

ЦИКЛИТЕ НА КРЕБС

Ивелин Кулев

Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Резюме. В тази статия са описани циклите на д-р Ханс Кребс (1900 – 1981). Описана е дейността на Кребс в Германия и Англия. Тук има оценка на значението на тези цикли за живота и за развитието на биологията.

Ключови думи: цикли на Кребс; биография

Преди години външният министър на Германия д-р Вестервеле (*Guido Westerwelle*, 1961 – 2016), за да отправи критика към образователното министерство, отбелязва: „*Най-безползното, което някога съм изучавал, беше цикълът на лимонената киселина. Не зная какво беше това!*“ (Roth, 2007).

Ако външният министър на България реши да отправи критика към средното образование, едва ли такива думи биха намерили място в неговото изказване. Още повече че има далеч по-важни неща, които могат да послужат за критика към средното или висшето образование, преди нещата да се докоснат до цикъла на лимонената киселина. А днес този цикъл се изучава в гимназията, при това в програмата по биология. (Може би защото биохимията е част от биологията, а не от химията). Предвид на това съзнавам и отговорността на задачата си да представя в рамките на списанието разбираемо, предназначено за читатели, които в най-общи линии не са изкушени от химията, една твърде сложна и трудна за разбиране схема на серия от химични реакции, протичащи в живите организми. Всичко това, в крайна сметка, е свързано с обмяната на веществата.

В самото начало на XX век в семейството на лекаря Георг Кребс и съпругата му Алба се ражда синът им Ханс. Той е средният от три деца, тъй като сестра му Елизабет е по-голямата, а брат му Волфганг – по-малкият. Посещава училището в родния си град Хилдерсхайм, Германия, и през 1918 г. започва да следва медицина. Като е възприето тогава в немските университети, Ханс започва следването си в Университета в Гьотинген, който напуска и продължава в Университета във Фрайбург, последван от университетите в Берлин и Мюнхен. Така той посещава лекциите, изнасяни от известни за времето си професори, които преподават на своите студенти достиженията на науката в момента. Изключително въздействие върху него оказва посещението на лекциите на Виндаус (*Adolf Windaus*, 1876 – 1959) – бъдещия Нобелов лауреат по химия за 1928 г., в Гьотинген.

През 1923 г. той печата и първата си публикация. През 1925 г. Ханс Кребс защитава успешно докторска дисертация в Университета в Хамбург, след което следва една година химия в Университета в Берлин, а след това до 1930 г. е асистент в Кайзер-Вилхелмовия институт по биология (днес Институт „Макс Планк“) на бъдещия Нобеловия лауреат Ото Варбург (*Otto Heinrich Warburg*, 1883 – 1970) (фиг. 1). През 1930 г. започва работа като лекар в Хамбург, а на следващата година е в университетската клиника във Фрайбург като асистент на д-р Танхаузер (*Siegfried Thannhauser*, 1885 – 1962). Тук комбинира клиничните си задължения с изследователска работа, чиято кулминация е откритието му, заедно с Курт Хензелейт, на цикъла на уреята. Този цикъл днес е известен като „цикъл на уреята“ или „цикъл на Кребс-Хензелейт“ (Stubbs & Gibbons, 2000; Williamson, 1982).



Фигура 1. Ото Варбург (*Otto Heinrich Warburg*, 1883 – 1970) в своята лаборатория. Син на физика Емил Варбург. Следва химия в Алберт-Лудвиг университета във Фрайбург, а през 1931 г. получава Нобеловата награда по физиология и медицина за „откриване на природата и функцията на фермента на дишане“.



Фигура 2. Ханс Кребс (*Hans Adolf Krebs*, 1900 – 1981), който получава Нобеловата награда по физиология и медицина за 1953 г. за „неговото откритие на цикъла на лимонената киселина“

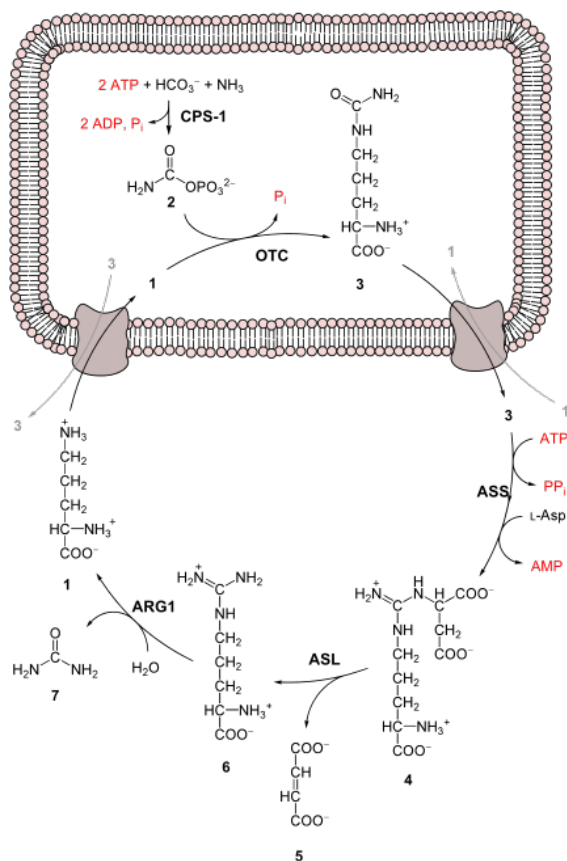


Фигура 3. Сър Ханс Кребс през март 1980 г.

През 1932 г. се хабилитира, но още на следващата година, поради идването на власт на Хитлер и поради еврейския си произход, д-р Ханс Кребс е принуден да напусне Фрайбург. Известно е изказването на Хитлер по въпроса за учените от еврейски произход: *„Ако трябва да бъдат уволнени еврейските учени, това означава да унищожим немската наука, тогава ние ще минем без науката за няколко години“*. По-късно се оказва, че няколкото години се превръщат в много, много години и на немската наука е нанесен удар, който и до днес не може да бъде компенсиран.

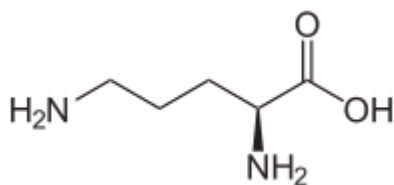
Кребс последва една покана за работа в Биохимическия институт на Кеймбридж, където е назначен като демонстратор по биохимия в Университета. Междувременно, като стипендиант на фондация „Рокфелер“, той следва биохимия в Университета в Оксфорд. По-късно, през 1935 г., е избран за доцент, а през 1945 г. – и за професор по фармакология в Университета в Шефилд. По думите на самия д-р Кребс в Шефилд са едни от най-щастливите му години. През 1954 г. д-р Ханс Кребс оглавява Катедрата по биохимия в Университета в Оксфорд (фиг. 2), а днес там е известната *Кула на Ханс Кребс*, където са открити основополагащите представи на биохимията. В тях д-р Кребс се представя като един от създателите на метаболизма в човешкия организъм. През 1967 г. д-р Ханс Кребс се пенсионира, напускайки биохимията (фиг. 3). Първоначално отказва да продължи своите научни изследвания, но след като е поканен за научен сътрудник в Департамента на Нафилд за клинична медицина (Nuffield Department of Clinical Medicine) в Оксфорд, се съгласява да продължи с научните си изследвания. Публикува повече от 100 научни работи до смъртта си (Williamson, 1982). По-късно е избран и за професор в Кралската безплатна болнична медицинска школа в Университета в Лондон (Royal Free Hospital School of Medicine).

Цикълът на уреята (фиг. 4) представлява поредица от химични реакции, съдържащи азот разпадни продукти от хранителни вещества, които, в крайна сметка, се превръщат в урея и се изхвърлят с помощта на бъбреците. Най-напред чрез карбамоилфосфат-синтетазата хидроксикарбонатите се фосфолират, чрез което се активират и се включват в поредицата от химични реакции, които са зависими от аденозинтрифосфата (АТР). (АТР е по същество веществото, което доставя енергия на организма.) Чрез натрупване на амоняк и разцепване на остатъците от фосфата, възниква карбаматът $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. Той, от своя страна, се фосфолира и чрез това се активира, за да се включи във втората реакция, която е зависима от АТР. Накрая стои карбамоилфосфатът, който е изходен продукт за цикъла на уреята. И двете стъпки се катализират от карбамоилфосфат-синтетаза I, т.е. от един ензим, който се съдържа в човешкия организъм.



Фигура 4. Схема на цикъла на уреята: реакциите се провеждат в митохондриите (горе), както и в цитозола (долу). 1. L-орнитин; 2. карбамоилфосфат; 3. L-цитрулин; 4. L-аргиносукцинат; 5. фумарат; 6. L-аргинин; 7. урея; L-аспартат; карбамоилфосфат-синтетаза I (CPS-1); орнитин-траскарбамилаза (OTC); аргиносукцинат-синтетаза (ASS); аргиносукцинат-лиаза (ASL); аргиназа 1 (ARG-1)

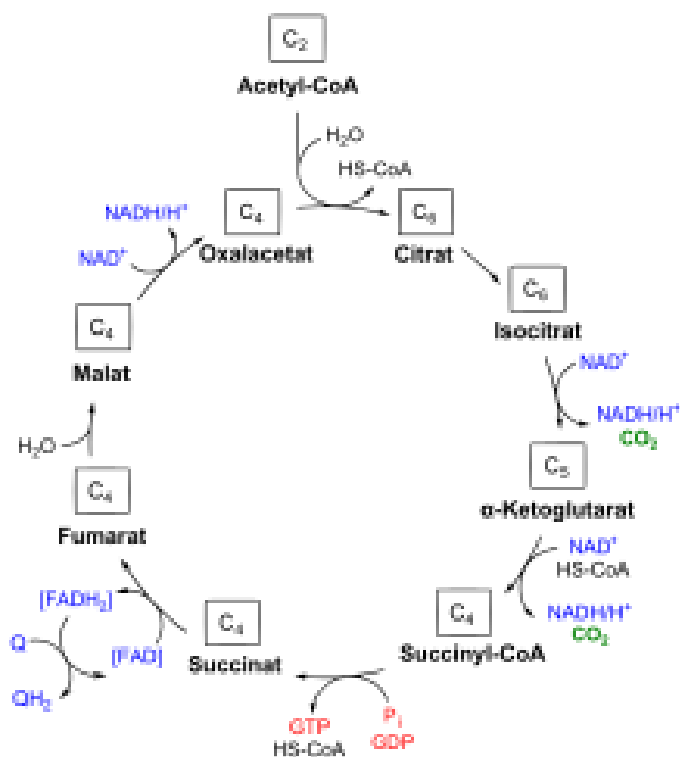
Още от началото на миналия век (1904 г.) е известно, че чрез автокатализа се произвежда аминокиселината аргинин, която пък води до получаването на урея. Д-р Кребс установява, че когато тази киселина се добави към черния дроб, се освобождава амоняк, който количествено се превръща в урея. Когато обаче се добави орнитин (това е аминокиселина, която не поражда протеин, но играе важна роля в цикъла на уреята), количеството на уреята нараства десетократно. Ако амонякът обаче липсва, образуването на урея не се осъществява. От това д-р Кребс предполага, че орнитинът (фиг. 5) реагира с амоняка и въглеродния диоксид, за да образува аргинин, а той играе ролята на катализатор. Така орнитинът се оказва надеждно обяснение за синтеза на уреята в организма. Другото име на цикъла на Кребс-Хензелейт е „цикъл на орнитина“. Същевременно без метаболизма на уреята организмът няма как да се освободи от отпадъците, съдържащи азот – например амоняк, а това може да доведе до енцефалопатия (дегенеративно заболяване, което поражда главния мозък, предизвикващо се, в крайна сметка, от стесняване на кръвоносните съдове в мозъка).



Фигура 5. Химическа формула на аминокиселината орнитин

По-късно, през 1937 г., когато д-р Кребс е вече в Англия, той открива цикъла на лимонената киселина (Krebs & Johnson, 1937a; 1937b), за което получава и Нобеловата награда по физиология и медицина за 1953 г. (Другата половина от наградата получава Липман – *Fritz Albert Lipmann*, 1899 – 1986, който също е от немски и еврейски произход, но напуска Германия на Хитлер и избягва в САЩ. Той получава Нобеловата награда за „откриването на коензим А и неговото посредничество в метаболизма“).

Статията си за цикъла на лимонената киселина д-р Ханс Кребс изпраща, за да бъде публикувана в научното списание *Nature*. Списанието обаче отказва работата с оправданието, че е затрупано от писма и г-н Кребс следва да изчака достатъчно време, за да бъде публикувана неговата работа в списанието. Ако г-н Кребс желае бързо публикуване, той би могъл да изпрати своята публикация в друго списание. Един от редакторите в *Nature* през 1988 г. публикува писмото, с което списанието отказва работата на Кребс (Stubbs & Gibbons, 2000), и отбелязва, че това е „най-голямата грешка на списанието“. Така Кребс е принуден да публикува своите наблюдения в едно не толкова известно холандско списание – *Enzymologia*.



Фигура 6. Опростено представяне на цикъла на лимонената киселина.

В синьо са представени редуционните еквиваленти, докато в зелено е представено образуването на въглероден диоксид, а в червено – съответно GDP = гианозиндифосфат и GTP = гианозинтрифосфат.

FAD = флавин-аденин-динуклеотид – ензим, който катализира FMN -аденилтрансферазата във FAD .

$FADH_2$ = флавин-аденин-динуклеотид, коензим.

NAD = никотин-аденин-динуклеотид – коензим, който участва в обмяната на веществата в клетката.

$NADH/H^+$ = никотин-амид-аденин динуклеотид, коензим.

Същевременно е посочен и броят на въглеродните атоми на междинните продукти

Цикълът на лимонената киселина представлява серия от химични реакции, които протичат в живите организми и се основават на обмяната на веществата, водеща до окислителното разграждане на веществата (Krebs & Johnson, 1937a; 1937b; Krebs et al., 1938) (фиг. 6). Той е известен още като „цикъл на Кребс“, или „цикъл на трикарбоновата киселина“ и представлява биохимични реакции, чиято роля е обмяната на веществата в аеробните клетки на живите същества, т.е. на клетки, които поемат кислород. Този цикъл се изразява в окислително разграждане на органичните вещества и получаването на енергия, както и на молекули, чрез които могат да бъдат произведени други вещества, които са нужни за съществуването на организма. Чрез окислителното

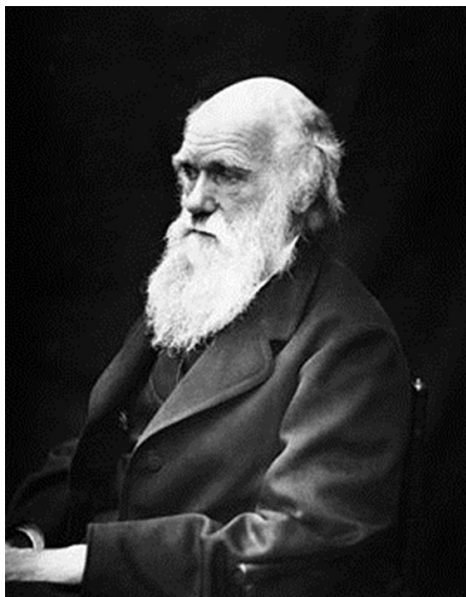
разграждане на мазнините, на захарите и аминокиселините, в крайна сметка, се получават въглероден диоксид и вода, както азот- и фосфорсъдържащи химични съединения. При това чрез разграждането на органичните вещества на живите същества се осигуряват междинни продукти, които директно или индиректно предоставят енергия, като АТР. Името си „цикъл на лимонената киселина“ този кръг от химични реакции дължи на един междинен продукт, представляващ анион на лимонената киселина. Изобщо цикълът на лимонената киселина е един процес на обмяната на веществата, който е част от окислителното разграждане на веществата. Възхитата идва от брилянтното изследване, проведено от д-р Кребс и неговия студент по медицина Джонсън (Krebs & Johnson, 1937a; 1937b).

При еукариотите, които възникват преди около 2 милиарда години на Земята и включват животните, растенията и гъбите, цикълът на лимонената киселина протича в митохондриите. При прокариотите обаче цикълът на лимонената киселина протича в цитоплазмата. (Прокариотите са едноклетъчни организми, но нямат обособена ядрена мембрана и като повечето прокариоти представляват бактерии.)

В цикъла на лимонената киселина (фиг. 6) се включват продукти на разграждане на различни хранителни вещества, които са продукт на обмяната на веществата. Оцетната киселина, която е свързана с ензима ацетил-КоА, може да се разглежда като продукт на разграждане на различните хранителни вещества. От мастните киселини чрез β -окисление се образува директно ацетил-КоА. Той се свързва с молекула оксалацетат и се превръща в лимонена киселина. Тя, от своя страна, под действие на ензима аконитаза се превръща в цис-аконитат, при което се отделя молекула вода. Цис-аконитатът, от своя страна, под действието на ензима изоцитратдеhidрогеназа се превръща в изоцитрат, т.е. сол на лимонената киселина. Изоцитратът пък под действието на изоцитратдеhidрогеназата се превръща в алфа-кетоглутарат. Алфа-кетоглутаратът чрез алфа-кетоглутаратдеhidрогеназата и с присъединяването на ацетил-КоА се превръща в сукцинил-КоА. Под действие на сукцинаттиокиназата той преминава в сукцинат. Сукцинатдеhidрогеназата го превръща във фумарат. Фумаратът чрез фумаразата преминава в L-малат. L-малатът под влиянието на ензима малатдеhidрогеназа възстановява оксалацетата, който отново може да взаимодейства с молекула ацетил-КоА и цикълът да се повтори.

Това накратко представлява цикълът на лимонената киселина, който все пак е твърде сложен, за да бъде представен с по-прости думи, за да бъде разбираем за хората, които не са директно изкушени от химията. Така д-р Кребс се превръща в архитект на метаболизма, в откривател на сложните биохимични процеси, които протичат в човешкия организъм и са стъпка към разгадаване на сложните химични или биохимични процеси.

Поначало цикълът на лимонената киселина би могъл да се разглежда и като третата от четирите стъпки на разлагането на по-прости вещества на въглехидратите. Той се осъществява, след като гликолизата и окислителното декарбоксилиране на пирувата до ацетил-КоА, т.е. до крайното окисление, осъществявано от веригата на дишането. Следователно цикълът на лимонената киселина може да се разглежда и като един кръг от химични реакции, които предоставят молекули за анаболизма, т.е. за процеси, при които от по-малки молекули се извършва синтез на по-големи молекули, като нуклеинови киселини, полизахариди или белтъци (пептиди). Например α -кетокиселините от цикъла на лимонената киселина могат да се разглеждат като начало на образуването на аминокиселини или други вещества. А аминокиселините, когато са свързани достатъчно на брой една с друга, представляват образуването на белтъците (пептидите).



Фигура 7. Чарлс Дарвин – човекът, който пръв предположи, че всички видове живи организми на Земята еволюират с времето и произхождат от общи предшественици.

Тези идеи на Дарвин формират основите на биологията и обясняват биоразнообразието, съществуващо днес на Земята

Всъщност цикълът на лимонената киселина е едно от доказателствата за правилността на учението за еволюционното развитие, т.е. правилността на възгледите на Дарвин (*Charles Robert Darwin*, 1809 – 1882) (фиг. 7). Учението на Дарвин доказва, че съществена част от живите същества, които използват аминокиселини и захари, имат едни и същи прародители. Следователно животът, в неговата днешна форма, е възникнал само веднъж(!) и се е развивал по еволюционен път, водещ до появата на организми, които са най-добре приспособими към непрекъснато променящите

се условия за живот на Земята. Това е може би и част от значимостта на цикъла на лимонената киселина на д-р Ханс Кребс, който доказва по един съвършено друг начин валидността на еволюционната теория на Дарвин.

Всъщност, когато се опитах отново да вникна в сътворения от Кребс „цикъл на лимонената киселина“, достигнах до разбиране на изказването на д-р Вестервеле. Като човек, нямащ желание да се занимава с химия, той едва ли би могъл да разбере нещо от този твърде труден за възприемане и разбиране материал. Още повече че той е представен в рамките на гимназиалния курс, т.е. когато човек е достатъчно малък, за да вникне в проблемите на живота около нас. А той представлява, бих казал, един от върховете на биохимията. Така че напълно съм съгласен с д-р Вестервеле, че той не си спомня какво е това „цикъл на лимонената киселина“, нито подробности от този много труден въпрос, който е изучавал в гимназията. (Д-р Вестервеле, на всичкото отгоре, е в профил, който в немските гимназии се изучава с намерението ученикът никога повече да не се занимава с точни науки – физика, химия и т.н.) Може би по-възрастните хора, особено тези, които не са отдали живота си на химическите превръщания и вероятно не са запознати с постиженията на д-р Ханс Кребс, които не са имали щастието да ги изучават, още повече в гимназиалния курс, не са разбрали нищо от представянето на цикъла на Кребс за лимонената киселина. От написаното те едва ли биха могли да останат с впечатлението, че са усвоили нещо от трудния за възприемане въпрос на метаболитното превръщане. Е, поне в това отношение, съм привилегирован в сравнение с д-р Вестервеле, както и другите подобни на него, тъй като се запознах с цикъла на Кребс в курса по органична химия в университета и можах да вникна значително по-добре от него. Освен това имах и нагласата по-нататък да се занимавам с химия, а не с юридически науки, както д-р Вестервеле.

Все пак си мисля, че циклите на Кребс биха могли да бъдат обект, който се изучава в гимназиалния курс, тъй като постиженията на учени от ранга на д-р Кребс би следвало да се знаят, но едва ли в такива подробности.

Същевременно едва ли учениците, па макар и от гимназията, биха могли да схванат дълбочината на мисълта на д-р Ханс Кребс и неговото прозрение за начина, по който работи организъмът на човека. Това е може би твърде сложно, за да бъде разбрано, и едва ли учениците в гимназията биха могли да проумеят всичко това. Разбира се, това означава нещата да се сведат до наизустяване. А едва ли това е целта на такова упражнение. Същевременно обаче това им осигурява завършване на средното образование... И все пак нещо би следвало да се знае за д-р Ханс Кребс, за неговите цикли, за следствието от неговите мисли и прозрения, но всичко това би следвало да се поднесе твърде, твърде пестеливо, а не с такива подробности, които принуждават учениците да наизустяват материала и да го мразят в годините напред!

REFERENCES

- Krebs, H.A. & Johnson, W.A. (1937a). Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochem. J.*, 31, 645 – 660.
- Krebs, H.A. & Johnson, W.A. (1937b). Acetopyruvic acid (alphagammadiketovaleic acid) as an intermediate metabolite in animal tissues. *Biochem. J.*, 31, 772 – 779.
- Krebs, H.A., Salvin, E. & Johnson, W.A. (1938). The formation of citric and α -ketoglutaric acids in the mammalian body. *Biochem. J.*, 32, 113 – 117.
- Roth, K. (2007). *Chemische Delikatessen*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Stubbs, M. & Gibbons, G. (2000). Hans Adolf Krebs (1900 – 1981), his life and times. *Life*, 50, 163 – 166.
- Williamson, D.H. (1982). Sir Hans Krebs (1900 – 1981). *Biochem. J.*, 204, 1 – 2.

THE CYCLES OF KREBS

Abstract. In the present paper the idea about the cycles discovered by Dr. Hans Krebs is given. The career of Dr Krebs in Germany and England is outlined and his cycles are described in details. It is given also the evaluation of his discovery both about life and development of the biology as well.

Keywords: Krebs cycles; biography

✉ **Prof. Ivelin Kuleff**
University of Sofia
1, James Bourchier Blvd.
1164 Sofia, Bulgaria
E-mail: kuleff@chem.uni-sofia.bg