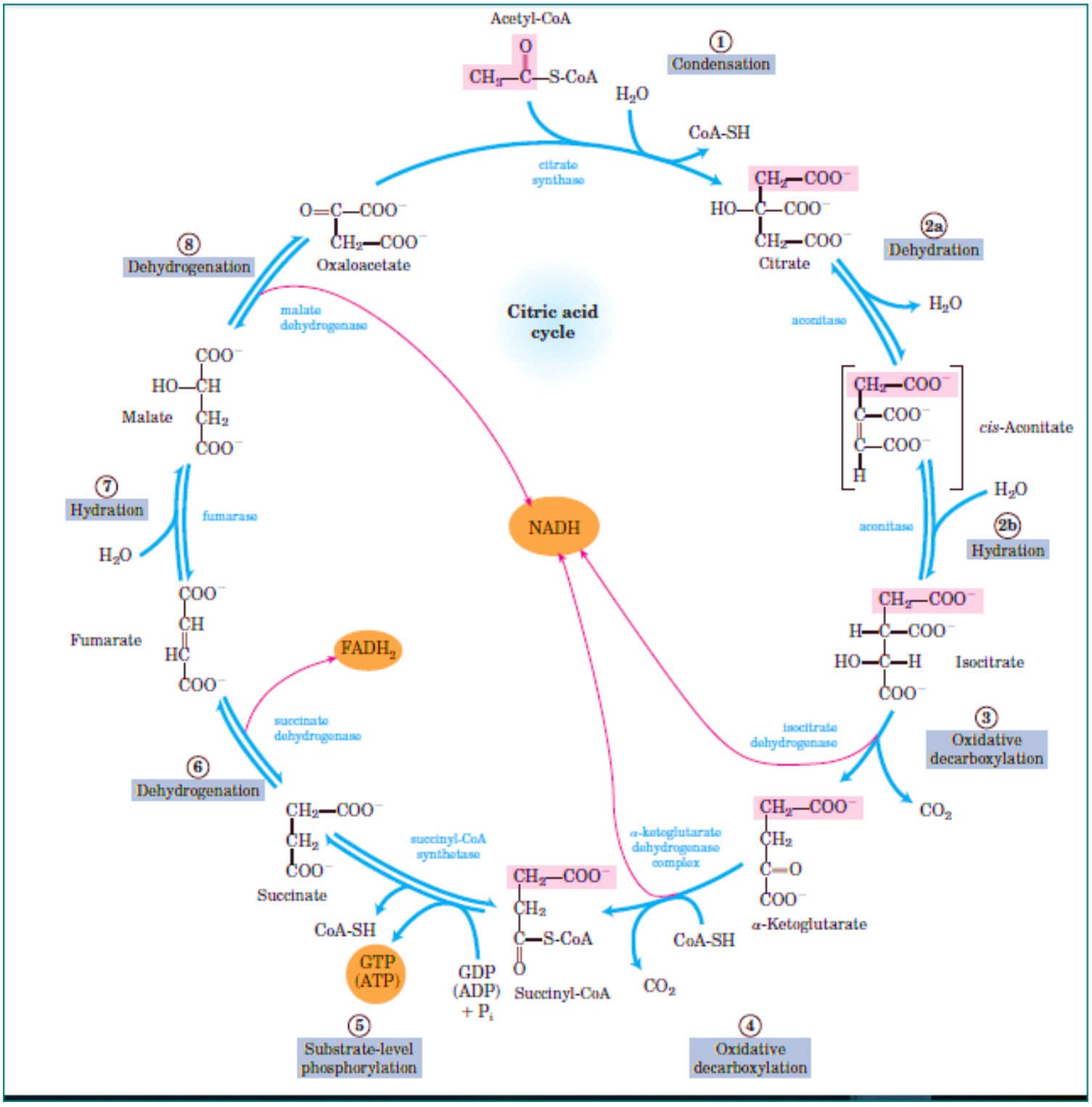
المحصلة الكلية = ٢٤ + (٦ او ٨) + ٦= ٣٦-٣٨ جزيئة ATP.

في حساباتنا نعتمد أنَّ أكسدة كل جزيء NADH يدخل إلى المتقدرات تعطي ٢ أو ٣ جزيئات ATP و ذلك تبعاً للمكوك الذي تسلكهُ (مكوك الغليسيرو فوسفات الذي يعطي في المطرق المتقدري $FADH_2$ التي تعطي 2ATP ، أو مكوك المالتات-أسبارتات الذي يعطي في المطرق المتقدري NADH تعطي 3ATP) ، لكن في الجدول التالي الذي تمَّ عرضهُ خلال المحاضرة تم الاعتماد على أنَّ أكسدة كل جزيء NADH تعطي 2.5ATP و أكسدة كل جزيء $FADH_2$ تعطي 1.5ATP فبالتالي ستعطي كل جزيئة NADH ناتجة إما ٣ أو ٥ جزيئات ATP عند دخولها المطرق المتقدري بإحدى الآليتين المكوكيتين و أكسدتها بالسلسلة التنفسية :

و يعرض هذا الجدول الطاقة الناتجة عن كل جزيء غلوكوز يتم استهلاكه في كل من سبيل تحلل السكر و حلقة كريبس :

Reaction	*Number of ATP or reduced coenzyme directly formed*	*Number of ATP ultimately formed**
Glucose ⟶ glucose 6-phosphate	−1 ATP	−1
Fructose 6-phosphate ⟶ fructose 1,6-bisphosphate	−1 ATP	−1
2 Glyceraldehyde 3-phosphate ⟶ 2 1,3-bisphosphoglycerate	2 NADH	3 or 5[†]
2 1,3-Bisphosphoglycerate ⟶ 2 3-phosphoglycerate	2 ATP	2
2 Phosphoenolpyruvate ⟶ 2 pyruvate	2 ATP	2
2 Pyruvate ⟶ 2 acetyl-CoA	2 NADH	5
2 Isocitrate ⟶ 2 α-ketoglutarate	2 NADH	5
2 α-Ketoglutarate ⟶ 2 succinyl-CoA	2 NADH	5
2 Succinyl-CoA ⟶ 2 succinate	2 ATP (or 2 GTP)	2
2 Succinate ⟶ 2 fumarate	2 $FADH_2$	3
2 Malate ⟶ 2 oxaloacetate	2 NADH	5
Total		30-32

مخطط عام تفاعلات حلقة كريبس مع الطاقة الناتجة عنها :



دورحلقة كريبس في الاصطناع الحيوي :

١)دورحلقة كريبس في عملية نزع ونقل الامينات:

- يمكن اصطناع الكثير من الحموض الامينية انطلاقا من مستقلبات حلقة كريبس (كالالانين والغلوتامات والاسبارتات).

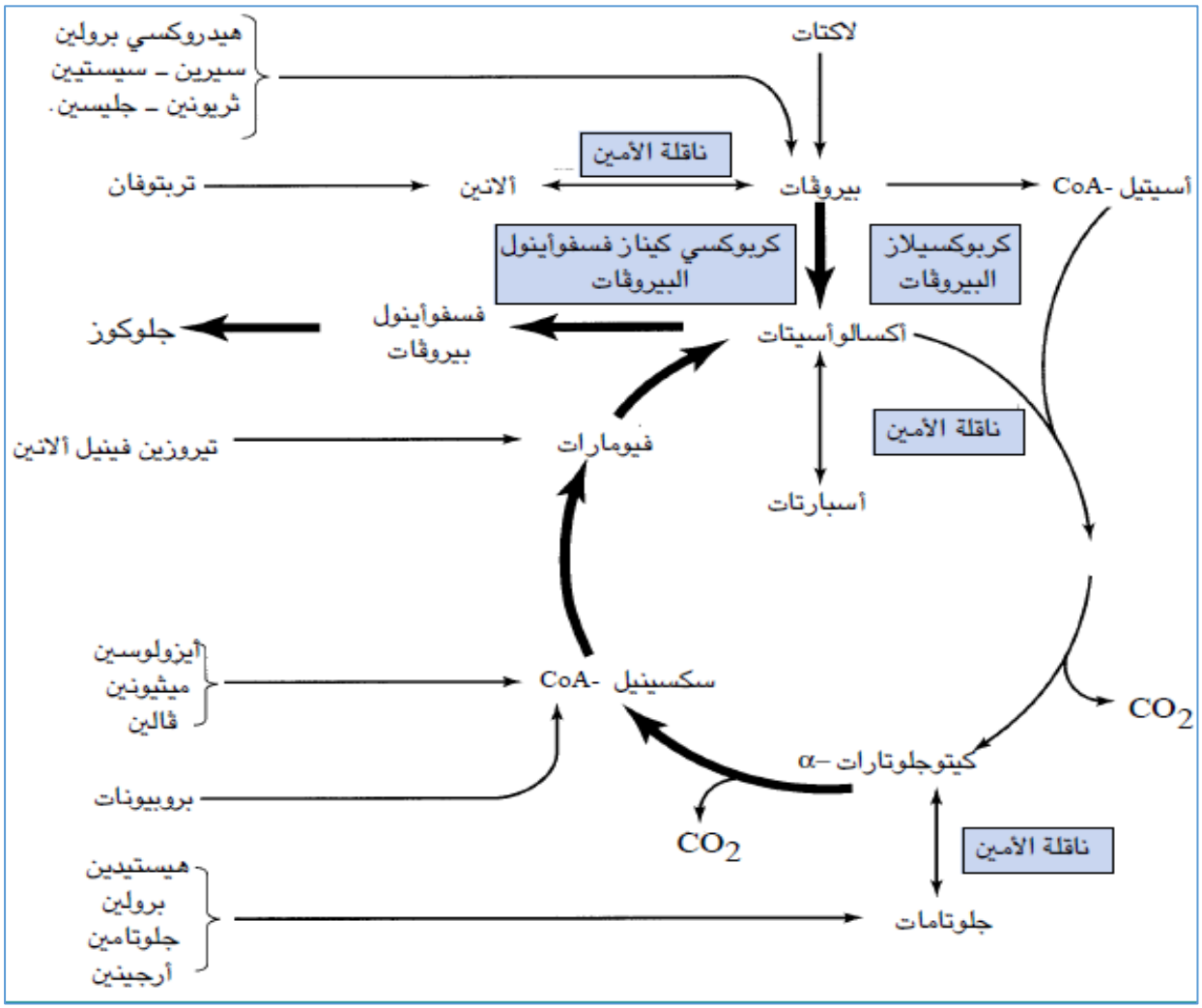
- العديدمن الحموض الامينية تستطيع تقديم ركائز لحلقة كريبس (من هنا اتى اسم الحلقة كمسلك مشترك متصالب).

نقل الأمين إلى البيروفات يمكن أن يعطي الألانين و التريبتوفان .

ألفا كيتو غلوتارات يمكن أن تتحول إلى غلوتامات بنقل الأمين .

في حال عدم وجود سيترات كافية وكانت العضوية بحاجة ماسة للطاقة : فعندها تضخ بعض الأحماض الأمينية مثل الغلوتامين و الهيستيدين والأرجينين وتحولها إلى غلوتامات يمكن أن تتحول إلى ألفا كيتوغلوتارات .

وفي حال عدم توافر البيروفات من المصدر السكري يمكن الحصول عليهِ من بعض الأحماض الأمينية مثل الهيدروكسي برولين و السيرين و التريونين و الغليسين ويمكن أن تتحول إلى بيروفات بتفاعل نزع أمين .



٢)دورحلقة كريبس في اصطناع الحموض الدسمة :

عند وجود فائض من السيترات (مخزون طاقة عال) ، تنقل السيترات بواسطة مكوك السيترات الى السيتوزول ، يتم شطر السيترات في السيتوزول بواسطة أنزيم سيترات لياز و تتحول إلى أوكزالوأسيتات (ينزع منه الكربوكسيل ليدخل من جديد بحلقة كريبس) و أستيل CO-A (يستخدم لاصطناع الدسم) .

٣)اصطناع الهيم والاجسام الكيتونية:

عن طريق السوكسونيل كو انزيم Aفي الانسجة خارج الكبد .

٤)استحداث السكر:

عن طريق المالتات الذي يتحول الى اوكزالو اسيتات ثم فوسفو اينول بيروفات الذي يدخل سبيل استحداث السكر .

تنظيم حلقة كريبس

علينا ان نفهم ان الحلقة تحدث في حالتي الجوع والشبع : ففي حالة الشبع ركائز الحلقة موجودة ، وفي حالة الجوع تأتي الركائز من مصادر أخرى كهدم الدسم والبروتين، كما ان الحلقة **لاتخضع للتنظيم الهرموني.**

كل إنسان لديهِ كمية محددة من **الأوكزالوأسيتات الذي يبدأ وينهي الحلقة** ، كما تختلف حركية حلقة كريبس من إنسان إلى آخر ، و كل من نواتج تحلل الغلوكوز و نواتج تحطم الدسم و الشحوم تحدد سرعة هذه الحلقة .

الآليات المقترحة لتنظيم حلقة كريبس :

١)تنظيم PDH.

٢)تنظيم السيترات سينثاز: يتفعل هذا الانزيم ب ADPويتثبط بالسيترات و ATP.

٣)تنظيم الايزو سيترات ديهدروجيناز: يتفعل ب +NADو ADP، يتثبط ب ATPو NADH والسوكسونيل كو A.

٤) تنظيم السوكسينات ديهدروجيناز : يتفعل ب +NADو ADP ،يتثبط ب ATPوNADH والسوكسينيل كو A.

٥) تركيز الاوكزالو اسيتات.

ملاحظة : ان الاوكزالو اسيتات هو من يختم الحلقة وبالتالي هو من يبدؤها ، ويكون تركيزه ثابتا أي لايتم انتاج جديد له ،بينما الاستيل كو انزيم A هو المركب المتحول فيتغير بحسب كميته ومصدره .

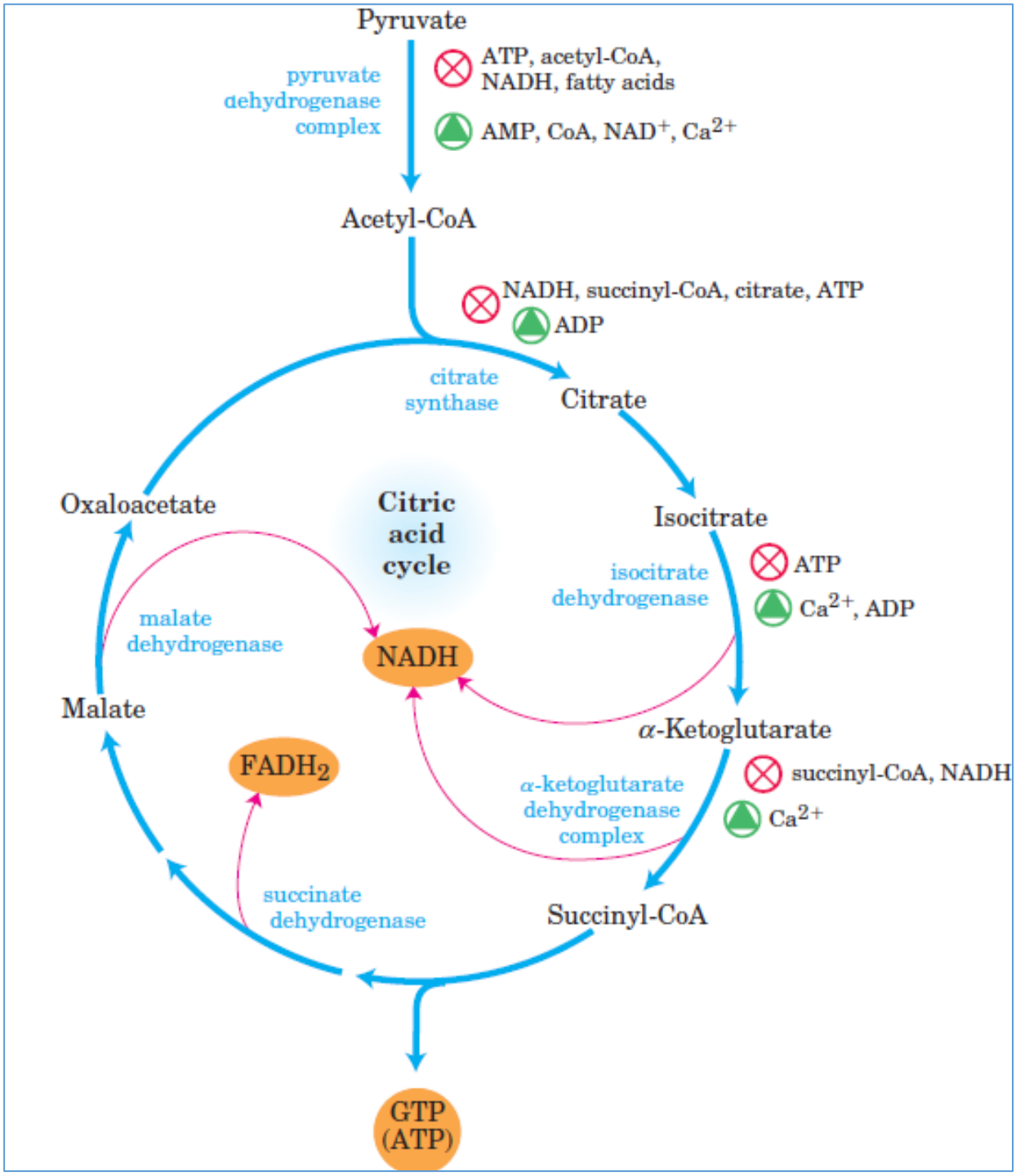
تثبيط تفاعلات حلقة كريبس

المثبطات الصنعية لحلقة كريبس : (تؤدي للموت)

١) **المالوناتMalonate :** تتنافس مع السوكسينات على الارتباط بأنزيم سوكسينات دي هيدروجيناز

٢) **الزرنيخArsenite** و هو الزرنيخ خماسي التكافؤ ، يوقف الحلقة بحيث لا يمكن اصطناع الهيم من السوكسينيلCO-A فيحدث فقر دم و موت .

٣) فلوروا استيات Fluoroacetate .



في المخطط التالي نجد آلية تنظيم حلقة كريبس لكل من تفاعلات الحلقة على حدى :

أنزيم PDH

يكون هذا الأنزيم معقداً أنزيمياً مؤلفاً من ٣ تحت وحدات أنزيمية :

E1 ← نزع الكربوكسيل التأكسدي للبيروفات .

(E1)← **بيروفات دي هيدروجيناز:** نزع الكربوكسيل التأكسدي من البيروفات .

(E2)← **دي هيدروليبوئيل تر انسفيراز:** نقل زمرة الاسيل الى كو انزيم A.

(E3)← **دي هيدروليبوئيل دي هيدروجيناز:**إعادة الشكل التأكسدي للحمض الشحمائي (مسؤول عن نقل زمرة الاسيل)

يوجد في معقد الPDH ٦٠ نسخة من E_2 و ١٢ نسخة من E_1 و ٦ نسخ من E_3 .

لهذا الأنزيم أهمية طاقية لأنه ينتج الNADH للاستفادة منها في الحصول على الطاقة عند أكسدتها في السلسلة التنفسية .

تفاعل هذا الأنزيم غير عكوس و له عوامل تضبطهُ و هي :

- **التنظيم عبر نو اتج الحلقة :**

يعد كل من NADH و الأستيل CO-A من مثبطاتها (تلقيم راجع سلبي – إشارة زيادة في الطاقة في الخلية فلا حاجة لعمل حلقة كريبس) . أمَّا المركبات (NAD^+ و CO-A) تحفز تفاعلات حلقة كريبس .

- **التنظيم عبر إشارات الطاقة الخلوية :**

ATP : مثبط لعمل الحلقة بينما AMP محفز لعمل الحلقة .

عوز هذا الأنزيم :

يؤدي عوز هذا الأنزيم إلى حالة من الحماض اللاكتيكي (اللبني) بسبب تحول البيروفات غير الخاضعة لعمل هذا الأنزيم إلى لاكتات (وهو ذو طبيعة حمضية) ، و كل الولدان ذوي حالة الحماض اللاكتيكي المبكرة يعانون من عوز في PDH حتى يثبت العكس .

حل هذا الخلل يكون بالحمية خالية السكريات عالية الدسم ، فيتم استعمال الأحماض الدسمة لاصطناع الاستيل CO-A الداخل في هذهِ الحلقة .كما يعد PDH أنزيماً خاملاً يتحول بين الشكلين الفعال و غير الفعال حسب وجود الطاقة و حسب ارتباطهِ مع الفوسفور : فشكلهُ المفسفر غير فعال بينما شكلهُ غير المفسفر فعال .