



Eksamen i biokemi - Eksamen i biokemi

---

BSc + MSc Odontologi

07 juni 2017

Planlagt: 09:00 - 13:00

Eksamensnr: 62

Plads: E01-049

Side 1 af 10

## Oral biokemi

### Opgave 1

#### a) **Beskriv emaljens kemiske og strukturelle opbygning.**

Emaljens kemiske opbygning består af stofferne Ca,  $PO_4$  samt OH.

Disse stoffer tilsammen udgør det uorganiske materiale som udgør 97 % af emaljen hvor de sidste 3 procent udgøres af organisk materiale og vand. Produktet som stofferne danner er hydroxyapatit som er det uorganiske materiale i emaljen. Molekyleformlen for hydroxyapatit:  $(Ca)^{10}(PO_4)^6(OH)^2$ . emaljen vil blive dannet af de sekretoriske ameloblaster, hvor de vil gå til grunde efter dannelsen af emaljen, og der vil derfor ikke ses nydannelse af emalje, på længere sigt.

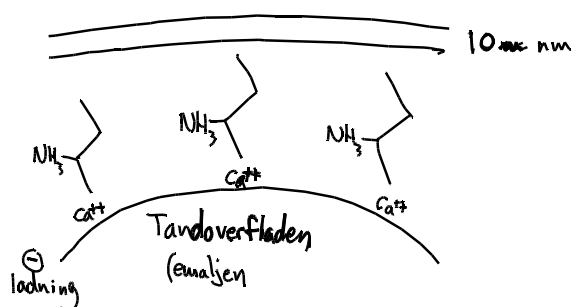
De forskellige krystaller i emaljen indgår i forbindelser med hinanden hvor de forskellige stoffer i hydroxyapatiten sidder sammen i en enhedscelle. En hexagonal struktur i emaljen hvor Ca, fosfat og hydroxygruppen bindes mellem to enhedsceller og udgør derfor en forbindelse mellem to enhedsceller.

Den strukturelle opbygning af emaljen består af prismer og interprismer. De ligger aflejret i forskellige retninger i emaljen. Interprismerne vil ligge perpendikulært i forhold til prismerne, hvor prismerne vil ligge longitudinelt.

#### b) **Redegør for pellikel dannelsen på tænderne og hvordan den veludviklede pellikel er opbygget.**

På den nøgne tandoverflade vil ladningen være negativ. Den negative ladning vil tiltrække de positive calcium ioner de vil belejre tandoverfladen. Grundet de positive ladninger fra calcium vil tandoverfladen nu have en positiv ladning, der vil kunne tiltrække de negativt ladede sidekæder på aminosyrerne som stammer fra spyttet. Spytproteinerne vil binde sig til tandoverfladen og udgøre pellikelen. Spytproteinerne udgøres af prolinrige proteiner, statheriner og histidin, som de initiale proteiner. Derudover ses muciner, lactoferriner, lysozym, peroxidase og amylase.

Den veludviklede pellikel er nu opbygget som følgende:



**c) Redegør for den initiale kolonisering af bakterier på tænderne.**

Bakterier er i starten ikke i direkte kontakt med pellikelen. Der vil være et mellemrum på cirka 10 nm, men bakterierne vil derved kunne danne en polymer-bro til at danne kontakt med pellikelen på tandoverfladen. Bakterierne vil kunne "æde" sig vej ind til tandoverfladen ved at nedbryde de forskellige proteiner der danner pellikelen, samtidig med at hydrofobe interaktioner også er med til at tiltrække dem og holde dem på plads. Det vigtigste protein her er sialoprotein. Bakterierne har neuroaminidaser der vil nedbryde sialoproteiner til sialosyre, endvidere vil glukosidaser nedbryde sialosyre som vil kunne indgå i bakteriernes metabolisme. På denne måde vil de lidt efter lidt fjerne spytproteinerne der er på tandoverfladen i form af pellikelen, og nå ind til tandoverfladen. Derfra vil andre bakterier udnytte co-aggregation til de bakterier der allerede har koloniseret tandoverfladen og derved kunne bruge hinanden til forskellige ting. Dette ses fx for at der ikke skal komme en for lav pH i biofilmen vil *Veillonella* omdanne mælkesyre som er dannet ved anaerob glykolyse af fx *Streptococcus mutans*. Derved vil bakterierne ikke dræbe sig selv da pH værdien ikke vil blive for lav.

**d) Redegør for sukroses rolle i udviklingen af den ekstracellulære matrix i biofilmen.**

Biofilmen som der dannes ud fra sucrose vil have en anden sammensætning end ved fx glukose. Ved en biofilm som udelukkende får glukose vil der ses en svag og tynd biofilm, hvor der ved indtagelse af sucrose ses en stærkere gelatinøs biofilm. Dette skyldes at sucrose har en energirig binding som kan medvirke til dannelsen af de ekstracellulære matrix proteiner. Disse proteiner (dextraner, levaner, glukaner) er med til at danne denne stærkere ekstracellulære matrix. De forskellige proteiner vil have forskellen i deres bindinger,  $\alpha 1,6$  – bindinger

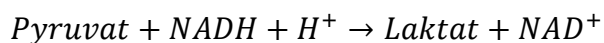
$\alpha 1,4$  – bindinger

$\beta 2,6$  – bindinger

Dextraner vil virke som et "skelet" i den ekstracellulære matrix hvorimod levaner og glukaner kan spaltes og bruges til næring for bakterierne under tider hvor der er brug for det. Sucrose vil udvikle biofilmens ekstracellulære matrix så meget at den vil kunne fungere som gelfilter og som ionbytter. Der vil derfor skabes et miljø på tandoverfladen som er uafhængigt af resten af mundhulen. Der vil i de dybeste lag være anaerobe forhold, og der vil yderst af biofilmen være aerobe forhold, da det er i kontakt ilt fra ydre forhold.

**Opgave 2****a) Redegør for hvordan eks. Streptococcus mutans metaboliserer glucose under anaerobe forhold.**

Ved anaerobe forhold vil streptococcus mutans metabolisere glukose gennem glykolysen hvorved slutproduktet er pyruvat. Pyruvat vil så undergå den anaerobe metabolisme, så der dannes laktat. Enzymet der katalyserer processen kaldes laktat dehydrogenase. Dette ses ved høj sukker koncentration.



Ved lav sukkerkoncentration vil pyruvat format lyasen medføre at glukose bliver nedbrudt til svagere syre som medfører at mindre pH fald end laktat. Disse syrer er smørsyre, og myresyre, samt dannelsen af et ildelugtende stof petruscin.

**b) Redegør for hvordan emalje reagerer ved pH over, på og under det kritiske niveau for emalje.**

Den kritiske pH angiver den pH hvor opløsningsproduktet og ionproduktet er i en mættet opløsning. Der vil derved ikke gå nogle mineraler på tandoverfladen i opløsning for at udligne en forskel. Dette ses ved en pH under den kritiske pH. Ved en lav pH vil der være mange  $\text{H}^+$  ioner til stede i opløsningen. Disse  $\text{H}^+$  ioner vil indgå forbindelser med hydroxylgruppen i hydroxyapatiten og de vil tilsammen danne vand. Dette medfører en ustabilitet i hydroxyapatiten, og der vil derfor ske en demineralisering som ses ved caries angreb, man vil miste tandsubstans.

Ved en pH over den kritiske pH vil opløsningen være overmættet som vil medføre en remineralisering, der vil dog kun mineraler ved den allerede tabte tandsubstans, og man vil derfor ikke have mere emalje end man havde til at starte med.

Ionproduktet > opløselighedsproduktet = overmættet, (remineralisering)

Ionproduktet = opløselighedsproduktet, = mættet

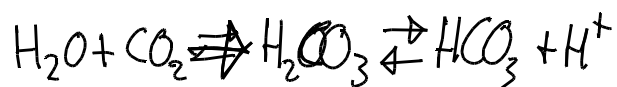
Ionproduktet < opløselighedsproduktet = undermættet (demineralisering)

derudover vil fosfat også spille en rolle, da pH – værdien afgør i hvilken form vi finder fosfat. Den eneste form som er til gavn for hydroxyapatiten er  $\text{PO}_4$ , der ses ved forskellige pH andre former for fosfat som spiller en rolle i udfældningsdelen af

mineralet. Fx kunne fosfat der indgår i hydroxyapatiten blive udfældet som dihydrogenfosfat hvilket ville medføre tab af hydroxyapatit.

**c) Beskriv bicarbonat buffer systemets effekt overfor pH-fald i biofilmen.**

Bicarbonat bufferen er den mest effektive buffer. ved en lav pH vil der som sagt være en masse frie  $H^+$  ioner. Bicarbonat bufferne vil således hjælpe med at binde disse  $H^+$  ioner og derved mindske pH. Man tager derved frie  $H^+$  ioner ud af "ligningen", hvilket medfører pH stiger. Bufferen afhænger af om spytksekretionen er stimuleret. Ved stimulering er buffer kapaciteten 50 %



**d) Beskriv fluorids mulige indflydelse på biofilmen.**

Nogle ioner vil tilbageholdes grundet biofilmens ekstracellulære matrix. Hvis fluorid tilbageholdes kan stoffet indgå i forbindelser med magnesium og danne MgF. Magnesium er vigtigt i bakteriernes processer, og ved at fjerne magnesium fra bakterien vil det sænke bakterien overlevelseschancer. Fluor menes også generelt at have anti-mikrobielle egenskaber. Dette kan fx vises ved at fluor hæmmer enolasen, som er et enzym i glykolysen. Derved kan fluor stoppe glykolysen i de forskellige bakterier. Fluor kan derudover hæmme ATP-ase som har til formål at pumpe  $H^+$  ioner ud. Hæmmes denne vil det danne et miljø som bakterierne ikke vil kunne klare, og vil resultere i deres død.

**e) Beskriv fluorids indflydelse på opløseligheden af emalje.**

Hydroxyapatiten som er blevet opløst og erstattet af fluorapatit, vil have en lavere kritisk pH. Dette skyldes at fluorapatit er tungere opløseligt end hydroxyapatit, hvorved den kritiske pH sænkes. Ved hydroxyapatit vil den kritiske pH gennemsnitligt ligge omkring de 5,5, mens den ved fluorapatit kan sænkes helt ned til 4,5 dette er en betydelig forskel og vil sænke caries aktiviteten med så lav en kritisk pH.

**Almen biokemi****Opgave 3****Triacylglycerol**

- a) **Gør rede for fordøjelsen af triacylglycerol i tarmkanalen, idet følgende delelementer skal medtages:**

Ved indtagelse af fedt vil fordøjelsesenzymerne pancreas lipase og colipasen komme i spil. Pancreas lipasen vil spalte triacylglycerol (TAG) til monoacylglycerol (MAG) og to frie fedtsyrer. Disse komponenter vil nu blive emulgeret ved hjælp af galdesalte som vil binde til stofferne. Ved binding af galdesalte til disse komponenter, vil de binde til den i forvejen dannede amfifile struktur hvor det hydrofobe ligger inderst og det hydrofile ligger yderst. Galdesaltene betydning for fordøjelsen gør at komponenterne i emulsionsdråben kan spaltes og galdesaltene vil ligge yderst i emulsionsdråben. Pancreaslipasen kan dog ikke påbegynde sin nedbrydning af emulsionsdråben, hvilket bringer colipasen til at hjælpe pancreaslipasen med at binde sig til galdesaltene. Komponenterne består af kolesterolrest, phospholipider, vitamin fra kosten, fedtsyrer og MAG, samtidig med at diameteren på den emulsionsdråben vil blive mindre. Ved en fuldt fordøjet micelle vil den have en mindre diameter end emulsionsdråben og den vil ikke have noget i midten. Blandingsmicellen vil blive optaget af enterocytterne vha. faciliteret diffusion.

- b) **Gør rede for tarmcellernes genopbygning af triacylglycerol, herunder:**

i enterocytten vil TAG dannes ud fra 2 frie fedtsyrer og MAG. Dog skal fedtsyrerne aktiveres først vha. acyl-CoA syntetase som forbruger ATP, der ved to energirige fosfatbindinger brydes, dvs. at det svarer til at der bruges 2 ATP.

I enterocytterne vil TAG blive gendannet først bliver MAG til DAG som derefter bliver til TAG. Lipoproteinet som optager TAG er chylomikroner, som efter at have optaget dem, frigiver dem til lymfen og de ryger derfra videre til blodet.

c) **Gør rede for hvordan triacylglycerolrige lipoproteiners fedtsyrer ender som triacylglycerol i fedtvæv. Herunder:**

Chylomikronerne vil afgive deres fedtsyrer til fedtvævet vha. VLDL som består af cholesterolestre og frie fedtsyrer samt membranproteinet apo-b100. de frie fedtsyrer skal have en glycerol for at kunne danne TAG i fedtvævet. Til at nedbryde lipoproteinerne har vi lipoproteinlipasen (LPL). LPL vil interagere med lipoproteiner vha. apoC-2. Dette vil give os 2 frie fedtsyrer samt MAG. MAG vil nedbrydes vha MAG-lipasen. Glycerolen fra det førnævnte fordøjelsesproces vil blive phosphoryleret grundet den glykolytiske intermediære Dihydroxyacetone-P (DHAP). Dette er insulin afhængig og da insulin stimulerer glykolysen. Pga. glukose indtræder i cellerne vil DHAP blive dannet som et trin i glykolysen. Glycerol vil phosphoryleres til glycerol-3-phosphat via DHAP, og vil slut danne phosphatidat. Det medfører at der dannes TAG i fedtvævene.

**Opgave 4****Pyruvat**

Pyruvat er en central metabolit i stofskiftet og kan dannes fra eller omdannes til mange forskellige forbindelser. Blandt de vigtigste er følgende 5 processer, hvoraf de 3 første er irreversible under fysiologiske forhold:

- (1) Phosphoenolpyruvat + ADP → Pyruvat + ATP
- (2) Pyruvat + ATP + CO<sub>2</sub> → Oxaloacetat + ADP + P<sub>i</sub>
- (3) Pyruvat + NAD<sup>+</sup> + CoA → AcetylCoA + NADH + CO<sub>2</sub>
- (4) Pyruvat + NADH + H<sup>+</sup> ⇌ Lactat + NAD<sup>+</sup>
- (5) Pyruvat + glutamat ⇌ Alanin + alfa-ketoglutarat

a) Angiv enzymnavn for de 5 processer.

- 1) pyruvat kinase
- 2) pyruvat carboxylase
- 3) pyruvat dehydrogenase
- 4) laktat dehydrogenase
- 5) alanin aminotransferase (ALAT)



**b) Angiv prosthetiske grupper (coenzymer, der ikke deltager i reaktionsligningen) for processerne (2), (3) og (5).**

Proces 2 har biotin som den prosthetiske gruppe

Proces 3 har TPP, Lipoat og FAD som prosthetiske grupper.

Proces 5 har pyridoxalphosphat som den prosthetiske gruppe.

**c) a) Angiv hvilke af ovenstående processer, der foregår i leveren efter 3 dages faste og forklar formålet hermed.**

Efter 3 dages faste vil glycogen lageret i leveren være opbrugt, mens beta-oxidationen og gluconeogenesis vil være i gang. Proces 2, 3, og 4 vil foregå.

Proces 2 vil være i gang da oxaloacetat kan omdannes til PEP og derved indgå i gluconeogenesisen.

Proces 3 vil kunne indgå forskellige steder. Den kan følge TCA-cyklus til oxaloacetat og gå samme vej som proces 2, men der vil overvejende dannes ketonstoffer ud fra acetyl-CoA som vil erstatte hjernens glukoseforbrug ved længerevarende faste.

I Proces 4, vil pyruvat der indgår dannes til oxaloacetat og igen indgå i gluconeogenesisen.

**b) Angiv også hvilke processer, der er hæmmet i lever under faste og giv en forklaring på hensigtsmæssigheden af dette.**

Glykolysen vil være hæmmet, da den ikke kan køre samtidig med gluconeogenesisen. Dette er også hensigtsmæssigt da vi ikke skal nedbryde nyligt dannet glukose, da det skal videre til andre væv, og ikke forblive i leveren. Dvs. følgende processer er hæmmet:

Phosphoenolpyruvat + ADP → Pyruvat + ATP, da denne er en glykolytisk proces.

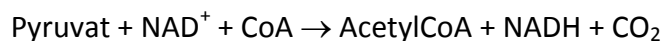
Derudover vil fedtsyresyntese være hæmmet da vi ikke har et overskud af energi som vi skal leje. Fedtsyresyntesen er hensigtsmæssigt fordi den forbruger ATP, og denne ATP har vi ikke råd til at lade gå til spilde ved længerevarende faste, derudover kører beta-oxidationen også og det vil være u hensigtsmæssigt at både beta-oxidation og fedtsyresyntese kører samtidigt. Dvs. følgende processer er hæmmet:

Pyruvat +  $\text{NAD}^+$  + CoA  $\rightarrow$  AcetylCoA + NADH +  $\text{CO}_2$ , grundet beta-oxidationen allerede fremskaffer en masse acetyl-CoA er denne proces ikke nødvendig og vil være hæmmet.

**d) Angiv ligeledes hvilke af de 5 processer, der er vigtige for ATP-forsyningen i a) hjerne og b) erythrocytter.**

Under føde er processerne der kan producere pyruvat vigtige for ATP-forsyningen i hjernen. Dvs. processerne 1, 2 og 3 er nødvendige da pyruvat bliver dannet i proces 1, proces 2 er produktet oxaloacetat der indgår i TCA-cyklus sammen med produktet fra proces 3 nemlig acetyl-CoA der tilsammen kan danne citrat vha. citrat-syntesen.

Under faste er de processer der kan skabe pyruvat hensigtsmæssige, men den primære proces som er vigtigt for ATP-forsyningen i hjernen er:



Dette skyldes at man ud fra acetyl-CoA kan fremskaffe ketonstoffer. Fra Acetyl-CoA til acetoacetyl-CoA til HMG-CoA vha HMG-CoA syntethasen, som vil gå videre til acetoacetate vha. HMG-dehydrogenasen. Acetoacetat vil kunne gå to veje, der vil forekomme spontant og danne  $\text{CO}_2$  og vil have en syrlig frugt duft ved udånding (ses fx ved diabetes patienter). B-hydroxy-butarate er det 3. Ketonstof der ved længerevarende faste vil kunne dække ATP-forsyningen i hjernen.

Erythrocytterne har ingen mitokondrier til at kunne udnytte pyruvat i samme omfang som andre celler, altså vha. TCA-cyklus. Derfor kan erythrocytter kun omdanne pyruvat til laktat vha. laktat dehydrogenasen altså proces nummer 4, som er den der dækker ATP-forsyningen i erythrocytter. Dette gælder både under fasten og under føden.