

Eksamen i biokemi - Eksamen i biokemi



BSc + MSc Odontologi

07 juni 2017

Planlagt: 09:00 - 13:00

Eksamensnr: 25

Plads: E01-064

Side 1 af 9

Oral biokjemi

Oppgave 1

a) **Emaljen oppbygging**

Emaljen består av 96% uorganisk materiale og 4% organisk materiale og vatn. Emaljen er det hardeste vevet i kroppen, tross dette kan den oppløses av syreholdige drikkevarer og syre fra bakteriell metabolisme.

Emaljen er oppbygd av prismer og interprismer. De fysiske og kjemiske egenskaper er ens for de to, forskjellen mellom er leiring i emaljen. Emaljeprismene har en hexagonal struktur. Men dog er de ferdig dannede emaljeprismene ikke hexagonale grunnet trykket de utøver på hverandre.

Prismene består av HAP krystaller som har enhetscella som grunnenhet. Enhetscella er et teoretisk begrep, men den brukes i forklaringen av oppbyggingen til emaljen. Enhetscella består av kalsium, fosfat og hydroxylioner i forholdet $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$.

Emaljen består ikke utelukkende av HAP krystaller. Tilstedeværelse av ioner som Mg, carbon og F under tannbildningen kan medvirke til at emaljen også inneholder MHAP(magnesiumhydroxyapatittkrystall), CHAP(carbohydroxyapatittkrystall), FAP(fluorapatittkrystall) og FHAP(fluorhydroxyapatittkrystall). FAP = når alle OH er erstatta av F (ikke sannsynlig). FHAP = når OH delvis er erstatta av F.

HAP krystallene inne i emaljen er orientert langs prismenes longitudinelle akse og starter fra emalje – dentin grensa og slutter ved emaljens overflate. I den ytre del av emaljen er de mer eller mindre tilfeldig organisert, slik at interkrystall - rommene bliver større. Store interkrystallrom gjør at den ytre del av emaljen er porøs og inneholder større mengder luft, vatn og proteiner i forhold til den indre delen som er mer eller mindre regelmessig arrangert. Dette forklarer også hvorfor det lettere oppstår caries lesjoner i den ytre delen av emaljen ift. den indre djupere delen av emaljen.

b) **Pellikel dannelse**

Pellikelen er en beskyttende, tynn, proteinholdig, og bakteriefri struktur som dannes på den nakne emaljeoverflate like etter tannbørsting.

Den nakne emaljeoverflata som består av HAP krystaller som i hovedsak består av Ca^{2+} og PO_4^{3-} ioner – har en negativ nettoladning. Den negative ladningen tiltrekker positivt lada Ca^{2+} ioner fra spyttet. Det dannes et Kalsiumfosfat - kompleks med ei nå positivt lada overflate. Glykoproteiner fra spyttet har ei negativ ladning og tiltrekkes den positivt lada overflata. Det er danna et Calcium – fosfat – glykoprotein – kompleks → pellikelen.

Mange av glykoproteina er prolin - rike glykoprotein. De prolin- rike glykoproteina fremmer adhesjon av andre glykoproteiner. Viktige glykoproteiner som inngår i pellikelen er: muciner, laktoferin, lysozym.

c) Biofilm dannelse

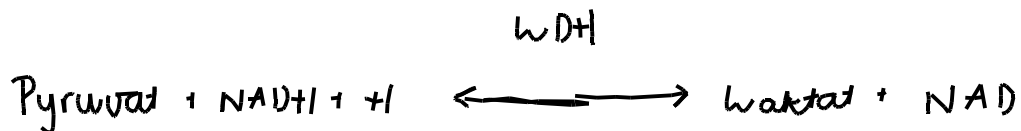
Pellikelen dannes like etter tannbørsting, dette gir tannoverflata ei negativ ladning – grunna spytproteina. Noen av spytproteina binder også til bakterier (muciner – MG2). Fordi både pellikelen og bakteriene har ei negativ ladning vil de frastøtes hverandre. Signalmolekyler sørger for at bakteriene koloniserer. Bakterien koloniserer ved dannelse av polymerbro som er 10nm fra pellikelen. Etter at bindingen er stabilisert begynner bakteriene å utskille enzymer(neuraminidaser) som spalter glykoproteinene fra pellikelen. Bakteriene kan utnytte sialosidegruppe fra sialoproteiner i sin metabolisme – dette gjør at det er mulig å danne biofilm uten tilstedeværelse av f

d) Sukroses rolle i utvikling av biofilm

Plakkens struktur og tjukkhet avhenger av om det er føde tilgjengelig eller ikke. Den avhenger også i stor grad hvilken føde som er tilgjengelig. Personer som spiser proteinholdig og fettrik mat vil få en tynnere, og løsere biofilm enn personer som inntar karbohydratholdig føde. Av karbohydratene er sukrose av spesiell betydning for bakterienes biofilm dannelse. Sukrose består av glukose og fruktose bunde sammen vha. en glykosidbinding. Glykosidbindingen er meget energirik, svarer til 1 ATP. Bakteriene har enzymer som kan nedbryte denne energirike bindingen og utnytte den til dannelse av de ekstracellulære polysakkaridene; dextraner, levaner og mutaner. Dextraner er glukosepolymer og levaner er fruktosepolymer. For å danne sukkerpolymerene har bakteriene enzymer kalla for dextran sukraser og levan sukraser. Polymeriseringsreaksjonen krever energi i form av 1 ATP, og det er her sukroses betydning er. Som nevnt svarer bindingen til nettopp 1 ATP, og det skjer derfor en polymeriseringsreaksjon samtidig ved nedbryting av sukrose. Dextraner er den polymeren det ses mest av i plakken, og de utgjør et stativ som hindrer plakken i å kollapse. Levaner fungere som energidepot. Dannelsen av de ECP gjør biofilmen tjukkere og gir etter hvert høve til anaerobe forhold En plakk der det er tilstedeværelse av karbohydrater, især sukrose, vil være tykk, gelatinøs og impermeabel.

Oppgave 2**a) Metabolisering av glukose under anaerobe forhold**

Glukose kan metaboliseres av for eksempel Streptococcus mutans under anaerobe forhold vha. anaerob glykolyse. Glukose nedbrytes til 2 pyruvat. Pyruvat omdannes deretter til laktat ved følgende reaksjon:



LDH = Laktat dehydrogenase

Dannelse av laktat medfører fall i pH i biofilmen.

b) Kritisk pH

Den kritiske pH verdi er når ei oppløsning er metta ift. Emaljten. Den kritiske pH er gitt til 5.5, men den kan variere fra person til person. Og avhenger av spytkonsentrasjon av Calcium og fosfat. Når det er tale om den kritiske pH sammenlikner vi ionproduktet (I_p) i ei veske – saliva eller plakkvekse i forhold til oppløselighetsproduktet (K_{sp}) i HAP krystallene.

Hvis:

$I_p = K_{sp} \rightarrow$ oppløysinga er metta i forhold til HAP

$I_p < K_{sp} \rightarrow$ Oppløysinga er undermetta ift. HAP krystaller. HAP krystaller vil oppløyses for å mette vesken. Emaljen demineraliseres, frigir mineraler til saliva eller plakkveske.

$I_p > K_{sp} \rightarrow$ Oppløysinga er overmetta ift. HAP krystallene. Det vil skje ei utfelling av mineraler. Emaljen remineraliseres.

Når pH er ved den kritiske pH $\rightarrow IP = K_{sp}$

Når pH er under den kritiske pH $\rightarrow IP < K_{sp} \rightarrow$ Demineralisering

Når pH er over den kritiske pH, $IP > K_{sp} \rightarrow$ Remineralisering

Når pH senkes til under den kritiske pH vil ionproduktet i spyttet være mindre enn oppløselighetsproduktet i HAP krystallene. HAP krystallene vil derfor oppløyses for at ionproduktet skal bli metta ift. HAP krystallene. Det skjer derfor en demineralisering av emaljen ved slike forhold.

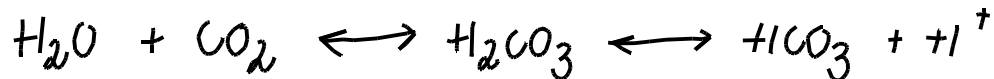
Når pH er over det kritiske pH vil ionproduktet være overmetta ift. HAP og det vil skje ei utfelling av mineraler. Emaljen vil under slike forhold remineralisering.

c) Bikarbonat buffersystemet

Verker best ved pH verdier mellom 6 – 7,5

Ved ustimulerte forhold utgjør den 50% av bufferkapasiteten i spyttet

Ved stimulerede forhold utgjør den 90% av spyttets bufferkapasitet



Under normale forhold vil likevekten forskyves mot venstre fordi vi utånder CO_2 . Når pH faller får vi overskudd av H^+ . H^+ vil da reagere med HCO_3^- og forskyver likevekten ytterligere mot venstre.

Bikarbonat buffersystemet er det viktigste buffersystemet i spyttet. Andre buffersystemer er fosfatbuffersystemet og proteinbuffersystemet.

d) Fluors virkning på biofilmen

Ved nøytral pH og lave sukker konsentrasjoner utnytter bakteriene et transportsystem kalla for Phospho-transferase-systemet (PTS) for å transportere glukose inn i cella. Denne mekanismen avhenger av PEP, som under transport inn i cella phosphorylerer glukose til glukose – 6 – P. Dannelsen av PEP katalyseres av enzymet enolase. Fluor kan binde til og hemme enolase slik at PTS systemet hemmes. Dette hindrer bakteriene i å transportere glukose inn i cella – dermed hindrer det bakterienes metabolisme. Dette kan ha en mulig innflytelse på biofilmen.

e) Fluors innvirkning på oppløseligheten av emaljen

Emaljen består som tidligere nevnt ikke bare HAP krystaller, men kan også inneholde FHAP krystaller. Oppløsning av FHAP krystaller krever et større pH fall enn HAP krystaller.

Fluorid ioner i emaljen er derfor hensiktsmessig med hensyn til oppløsningen av emaljen.

Fluoridioner kan også innleiras i emaljen etter tannbildningen, ved å inngå i remineralisering av emaljen etter demineralisering. Dette skjer fordi det ytterste laget av emaljen inneholder porositeter grunnet den irregulære/tilfeldige leiringen av HAP krystallene. Dette tillater fluoridioner å danne kompleks med $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaF}_2$. Porositetene brukes altså til fluordepot. Når pH i plakken senkes vil fluoridioner frigis og binde til HAP krystaller og erstatte OH som oppløyses. Det vil dannes FHAP krystaller. FHAP krever et større pH fall for at det skal gå i oppløsning og er derfor utover remineraliseringen viktig ved at den hindrer demineralisering.

Almen biokjemi

Oppgave 3

Triacylglycerol (TAG)

a) Fordøyelse av TAG

Triacylglycerol eller TAG nedbrytes av fordøyelsesenzymet lipase. I tarmkanalen blir lipase frigitt med pancreassaften og kalles derfor pancreas – lipase. Et anna viktig enzym er Co – lipase.

For at TAG skal kunne nedbrytes må det skje en emulgering. Dette skjer ved at gallesaltene binder til TAG. Galle saltene er amfifile og har ei negativ ladning som tvinger TAG til å oppløses til mindre fettdråper – dette er svært viktig slik at lipase får en større overflate å virke på (uten emulgering ville fordøyelsen av fett tatt veldig lang tid). Lipase kan ikke binde til de emulgerte fettdråper på grunn av gallesaltene. Co – lipase derimot kan godt binde. Binding av Co – lipase tillater binding av lipase, slik at fettdråpene kan nedbrytes til sine ultimative fordøyelses produkter; monoacylglycerol (MAG) og frie feitt syrer (FFA)
 $\text{TAG} \rightarrow \text{MAG} + 2\text{FFA}$.

Etter at TAG er nedbrutt til MAG og FFA, dannes det blandingsmiceller som består av MAG, FFA, kolesterolster(CE) og feittoppløselige vitaminer (FOV).

Blandings micellene må komme over det tykke lag av mukosa for å opptas i cellen. Gallesaltene binder til blandingsmicellene og gjør de hydrofile nok til å passere mukosa laget slik at de kan opptas av enterocytene. Gallesaltene opptas ikke. De blandingsmiceller som inneholder mindre enn 12 kulbrintealer er hydrofile nok til å passere mukosa laget uten hjelp fra gallesaltene.

Når enterocytene har opptatt blandingsmicellene skal de igjen danne TAG fra MAG og FFA.

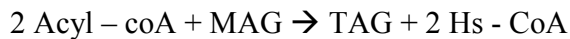
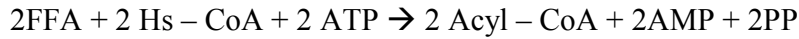
b) Gjenoppbygging av TAG

Gjenoppbygging av TAG fra de ultimative fordøyelses produkter: $\text{MAG} + 2\text{FFA}$.

Lipogenese

For at de frie fettsyrer skal inngå i dannelsen av TAG må de aktiveres. Aktiveringen er en prosess som krever forbruk av 2 ATP pr fettsyre (Ved dannelsen av AMP + PP forstås at det forbrukes 2 ATP).

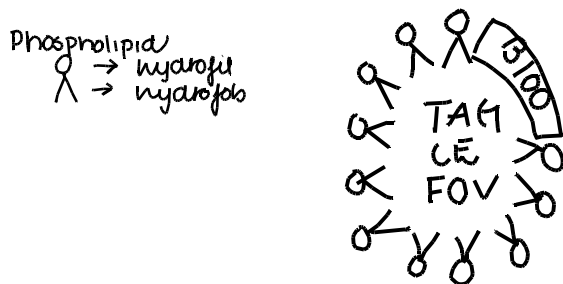
Enzym: Acyl – Co A syntase:



TAG kan også dannes ut fra 3FFA og glycerol – 3 - phosphate.

Etter at TAG er gjendannet, pakkes det sammen med kolesterol (CE) og fettopløselige vitaminer (FOV) i lipoproteinet kalla chylomicroner.

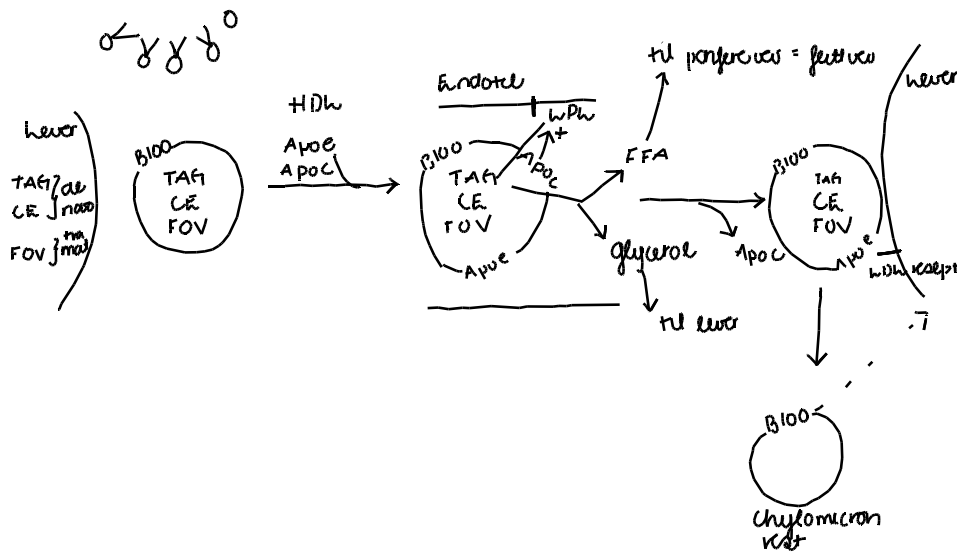
Chylomicroner er danna av et "skjell/skall" av fosfolipider. Fosfolipidene har hydrofile hovder og hydrofobe haler. Dette gjør at den får ei hydrofil overflate og at den er hydrofob innvendig. Den hydrofile overflate gjør at den kan transporteres i blodet. Utover fosfolipidene består skallet også av protein B100.



c) Chylomicroners avlevering av fettsyrer til fettvev

Chylomicroner transporteres fra leveren og ut i blodet. Den består nå som nevnt av fosfolipider og protein B100. Når den kommer ut i blodet mottar den Apo c og Apo e fra HDL.

Endotelcellene i blodårene har en reseptor hvortil Apo C binder. LPL (lipoproteinlipase) frigis og nedbryter TAG \rightarrow glycerol + FFA. Glycerol bliver transportert til leveren og FFA bliver frigjort til perifere vev. Nå inneholder chylomicronet bare en liten del av TAG. Apo c fraspaltes og chylomicronet transporteres med blodet tilbake til leveren. Apo E binder til LDL reseptor i leveren og opptas.



Gjendannelse av TAG fra glycerol – 3 fosfat:

Glycerol – 3 fosfat går sammen med 2 aktiverte fettsyrer (Acyl – CoA) og danner Phosphatidate. Phosphatidat blir til Diacylglycerol (DAG) som igjen reagerer med ei aktivert fettsyre og blir til TAG.

Mellomprodukter: Glycerol – 3 – P → Lysophosphatidate → Phosphatidate → DAG → TAG

Mellomproduktene dannes ved reaksjon med ei aktivert fettsyre.

Fettvev mangler glycerol kinase som omdanner glycerol til glycerol 3 – fosfat. Fettvevet er derfor avhengig av fri glukose i blodet. Fettvev opptar glukose ved hjelp av en glukose transporter GLUT4. GLUT 4 er en insulin avhengig glukose transporter. Dette hemmer fettvevet i å oppta glukose under faste, noe som medfører at vev som er avhengig av kontinuerlig tilførsel av glukose blir prioritert, for eksempel hjernen. Mekanismen er med på å hemme lagring/dannelse av fett under faste, da glukose heller blir opptatt i andre vev. Under faste vil fett nedbrytes til frie fettsyrer som i leveren nedbrytes via β – oksidasjon for dannelse av energi, og ikke lagres som TAG.

Oppgave 4

Pyruvat

a) Enzymer:

- (1) → Pyruvat kinase
- (2) → Pyruvat carboxylase
- (3) → Pyruvat dehydrogenase
- (4) → Laktat dehydrogenase

(5) → ALAT = Alaninaminotransferase

b) Coenzym:

(2) → TPP

(3) → TPP, FAD

(5) → vitamin B6

c) a) Prosesser som foregår i leveren under faste

Etter tre dagers faste er glykogenlagrene tomme og kroppens vev har bruk for energi i form av glukose eller ketonstoffer.

Prosessene som foregår i leveren er i hovedsak prosess 2, 4, 5.

- Den 4 prosessen danner reversibelt laktat til pyruvat, som kan brukes til glukoneogenesen. Det skal 2 laktat/pyruvat til for å danne 1 glukose molekyle.
- Prosess 2 som omdanner pyruvat → oxaloacetat er det første trinn i glukoneogenesen som har som formål å danne glukose som frigis til blodet slik at vev som har behov for glukose kan utnytte glukosen.
- Den 5 prosessen som er ei transaminering kan danne pyruvat som nevnt kan inngå i glukoneogenesen og ketogenesen.

b) Prosesser som er hemmet i leveren under faste:

De prosesser som er hemmet i leveren under faste er prosess (1) og (3)

- Prosess (1) Enzymet pyruvat kinase reguleres kovalent av hormonene insulin og glukagon.
Insulin → stimulerer
Glukagon → hemmer
Ved faste er det høye konsentrasjoner av glukagon → dermed er prosessen hemmet. I tillegg har også alanin en hemmende effekt på enzymet. Under faste er det også store mengder alanin tilstede. Dette er hensiktsmessig fordi under faste ønsker vi ikke nedbryte glukose i leveren, men å danne glukose til vev som trenger det, for eksempel hjernen.
- Prosess (3) – Denne prosessen er hemmet i leveren under faste fordi pyruvat skal brukes til dannelse av glukose via glukoneogenesen. Acetyl – CoA kan brukes til dannelse av ketonstoffer, men kommer da ikke fra pyruvat men fra beta – oksidasjon av fettsyrer. Glukoneogenesen og ketogenesen skjer samtidig i leveren under faste – og har derfor forskjellige kilde til sine substrater slik at de ikke trenger konkurrere om pyruvat.

d) a) Prosesser som er viktig for ATP forsyning i hjernen

- (1), det siste trinn i glykolysen som er den prosessen hjernen nedbryter opptatt glukose. Trinnet er ikke hemmet i hjernen slik det er i leveren.
- (3), omdanner pyruvat til Acetyl – CoA som inngår i TCA syklus i hjernen slik at det. Likesom prosess (1) er TCA syklusen i hjernen alltid aktiv.
(De resterende prosesser er viktig for dannelse av glukose i leveren, slik at hjernen får glukose til å bryte ned gjennom glykolysen og etterfølgende TCA syklus)

b) Prosesser som er viktig for ATP forsyning i erythrocytter

Erythrocyttene er også afhængig af kontinuerlig forsyning av glukose, men erythrocyttene har ikke mitokondrier slik at de ikke får ATP fra TCA – syklusen.
Prosess (1) og (5) er viktig i erythrocyttene.

