



Eksamen i biokemi (SODB16042E)

34

08 juni 2018

Planlagt: 14:00 - 18:00

Eksamensnr: 34

Plads: E08-043

Side 1 af 8

Opgave 1

1. Gør rede for de to processer: glycolyse og gluconeogenese. Der skal ikke gås i detaljer med andre processer end de trin, som er forskellige for de to omsætningsveje.

Glykolyse og glukoneogenesen er to modsatrettede processer. Glykolyse er en proces hvor 1 glukose molekyle omdannes til 2 pyruvat molekyler, og hvor der samtidig høstes 2 ATP og 2 NADH. Mens glukoneogenese er en proces, som finder sted under faste, dvs. ved glukose mangel, hvor man ud fra glukogenesubstrater (herunder laktat, glycerol og glukogene-aminosyrer) danner glukose. Disse to reaktioner er meget megen til hinanden, og til en vis grad også modsatrettede. Dog er nogle processerne irreversible, hvilket der vil blive fokuseret på i det følgende afsnit.

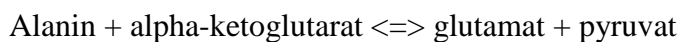
Omdannelsen af fructose-6-P til fructose-1,6-di-P, er blandt et af de irreversible processer, og som derfor varetages af to forskellige enzymer. F-6-P bliver fosforyleret under ATP forbrug, ved glykolyse, til F-1,6-di-P, hvilket desuden bliver katalyseret af enzymet phosphofruktokinasen. Omvendt bliver F-1,6-di-P dephosphoryleret til F-6-P af enzymet fructose-1,6-diphosphatase ved gluconeogenesen.

En anden irreversibel reaktion er omdannelsen af pyruvat til phosphoenolpyruvat (PEP). Under gluconeogenesen skal pyruvat derfor først carboxyleres til oxaloacetat, under forbrug af ATP, for derved at kunne blive omdannet til PEP ved en decarboxylering og en GTP forbrug. Det skal siges, at der under denne omdannelse af pyruvat til PEP, ved den beskrevne reaktion, forbruges to ATP i alt.

2. Opskriv reaktionsligning, enzymnavn og prosthetisk gruppe for omdannelsen af alanin til en intermediær i gluconeogenesen.

Alanin kan ved en transamineringsreaktion omdannes til sin korresponderende alpha-ketosyre, pyruvat, hvilket er en essentiel intermediær substrat i gluconeogenesen.

Transamineringsreaktionen er som følgende:



Det skal siges, at denne reaktion bliver katalyseret af alanin transaminase, som skal bruge pyridoxal-phosphat som prosthetisk gruppe.

3. Opskriv reaktionligning og enzymnavne for de to reaktioner, der omdanner glycerol til en intermediær i gluconeogenesisen.

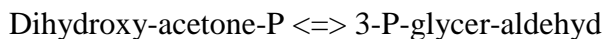
Glycerol kan i leverceller bliver phosphoryleret til glycerol-3-P vha. glycerol kinasen. Reaktionsligningen ser således ud:



Hernæst vil glycerol-3-P kunne blive oxideret til dihydroxy-acetone-phosphat under samtidig reducering af NAD⁺ til NADH vha. glycerolphosphate dehydrogenase:



Til sidst kan dihydroxy-acetone-phosphat isomeriseres til 3-P-glycer-aldehyd, hvilket er et intermediær substrat i gluconeogenesisen. Denne reaktion bliver katalyseret af triosephosphat isomerase:



4. Angiv hvorfra leveren får hovedparten af sin alanin, laktat og glycerol.

Alanin og glutamin er de to aminosyre, som de fleste celler (herunder muskelvæv), udskiller når de gerne vil af med aminogruppen under deres proteolytiske metabolisme. Eftersom ureacyklusen primært foregår i leverens mitokondriematrix, og de ikke selv kan danne urea ud fra de nitrogenholdige forbindelser fra aminosyre nedbrydelsen, vil alanin ender i hepatocytterne. Laktat derimod fås primært af de celler som laver anaerob metabolisme, dvs. erythrocytter da disse ikke har mitokondrier. Det skal siges, at laktat også kan dannes af muskelcellerne (myocytterne) under hård fysisk arbejde, hvor ilt koncentrationen kan falde. Glycerol derimod bliver primært oplagret i selve hepatocytterne da det kun er disse celler der er i stand til at phosphorylere dem til glycerol-3-P og derved tilbageholde dem i cellen. Dette skyldes, som sagt, at det kun er levercellerne som har enzymet glycerol kinasen. Glycerol optages via chylomicron resterne, som bliver optaget fra blodet efter indtag af et fedtholdigt måltid.

5. Angiv hvorfra leveren får sin ATP fra til gluconeogenesisen.

Leveren får dækket sit ATP behov til gluconeogenesisen, under faste, ved at lave beta-oxidation, dvs. oxidering af frie fedtsyrer. Ved beta-oxidation vil den nemlig ende med slutproduktet, acetyl-CoA, hvorved den kan føres ind i citronsyreacyklusen og derved høste energi i form af både GTP, NADH og FADH. Ud fra disse to nævnte coenzymmer kan der desuden høstes ATP via elektrontransportkæden.

Opgave 2

1. Angiv hvilket stivelsesnedbrydende enzym, som udskilles fra pancreas, herunder hvilke nedbrydningsprodukter dette enzym danner ved nedbrydning af forgrenet stivelse (amylopectin).

Pancreas-amylase udskilles via pancreas saften til duodenum, hvor dens funktion er at spalte alpha-1-4-glykosid-bindingerne mellem suktermolekylerne. Det skal sige, at dette enzym ikke kan spalte endestillede glykosidbindinger samt alpha-1-6-glykosid-bindinger (denne type binding fører til forgrening af stivelsesmolekylet), og derfor vil der ved endt hydrolyse dannes maltose, maltotriose samt grænsedextriner.

2. Angiv ligningen for hydrolyse af triacylglycerol med pancreaslipasen.

I tarmlumen sker der en delvis hydrolyse af triacylglycerol molekylerne pga. af de forhold der gør sig gældende i dette sted, og der vil derfor dannes to frie fedtsyrer (FFA) samt en monoacylglycerol molekyle. Ligningen ser således ud:

$\text{TAG} \rightarrow 2 \text{ FFA} + \text{MAG}$

3. Angiv navnet på mindst 3 proteinnedbrydende enzymer fra pancreas og deres proenzymer

Pancreassaften indeholder 4 peptidaser i alt, hvor 3 af dem af endopeptidaser: trypsin, chymotrypsin, elastase, mens den sidste er en exopeptidase nemlig carboxypeptidase. Alle disse nævnte enzymer forefindes til at starte med på inaktiv form. Deres respektive proenzymer er derfor blot præfikset pro- efterfulgt af enzymnavnet, altså protrypsin, prochymotrypsin, proelstase og procaboxypeptidase.

4. Forklar hvad der sker, når proenzymer (zymogener) fra pancreas omdannes til aktive enzymer, herunder hvorledes denne aktivering sættes i gang, når proenzymene udskilles i tarmlumen.

Protrypsin vil blive aktiveret til pepsin vha. enzymet enteropeptidase, som befinder sig på membranen af enterocytterne, og derved vil der dannes en kaskade hvorved pepsin aktiverer de resterende proenzymer i pancreassaften til deres aktive form. Når disse enzymer bliver aktiveret vil disse påbegynder nedbrydelsen af peptidkæderne, ved at hydrolysere peptidbindingerne, til mindre peptidkæder og til sidst opnås aminosyrer som dernæst kan blive optaget af enterocytterne ved hjælp af en Na^+ -cotransporter.

5. Forklar forskellen på en endopeptidase og en exopeptidase og angiv hvilke af ovenstående enzymer der tilhører disse to kategorier.

Som beskrevet i del spg. 3 så består pancreassaften af 3 endopeptidaser nemlig: trypsin, chymotrypsin, elastase, samt en exopeptidase kaldet carboxypeptidase. Endopeptidaserne rolle er at kløve peptidbindinger, som ligger mellem aminosyrerne inde i peptidkæden. Det skal siges, at disse nævnte endopeptidaser har hver især nogen præferencer ift. at kløve peptidbindingerne mellem de forskellige aminosyrer. Exopeptidasen, carboxypeptidase, har derimod den rolle at kløve aminosyrer, som ligger i den hhv. C- og N-terminale ende i peptidkæden.

Opgave 3

1. Beskriv emaljens ultrastrukturelle opbygning og herunder dens kemiske sammensætning.

Emaljen er det hårdeste væv i kroppen, idet den primært består af uorganiske forbindelse. Den består 96 % af uorganiske forbindelser i form af HAP krystaller, 3 % vand og 1 % emaljeproteiner (herunder amelogeniner og non-amelogeniner). Emaljen består teoretisk af nogen krystallinske enhedsceller kaldet hydroxyapatit krystaller (HAP) som har følgende formel: $(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ Dog ligger disse ikke i praktisk som enkelte krystaller, men derimod større ansamlinger som til sammen udgør en hexagonal struktur. Mikroskopisk ligger disse struktur desuden aflejret i såkaldte rod og interrods. Denne aflejring skyldes nemlig ameloblasternes dannelse af emalje under amelogenesis nemlig pga. Tomes' process. Det skal siges, at der udover HAP også kan forekomme andre krystaller fx i form af FHAP krystaller hvorved nogle af hydroxygrupperne er blevet substitueret med fluorid i sted. Det er værd at nævne, at grundet HAP afljering i de såkaldte rod og interrod, så vil der ud i periferien på tand være nogle større porøsiteter hvilket medfører bl.a. at emaljen nemmer vil blive opløst/demineraliseret disse steder.

2. Beskriv hvad pelliklen er og hvorledes den dannes på tandens rensede emaljeoverflade når denne eksponeres til spyt i det orale miljø.

Pelliklen er en geletinøs, tynd, bakteriefri struktur, som dannes straks efter en tandbørstning. Efter en mekanisk tandrensning med tandbørste er overfladen af emaljen blotlagt. Overfladen af emaljen vil have en negativ nettoladning grundet ladningen af phosphat ioner som dominerer overfladen af emaljen. Denne negative ladning vil tiltrække calcium ionerne fra spyttet, hvorved der dannes et phosphat-calcium lag, også kaldet hydrationslaget. Dette vil ændre overfladeladningen fra en negativ netto ladning til en positiv netto ladning. Herefter vil en række spytproteiner bliver tiltrukket af den positive ladningen. I den tidlige pellikel dannelse forekommer primært de negative sure prolinrige proteiner samt statheriner fra spyttet. Disse prolinrige proteiner sørger for at tiltrækker flere glykoproteiner fra spyttet vha. intermolekylære kræfter såsom hydrofobe interaktioner samt Van der Waalske kræfter. Senere vil der også forekommer en række

antimikrobielle komponenter i pelliclen såsom laktoferiner (binder jern og hæmmer derved bakteriers metabolisme og derved kolonisering), lysozymer (nedbryder cellevæggen af bakterier), sIgA (bakterieaggluterende effekt) osv. Det skal desuden siges, at pelliclen kan opnå en tykkelse på 10 mikrometer.

3. Redegør for hvordan sucrose har en særlig effekt på udviklingen af biofilmens ekstracellulære matrix og angiv hvilke konsekvenser det medfører for biofilm dannelsen, hvis man udskifter en glucose-rig kost med en sucrose-rig kost.

Sucrose er en særlig cariogent disaccharid ift. fx maltose og laktose, i det den indeholder en særlig energirig glykosidbinding mellem fruktose og glukose (=en meget negativ delta G-værdi). Bakterier kan nemlig høste én ATP ved brydning af denne energirige binding, og anvende dette til at veludvikle deres ekstracellulære matrix (ECM) ved producering af glukaner og fruktaner. Bakterierne indeholder nemlig en række enzymer som gør dem i stand til at lave polymere kæder af hhv. glukose og fruktose bl.a. glycosyl transferase. Af glukaner, som de kan lave, kan nævnes dextran og mutan, og af fruktaner kan nævnes levan. Dextraner fungerer som et stillads samt gøre massen mere homogen og tyk, mens mutan bl.a. medfører, at massen bliver mere klæbrig. Levan fungerer derimod som energi reserve lager for bakterierne, som de kan anvende under værtens faste. Disse nævnte komponenter er til sammen med til at medføre, at biofilmen bliver tyk, homogen, klæbrig og derved impermeabel for små ladet molekyler, som følge af gelfiltrations og ionbyttereffekten. Derved kan molekyler såsom ilt ikke trænge igennem biofilmen, hvilket medfører anaerob metabolisme hos bakterierne og derved dannelse af organiske syre som fx laktat, og da bicarbonat heller ikke kan trænge igennem biofilmen, vil pH kunne falde til under kritisk pH og derved føre til demineralisering af emaljen.

Opgave 4

1. Redegør for hvad der forstås under begrebet kritisk pH mht. Hydroxylapatit i spyt og angiv hvilken værdi der omtrent er gennemsnitsværdi for spyt hos mennesker.

Ved den kritisk pH for hydroxylapatit i spyt forstås, den pH, hvor spyt lige akkurat er mættet i forhold til de respektive ioner i hydroxylapatit molekylet, altså den pH værdi hvorved ionproduktet er lig med opløselighedsproduktet. Gennemsnitsværdien for den kritiske pH hos et menneske er ca. på 5,5. Det skal dog siges, at denne pH værdi kan godt variere idet koncentration af calcium og fosfat i spytet kan afvigere blandt de enkelte individer, og dette har en direkte betydning på størrelsen af den kritiske pH værdi i spytet.

2. Beskriv hvorfor denne kritiske pH værdi (mht. Hydroxylapatit) i spyt ikke er en konstant værdi, men varierer blandt personer og angiv herunder hvilke af spyttets uorganiske bestanddele der har indflydelse på værdiens størrelse.

Som sagt så kan den kritiske pH værdi variere fra individ til individ idet koncentrationen af de respektive ioner i HAP kan afvige. Jo større en koncentration af hhv. calcium, fosfat og hydroxy ioner man har i spyttet desto større ionprodukt vil man også have (og dermed også en lavere kritisk pH-værdi). Grunden til, at den kritiske pH værdi falder i takt med at ionproduktet stiger, som følge af en større koncentration af de respektive ioner, skyldes, at der skal en større syre koncentration til før ionproduktet falder til under opløselighedsprodukt værdien. En syre eksponering vil nemlig mindske ionproduktet idet en syre eksponering fører til øget H^+ ioner, som derved kan gå i forbindelse med hydroxy-ionerne fra spyttet og danne vand. Derudover kan H^+ ioner også reagere med fosfat ionerne i spyttet, hvilket alt sammen vil resultere i en formindskelse af ionproduktet. Man kan derfor sige, at jo større koncentrationen af de respektive ioner af hydroxyapatit, man har i spyttet, jo større vil ionproduktet blive og tilmed vil den kritisk pH værdi falde som konsekvens af dette, idet der skal en større indgreb i ligevægten før ionprodukt falder helt ned til opløselighedsproduktet(=konstantværdi).

3. Angiv om den gennemsnitlige kritiske pH værdi for Hydroxylapatit er højere, lig med eller lavere i plakvæsken sammenholdt med gennemsnitsværdien for menneskespyt og beskriv kort hvilke konsekvenser det kan have i forhold til risiko for demineralisering og mulighed for remineralisering af den underliggende emalje ved syredannelse i plakken.

Grundet ionbyttereffekten vil koncentrationen af hhv. calcium og fosfat være større i plakvæsken idet disse ioner vil blive ophobet, som følge af den impermeable/lukket biofilm. Som konsekvens af dette vil ionproduktet altså være større i plakvæsken end spyttet, og derfor vil den kritiske pH værdi dermed også være lavere i plakvæsken (årsagen til dette er forklaret under forrige del spørgsmål). Da den kritiske pH-værdi i plakvæsken er lavere end spyttet betyder dette, at der skal en større syre eksponering til, før ionproduktet falder under opløselighedsproduktet og der dermed sker demineralisering. Og omvendt, skal der ikke så stor en pH forøgelse (baseudskillelse) til før pH overstiger den kritiske pH-værdi, og ionproduktet derved igen stiger over opløselighedsproduktet og der derved sker remineralisering. Dette kan umiddelbart lyde som en positiv ting, dog skal man være opmærksom på, at i biofilmen er forholdene uforstyrret, forstået på den måde, at der fx ikke findes nogen buffersystem der kan "neutralisere" de organiske syre (såsom laktat) som bakterierne producerer under deres anaerobe metabolisme.

