

Seminar 14.

Piruvat dehidrogenaza

B. Mildner

Rezultati zadatac 13.

1.	C	12.	D
2.	C	13.	B
3.	B	14.	A
4.	B	15.	B
5.	A	16.	D
6.	D	17.	C
7.	B	18.	D
8.	D	19.	A
9.	D	20.	A
10.	D	21.	D
11.	D	22.	A

1. Koja tvrdnja opisuje gdje se u stanici eukariota odvija citratni ciklus?
 - a) Sve se reakcije citratnog ciklusa odvijaju u citoplazmi.
 - b) Sve se enzimatske reakcije citranog ciklusa odvijaju u mitohondriju.
 - c) Piruvat koji nastaje glikolizom pretvara se u acetil-CoA u citoplazmi a preostale enzimatske reakcije odvijaju se u mitohondriju.

2. U reakciji koju katalizira kompleks piruvat dehidrogenaze, dva ugljikova atoma koji čine acetilnu skupinu:
 - a) Prenose se direktno na lipoamidni kofaktor;
 - b) Prenose se na lipoamid pomoću međuprodukta koji rano nastaje tijekom ovog procesa;
 - c) Oksidiraju se s NAD^+ još dok su vezani za lipoamid.

3. Što od navedenog **nije točno** o kofaktoru, vitaminu B1, kompleksa piruvat dehidrogenaze?
 - a) Aktivni oblik ovog vitamina naziva se tiamin pirofosfat (TPP).
 - b) Aktivni oblik ovog vitamina katalizira dekarboksilaciju piruvata.
 - c) Drugo ime za ovaj B vitamin je lipoična kiselina.

4. Iako se kompleks piruvat dehidrogenaze alosterički regulira, naročito inhibicijom reakcijskih produkata, glavni regulatori enzimatske aktivnosti su:
 - a) Fosforilacija s ATP koja inhibira kompleks, te defosforilacija koja aktivira kompleks;
 - b) Fosforilacija s ATP koja aktivira kompleks te defosforilacija koja inhibira kompleks.
 - c) Izmjena ADP i ATP na kompleksu piruvat dehidrogenaze.

5. Koja je tvrdnja točna o dijetetskim karakteristikama tiamina?

- a) Pomanjkanje tiamina u hrani dovodi do bolesti beriberi.
- b) Jedini enzim na kojeg djeluje nedostatak tiamina je piruvat dehidrogenaza.
- c) Smeđa riža ima manje tiamina od bijele riže.

6. Na koji način arsenit (AsO_3H_2^-) inhibira kompleks piruvat dehidrogenaze?

- a) Arsenit se veže za esencijalni ion žive koji je u kompleksu piruvat dehidrogenaze.
- b) Arsenit reagira s dvije slobodne sulfhidrilne skupine dihidrolipoamida na E3 enzimu ovog kompleksa.
- c) Arsenit reducira disulfidnu vezu koja je inače u oksidiranom obliku u lipoamidnom kofaktoru.

Zadatak 1.

Nabrojite prednosti da se enzim koji katalizira nastanak acetil CoA iz piruvata nalazi u jednom velikom kompleksu.

Rješenje zadatka 1.

Prednosti su:

1. Reakcije su omogućene budući da su aktivna mjesta svih enzima u blizini;
2. Reaktanti ne napuštaju enzim sve dok se ne stvori krajnji produkt. Ograničeno kretanje reaktanata smanjuje mogućnost njihovog gubitka zbog difuzije a također se smanjuje i mogućnost da reaktanti eventualno daju neke sporedne reakcije.
3. U kompleksu svi su enzimi prisutni u dovoljnoj količini.
4. Regulacija je efikasnija budući da su i regulacijski enzimi – kinaza i fosfataza – djelovi kompleksa;

Zadatak 2.

Pacijenti u šoku često padaju u laktičnu acidozu zbog nedostatka kisika. Zbog čega nedostatak molekula O_2 vodi do povećanih koncentracija mliječne kiseline?

Jedan način da se umanja šok je da se pacijentima injektira dikloroacetat koji inhibira kinazu koja je u kompleksu piruvat dehidrogenaze. Koji je biokemijski razlog ovakvog liječenja?

Rješenje zadatka 2.

Smanjenje O_2 dovodi do povećane anaerobne glikolize kako bi se dobila energija, ali to dovodi do stvaranja velike količine laktata.

U šoku, injektira se inhibitor kinaze piruvat dehidrogenaze kako bi se osiguralo da piruvat dehidrogenaza maksimalno radi, odnosno da se što manje piruvata anaerobno metabolizira.

Zadatak 3.

Usporedite regulacije piruvat dehidrogenaze u mišiću i jetrima.

Rješenje zadatka 3.

U mišiću acetil CoA koji nastaje kompleksom piruvat dehidrogenaze koristi se za dobivanje energije. Isto tako, signali koji ukazuju na energetski bogato stanje (visoki omjeri $[ATP]/[ADP]$ i $[NADPH]/[NAD^+]$) inhibiraju kompleks dok recipročno stanje stimulira kompleks. Kalcij kao signal za kontrakciju mišića (i prema tome potrebe za energijom) također stimulira enzimski kompleks.

U jetrima, acetil-CoA koji nastaje iz piruvata koristi se za potrebe biosintetskih reakcija, kao što je to npr. sinteza masnih kiselina. Inzulin, hormon koji ukazuje na stanje sitosti, stimulira kompleks piruvat dehidrogenaze tako što aktivira fosfatazu.

Zadatak 4.

- a) Predvidite efekt mutacije koja pojačava aktivnost kinaze koja je povezana s kompleksom piruvat dehidrogenaze.
- b) Predvidite efekt mutacije koja smanjuje aktivnost fosfataze koja je vezana za kompleks piruvat dehidrogenaze.

Rješenje zadatka 4.

- a) Povećana aktivnost kinaze smanjit će aktivnost PDH kompleksa budući da fosforilacija inhibira enzimsku aktivnost kompleksa.

- b) Fosfataza aktivira kompleks time što hidrolizira fosforilnu skupinu. Ako je aktivnost fosfataze smanjena, aktivnost cjelokupnog PDH kompleksa također će se smanjiti jer će kinaza fosforilirati kompleks.

Zadatak 5.

Koji se koenzimi nalaze u kompleksu piruvat dehidrogenaze i koja je njihova uloga?

Rješenje zadatka 5.

U kompleksu piruvat dehidrogenaze nalaze se: tiamin pirofosfat (TPP), lipoična kiselina kao lipoamid, koenzim A (Co A), flavinadenin dinukleotid (FAD) i nikotinadenin dinukleotid (NAD⁺).

TPP ima ulogu u reakciji dekarboksilacije piruvata. Lipoična kiselina (kao lipoamid) prenosi acetilnu skupinu. Koenzim A prihvaća acetilnu skupinu s lipoične kiseline kako bi nastao acetil-CoA. FAD prihvaća elektrone i vodikove ione kada se reducira oksidirana lipoična kiselina. NAD⁺ prihvaća elektrone i protone s FADH₂.

Zadatak 6.

Razgradnjom masnih kiselina uvelike se povećava koncentracija acetil-CoA u stanici.

Koji utjecaj će imati razgradnja masnih kiselina na aktivnost kompleksa piruvat dehidrogenaze?

Kako će se razgradnja masnih kiselina odraziti na proces glikolize?

Rješenje zadatka 6.

Acetil-CoA inhibira kompleks piruvat dehidrogenaze.
Glikoliza (razgradnja glukoze do piruvata) biti će usporena jer će se acetil-CoA dobiti iz alternativnog (drugog) izvora.

17

Zadatak 7.

Navedite pet enzima (uključujući i regulatorne enzime) koji izgrađuju kompleks piruvat dehidrogenaze. Koje reakcije kataliziraju ovi enzimi?

18

Rješenje zadatka 7.

Piruvat dehidrogenaza katalizira dekarboksilaciju piruvata i nastanak acetil-lipoamida.

Dihidrolipoil transacetilaza katalizira sintezu acetil-CoA.

Dihidrolipoil dehidrogenaza katalizira redukciju oksidirane lipoične kiseline.

Kinaza koja je pridružena kompleksu fosforilira kompleks i time ga inaktivira, a fosfataza defosforilira kompleks i time ga aktivira.

Zadatak 8.

Koja je razlika između katalitičkih i stehiometrijskih koenzima u kompleksu piruvat dehidrogenaze?

Rješenje zadatka 8.

Katalitički koenzimi (TPP, lipoična kiselina i FAD) modificiraju se ali se i regeneriraju u svakom reakcijskom ciklusu. Prema tome oni mogu sudjelovati u pretvorbi mnogih molekula piruvata.

Stehiometrijski koenzimi (koenzim A i NAD⁺) koriste se i mijenjaju u svakoj reakciji, a dio su i produkata cjelokupne reakcije.