# Oral Biokemi Juni 2017 ORAL BIOKEMI

Opg. 1.

1. **Beskriv emaljens kemiske og strukturelle opbygning.**

Emaljen består for mestendels af hydroxylapatitkrystaller (fremover HAP). Desuden andre

mineraler såsom flourapatit samt emaljeproteiner og vand. Procentvis fordeler disse komponenter

sig således:

Mineral: ca. 96 %

H2O: ca. 3 %

Emaljeproteiner (herunder amelogeniner, non-amelogeniner og enzymer): ca. 1 %

HAP aflejres af den sekretoriske ameloblast under amelogenesen hvorefter nævnte celle går bort –

dette er årsagen til at emaljen ej kan gendannes når denne først går tabt.

I teorien udgøres hver enkelt HAP af mange enhedsceller med formlen Ca10(PO4)6(OH)2. Dette

forbliver dog en teoretisk anskuelse idet enhedscellen ej er en selvstændig struktur, men derimod

blot et middel til redegørelse for HAP-komponenternes indbyrdes forhold. Flourapatit har samme

kemiske struktur som HAP med den forskel at OH- er substitueret med flourid.

En HAP er ca. 100-1000 nm lang og 40 nm bred og arrangeres under amelogenesen i såkaldte

prismer og interprismer. Prismer og interprismer er egentlig misvisende betegnelser, da

strukturerne de beskriver snarere er hexagonale under aflejring, siden nøglehulsformede som følge

af trykpåvirkning under fortsat prismeaflejring. Derfor bruges ofte de engelske betegnelser rods og

interrods.

Kemisk anskuet er prismer og interprismer ens, og forskellen består således i orientering.

Interprismer ligger perpendikulært indskudt mellem prismer, der i forlængelse af hinanden

spænder mellem dentin og tandoverflade. Forskellen i orientering har morfologiske rødder i den

tilnærmelsesvist skrå flade (Tomes proces) hvorfra den sekretoriske ameloblast afgiver sit sekret. En prisme er ca. 4 um bred og 8 um lang og består altså af adskillige HAP. Selvom emaljen er

menneskets hårdeste væv, findes i emaljen stadig porøsiteter benævnt interkrystalrum.

Krystallerne er altså ikke sammensmeltede (hvilket skyldes amelogenin-modulering under

amelogenesen), og nær tandens overflade, som følge af mere diffus HAP-orientering, er disse

udvidede. Dette forklarer at udefrakommende substanser nemmere aflejres i tandoverfladens

periferi, og dermed hvorfor caries nemmere opstår her.

Opg1. **b) Redegør for pellikel dannelsen på tænderne og hvordan den veludviklede pellikel er opbygget**.

Pelliklen er en tynd , gelatinøs , bakteriefri struktur som dækker overfladen af tanden og dannes så snart spytproteiner kommer i kontakt med de ”nøgne” hap krystaller (phosfat,calcium,oh) efter en tandbørstning. Hap krystaller består hovedsagligt af calcium og fosfat og derfor vil der i den yderste del af emaljen findes et lag af calcium og fosfationer som giver emaljeoverfladen negativ nettoladning. Pga. den negativ ladning vil positive calciumioner fra SPYTTET binde til fosfationer på emaljeoverfladen hvorved der dannes et fosfat-calcium kompleks også kaldet ionlag(hydrationslaget). Ionlaget resulterer i en positiv (nettoladning) overflade, hvorefter negative glykoproteiner (proteindelen:statherin, prolinrige proteiner, amylase, kulhydratkomponenten: forskellige hexoser) fra SPYTTET vil blive tiltrukket. Glykoproteiner som findes i pelliklen er bla prolinrige proteiner. De prolinrige proteiner er ikke en tilfældig komponent af pelliklen, men har en væsentlig rolle , eftersom de sørger yderligere bindning af andre spytproteiner til pelliklen.

Der dannes et fosfat-calciumprotein kompleks og pelliklen er hermed etableret.

Peliklen skal ikke ses som et monolag, men som et POLYLAG AF SPYTPROTEINER, hvor glykoproteiner binder til hinanden vha ionbindinger og van der waalske kræfter. Peliklen kan derfor opnår en tykkelse på 1-10 mikrometer og fungerer som en beskyttelsesdragt for emaljen mod slid, milde syreangreb, exogene faktorer. Ydermere beskytter pelliklen tanden mod bakterieadhæsion vha. ladningsfrastødning og antibakterielle egenskaber.

(Bakterie : negativ ladning overfladen

Pelliklen: glykoprotein negativ ladning derfor frastødning, men bakterie binder fra lang afstand til pelliklen , indirekte bindning vha. af en polymerbro)

**Proteiner i den tidlige pellikel**Sure, prolinholdige proteiner

Statherin-rigeHistatin-rigeGlykoproteiner

**Proteiner i den sene pellikel**IgA: BakterieaggregerendeLactoferrin: binder Jern (vigtigt bakteriesubstrat => derved hæmmes bakteriers metabolisme)Lysozym: membranlyseKulsyreanhydrase: ansvarlig for bicobarnatbufferen (optimal ved pH = 6)Alfa-amylase: nedbryder 1,4-glykosidbindinger i stivelseLipase: nedbryder Esterbindinger i TAGMucinerM.fl.

# Juni 2017

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

Som nævnt i ovenstående beklædes tandoverfladen i mødet med saliva, af negativt ladede

spyt(glyko)proteiner hvormed bakterieadhæsion begrænses med 90 % set i forhold til forsøg i salivafrie

miljøer – dette skyldes at tandoverfladen nu frastøder de naturligt negativt ladede bakterier

(lipoteikoidsyre).

I mødet med saliva genvinder bakterierne dog, populært sagt, en smule territorium da

de her gøres en anelse mindre negative og dermed i nogen grad hydrofobe – ligesom tanden (bemærk

at dette refererer til absalon dokumentet pellicle formation, hvis udlægning af førnævnte er anderledes

end hvad vi blev præsenteret for i undervisningen). En bakterieres succesfulde adhæsion til

tandoverfladen er derfor et sammenspil mellem ladningsfrastødning (adhæsionshæmmende) og

hydrofobe egenskaber (adhæsionsfremmende) – desuden Van der Waals kræfter (dog kun ringe

betydning). Den irreversible adhæsion opstår ved polymerbrodannelse (eller via fimbriae eller flageller)

mellem receptorer på hhv. tandoverflade og bakterie. Dette finder sted i en afstand af ca. 10 nm da dette er energisk mest favorabelt.

Bakterien frigiver ekstracellulære enzymer benævnt Glycosidaser og Neuromidaser, der fraspalter hhv. sukker og sialinsyrer fra hhv. glyko- og sialoproteiner. Bakterien vikler sig så at sige ind i de nu denaturede proteiner hvormed de ”gnaver” sig ind i pelliklen og koloniserer den.

**Opg1   
d) Redegør for sukroses rolle i udviklingen af den ekstracellulære**

**matrix i biofilmen**. (s 11 røde )

Sucrose er et disakkarid bestående af glukose og fruktose. Bindingen mellem førnævnte

monosakkarider har en yderst negativ delta G-værdi, og bindingen indeholder således en potentiel

energi sv.t. 1 ATP.

Denne potentielle energi er usædvanlig høj sammenlignet med andre sukkerarter, og gør sucrose

særdeles effektiv i dannelsen af en gelatinøs ekstracellulær matrix:

To ekstracellulære enzymer er ansvarlige for nedbrydelsen af sucrose, og udnyttelsen af den

frigivne omtalte energi; disse er hhv glycosyltransferase og fructosyltransferase. Begge enzymer

nedbryder bindingen mellem glukose og fruktose, og begge enzymer anvender energien til at

danne ekstracellulære sukkerpolymerer. Glycosyltransferase anvender den udvundne energi til at

danne glukosepolymerer benævnt glukaner (herunder dextraner og mutaner), mens

fructosyltransferase anvender energien til at danne fruktaner (herunder levan – et vigtigt molekyle

der fungerer som næringslager under værtens faste). Begge enzymer påsætter første monosakkarid

under polymerdannelsen til en såkaldt primer og den fremkomne biofilm fungerer som et gelfilter

hvorigennem makromolekyler ej kan diffundere (fx ilt O2, ladet molekyler). Hermed opstår det anaerobe plakmiljø.

(dannelsen af polymerer øger størrelsen af udvikl plak og disse klæbrige og relativt uopløselige stoffer akkumulerer og hindrer derved fri bevægelighed af større molekyler ml plakvæsken og spyttet)

# Juni 2017

**Opgave 2   
a) Redegør for hvordan eks. Streptococcus mutans(Fakultativ Anerob Grampositiv kok, metaboliserer glucose under anaerobe forhold.**

Anaerob glykolyse adskiller sig ikke fra aerob glykolyse, og der bliver i begge tilfælde således

dannet pyruvat. Skæbnen der afventer pyruvat er således forskellen mellem bakteriens aerobe og anaerobe sukkermetabolisme. Den anaerobe metabolisme ser således ud Fig 1.

Ved høj sukkertilgængelighed dannes store mængder mælkesyre laktat (relativt stærk organisk syre) idet Fruktose- 1,6-Bifosfat, glyceraldehyd 3-fosfat ophobes. Der sker en reduktion af pyruvat til laktat (enzym: laktat dehydrogenase) som vist på tegningen. Samtidig hæmmes dannelsen af smørsyre+eddiksyre+myresyre ved ophobning af G-3-P som hæmmer pyruvat-format-lyase. Dette betyder samtidig, som det fremgår af tegningen, at der kommer færre mængder eddikesyre og dermed mindre ATP, idet omdannelsen af acetyl-CoA, som ved høje sukkerkoncentrationer kun forekommer i liden grad, ikke kan finde sted.

Eddikesyre og propansyre er relativt svage organiske syrer, hvorfor de med deres korresponderende

svage baser, fungerer som pH-buffere i plakken. Bakterien Veilonella spp omsætter mælkesyre til

hhv. proprionat og acetat under dannelse af ATP – hermed øges pH . SE fig 2:

****

**Fig 1**

**Fig 2**

****

**Opg 2 b**

b) **Redegør for hvordan emalje reagerer ved pH over, på og under det( side 19+20 røde)**

**kritiske niveau for emalje.**

Den kritiske emalje-pH ca 5.5 svarer til den pH hvor plakken lige akkurat er mættet med hensyn til

emaljekomponenterne, som her antages udelukkende at bestå af HAP – dvs. calcium, fosfat og OH-.

Når pH er over den kritiske emalje pH er opløsningen overmættet og der udfældes mineral, idet

ionproduktet altså er større end opløselighedsproduktet. Ligevægten går altså mod udfældning (remineralisering).

Når pH = den kritiske emalje pH, sker der hverken udfældning eller opløsning, idet ionproduktet er lig

opløselighedsproduktet.

Når pH er under den kritiske emalje-pH går HAP i opløsning (demineralisering) for at kompensere for

det lave ionprodukt. Ligevægten går altså mod opløsning, idet plakken er undermættet på gældende

ioner (se tidligere).

Ionproduktet falder når bakterierne i plakken tyr til anaerob sukkermetabolisme, da de organiske syrers

H+ reagerer med de frie ioner. Eksempelvis omdannes OH- til vand og PO4 3- til HPO42-. Når ionproduktet

når under opløselighedsproduktet, opløses HAP for at kompensere.

Den kritiske emalje-pH er typisk sv.t. 5,5.

# Juni 2017

**Opg 2   
c) Beskriv bicarbonat buffer systemets effekt overfor pH-fald ibiofilmen.**H2O + CO2 <> H2CO3 ><H+ + HCO3- (enzym: kulsyreanhydrase)Som det gælder alle buffersystemer, består bicarbonatbuffersystemet af et korresponderende svagtsyre/base-par; her H2CO3 (svag syre, hydrogencarbonat) og HCO3- (svag base bicarbonat), som reagerer med hhv. OH- (ved pH-stigning) under dannelse af vand og H+ (ved pH-fald) under dannelsen af H2CO3.Under pH-fald, forbundet med flere frie hydroner, er det således den svage base der optager H+’er, og neutraliserer udsvinget.

**d) Beskriv fluorids mulige indflydelse på biofilmen.**Flourid er essentiel i hæmningen af biofilmdannelse, idet det virker inhiberende på bakteriernesglukosemembran transportsystem: Phospho-transferase-system (optimalt fungerende ved almen oralpH, ca. 6,5) – et kompliceret kaskadesystem bestående af adskillige komponenter, herunderphosphoenolpyruvat. Hermed hæmmes (i høj grad, men ikke totalt) bakteriernes mulighed for anaerob sukkermetabolisme og aflejring af organiske syrer. Ved lave pH-værdier virker det såkaldte proton motive force system som anvender protongradienten (potentiel energi) mellem det sureekstracellulære miljø og neutrale intracellulære miljø, til at transportere glukose med ind i cytosol.

**e) Beskriv fluorids indflydelse på opløseligheden af emalje.**Fluorid sænker emaljens opløselighedsprodukt idet fluorapatit-krystaller er tungere opløselige endHAP. Hermed falder ligeledes den kritiske emalje-pH. Hvor HAP har en kritisk pH-værdi på ca. 5,5, harfluorapatit en kritisk pH-værdi på ca. 4,5.Kuriosum: de anaerobe b

Bakterier kan overleve pH-værdier helt ned til 4,0

Aug 2017 oral biokemi **opg 1**

**a) Beskriv emaljens ultrastrukturelle opbygning.**

Emaljen består for mestendels af hydroxylapatitkrystaller (fremover HAP). Desuden andremineraler såsom flourapatit samt emaljeproteiner og vand. Procentvis fordeler disse komponentersig således:

Mineral: ca. 96 %

H2O: ca. 3 %

Emaljeproteiner ca 1% (herunder amelogeniner, non-amelogeniner og enzymer)

HAP aflejres af den sekretoriske ameloblast under amelogenesen hvorefter nævnte celle går bort, dette er årsagen til at emaljen ej kan gendannes når denne først går tabt.I teorien udgøres hver enkelt HAP af mange enhedsceller med formlen Ca1o(PO4)6(OH)2. Dette forbliver dog en teoretisk anskuelse idet enhedscellen ej er en selvstændig struktur, men derimod blot et middel til redegørelse for HAP-komponenternes indbyrdes forhold. Flourapatit har samme kemiske struktur som HAP med den forskel at OH- er substitueret med flourid.En HAP er ca. 100-1000 nm lang og 40 nm bred og arrangeres under amelogenesen i såkaldteprismer og interprismer. Prismerne og interprismerne har samme fysiske og kemiske egenskaber, det eneste der adskiller dem deres aflejring i emaljen.

Prismerne ses at være hexogonale og er opbygget af tæt pakkede krystaller der måler 40 nm i diameter og har en længde på 100-1000 nm. Fuldudviklede emaljeprismer har ikke en hexagonal struktur grundet det øgede tryk de påfører hinanden under udviklingen hvorfor termerne rod/interrod bruges om den færdigudviklet emalje.

De yderste krystaller i prismen er ikke parallele med prismens longitudinelle akse, men har derimod en mere tilfædlig orientering, samtidig med at der ses færre krystaller i periferien. Det medfører at interkrystalrummet (rummet ml krystallerne) samt porevolumen i den perifere del af prismerne er større. Den større porevolumen medfører at der i periferien indeholdes væsentlig større mængder luft, vand, el proteiner. Interkrystalrummet i den celntrale del af prismen er ikke lige så stort, eftersom krystallerne tætpakkede og placerer sig parallelt med hinanden. Førnævnte forklarer hvorfor caries udvikler sig hurtigere i den andel hvor porevolumen er størst, dvs i den perifere del af prismen.

# Aug 2017

**Opg1 b) Redegør for hvordan pellikelen dannes på tandoverfladen og beskriv**

**sammensætningen af pelliklen.**

Pelliklen er en tynd , gelatinøs , bakteriefri struktur som dækker overfladen af tanden og dannes så snart spytproteiner kommer i kontakt med de ”nøgne” hap krystaller (phosfat,calcium,oh) efter en tandbørstning. Hap krystaller består hovedsagligt af calcium og fosfat og derfor vil der i den yderste del af emaljen findes et lag af calcium og fosfationer som giver emaljeoverfladen negativ nettoladning. Pga den negativ ladning vil positive calciumioner fra SPYTTET binde til fosfationer på emaljeoverfladen hvorved der dannes et fosfat-calcium kompleks også kaldet ionlag. Ionlaget resulterer i en positiv overflade, hvorefter negative glykoproteiner (proteindelen:statherin, prolinrige proteiner, amylase, kulhydratkomponenten: forskellige hexoser) fra SPYTTET vil blive tiltrukket. Glykoproteiner som findes i pelliklen er bla prolinrige proteiner. De prolinrige proteiner er ikke en tilfældig komponent af pelliklen, men har en væsentlig rolle , eftersom de sørger yderligere bindning af andre spytproteiner til pelliklen.

Der dannes et fosfat-calciumprotein kompleks og pelliklen er hermed etableret.

Peliklen skal ikke ses som et monolag, men som et POLYLAG AF SPYTPROTEINER, hvor glykoproteiner binder til hinanden vha ionbindinger og van der waalske kræfter. Peliklen kan derfor opnår en tykkelse på 1-10 mikrometer og fungerer som en beskyttelsesdragt for emaljen mod slid, milde syreangreb, exogene faktorer. Ydermere beskytter pelliklen tanden mod bakterieadhæsion vha. ladningsfrastødning og antibakterielle egenskaber.

(Bakterie : negativ ladning overfladen

Pellikeln: glykoprotein negativ ladning derfor frastødning, men bakterie binder fra lang afstand til pelliklen , idirekte bindning vha af en polymerbro)

**Proteiner i den tidlige pellikel**Sure, prolinholdigeStatherin-rigeHistatin-rigeGlykoproteiner

**Proteiner i den sene pellikel**IgA: bakterieaggregerendeLactoferrin: binder jern (vigtigt bakteriesubstrat)Lysozym: membranlyseKulsyreanhydrase: ansvarlig for bicobarnatbufferen (optimal ved pH = 6)Alfa-amylase: nedbryder 1,4-glykosidbindinger i stivelseLipase: nedbryder esterbindinger i TAGMucinerM.fl.

# Aug 2017

**Opg 1c) Redegør for hvorfor sucrose er speciel i forhold til udvikling af biofilm**

**på tænderne.**

Sucrose er et disakkarid bestående af glukose og fruktose. Bindingen mellem førnævnte

monosakkarider har en yderst negativ delta G-værdi, og bindingen indeholder således en potentiel

energi sv.t. 1 ATP.

Denne potentielle energi er usædvanlig høj sammenlignet med andre sukkerarter, og gør sucrose

særdeles effektiv i dannelsen af en gelatinøs ekstracellulær matrix:

ekstra: To ekstracellulære enzymer er ansvarlige for nedbrydelsen af sucrose, og udnyttelsen af den

frigivne omtalte energi; disse er hhv glycosyltransferase og fructosyltransferase. Begge enzymer

nedbryder bindingen mellem glukose og fruktose, og begge enzymer anvender energien til at

danne ekstracellulære sukkerpolymerer. Glycosyltransferase anvender den udvundne energi til at

danne glukosepolymerer benævnt glukaner (herunder dextraner og mutaner), mens

fructosyltransferase anvender energien til at danne fruktaner (herunder levan – et vigtigt molekyle

der fungerer som næringslager under værtens faste). Begge enzymer påsætter første monosakkarid

under polymerdannelsen til en såkaldt primer og den fremkomne biofilm fungerer som et gelfilter

hvorigennem makromolekyler ej kan diffundere (fx ilt O2ladet yderste biofilm). Hermed opstår det anaerobe plakmiljø

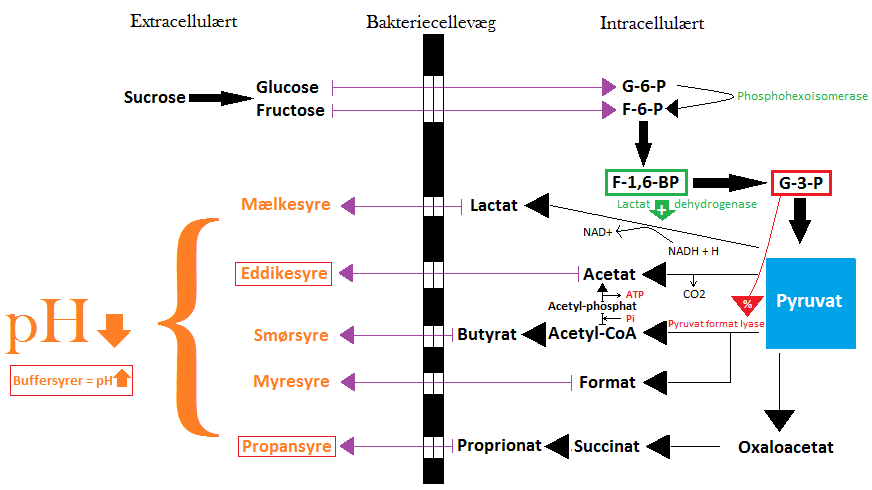
# Aug 2017

**Opgave 2**

**a) Beskriv processer i den dentale biofilm der kan medfører at pH falder. (s13+14)**

I den dybe del af biofilmen vil ***glykolysen foregå anerob***, grundet mangel på oxygen. Under anerobe forhold vil glykolysens slutprodukt , pyruvat, ***omdannes til laktat vha laktat dehydrogenasen (LDH***) samtidig med at NADH omdannes til NAD+ . Dannelse af laktat er hos de aneroebe bakterier en metabolisk slutstation hvilket betyder, at laktat skal udskilles fra cellen for at undgå cellelysis, grundet lav ph værdi. Der dannes også andre syre fx eddikesyre,methansyre,smøresyre afhængig af hvilken reaktionsvej der foregår i bakterien. (medføre ikke så lavt ph som laktat, andre reaktionsveje aktiv når konc af fruktose 1,6 bifosfat, og glyceraldehyd-3-fosfat er lave)

***LdH (laktat dehydrogenase) aktiveres af glykolyse intermediet fruktose 1.6 bifosfat sammen med glyceralaldehyd-3- fosfat, som ophober sig***, ***når der er store mængder sukker***, hvilket betyder at der dannes meget laktat. Den øgede koncentration af laktat medfører et ph fald.



**b) Redegør for processer i den dentale biofilm der kan medfører at pH**

**stiger. (S.17+18 røde)**

**Tilstedeværelse af nitrogen er meget vigtig for bakterievækst samt overlevelse**. Barkterierne har specifikke mekanismer til at nedbryde nitrogenholdige stoffer, fx urea og proteiner i spyttet . Den normale nitrogen metabolisme for alle aminosyrer , untaget arginin, betegnes stickland reaktion(SLR).

Nedbrydningen af arginin er speciel og reaktionskaskaden betegnes Arginin Deiminase Pathway se figur og giver bakterien 1 atp samtidig med at PH ØGES. Produktet der dannes af mekanismen er putrescin og er ildelugtende. Ph stigningen skyldes hhv. dannelse af 2 NH3 samt decarboxylering af ornithin (aminosyre) til putrescin( amin). Aktiviteten af bakteriel decarboxylase øges ved lav ph- værdi i biofilmen. Denne øgning er hensigtsmæssig fra et bakterielt perspektiv, da en alt for lav ph værdi vil kunne udrydde mange bakterier.

Hvad med buffer?

# Aug 2017

**c) Redegør for hvorledes koncentrationen af *calcium og fosfat* i dental**

**biofilm afviger fra koncentrationen i saliva og beskriv hvilken**

**betydning dette kan have for henholdsvis demineralisering og**

**remineralisering. (S 18, 19 )**

# JUNI 2016

**Essayopgave 2**

**Den anerobe glykolyse er central for forståelsen af tandsygdommen caries dentalis.**

**a) Angiv netto-energiregnskabet for den anaerobe glucolyse, og forklar dette på**

**baggrund af de reaktioner der finder sted i glucolysen, herunder, hvordan det**

**kan være at energiregnskabet er positivt, når glycolysen også indbefatter brug**

**af ATP.**

Phosphorylering på substratniveau kan ske ved følgende reaktioner:1,3-diphosphorglycerat + ADP --> 3-phosphorglycerat + ATPphospherenolpyruvat (PEP) + ADP --> pyruvat + ATP.Da der bruges to ATP for hvert mol glucose og dannes fire ATP ernettoresultatet 2 ATP

1. **Beskriv rationalet bag omdannelsen af pyruvat til lactat. S.13**

I den dybe del af biofilmen vil glykolysen foregå anaerob, grundet mangel på oxygen.   
Under anaerobe forhold vil glykolysens slutprodukt, pyruvat, omdannes til laktat, vha. laktat dehydrogenase (LDH) samtidig med at NADH omdannes til NAD+. Hos de anaerobe bakterier er NADH et affaldsprodukt, hvorfor en hurtig tilbagedannelse til NAD+ er essentiel.   
Dannelse af laktat er hos de anaerobe bakterier en metabolisk slutstation, hvilket betyder at laktat skal udskilles fra cellen for at undgå celleysis, grundet lav ph værdi.

**c) Beskriv phosphotransferasesystmet til transport af sukker ind i bakteriecellen,**

**og forklar, hvorledes denne transport påvirker energiregnskabet.**

a) Neutral pH

* *Phosphotransferase system (membrantransporter)*
  + Høj affinitet for glukose
  + Virker ved neutral pH

Resultat: Bakterien klarer sig ved neutral pH og lav sukkerkoncentration; en tilstand vi ser oralt uden tilstedeværelse af føde/sukker

PTS er et aktivt transportsystem, der kræver energi:

Glucose + PEP >glu-6-P+pyruvat.

Enzymet PTS kræver energi fra glycolysekomponenten phosphorenolpyruvat. Enolasen katalyserer

processen.

2P-glycerat > PEP

Denne proces kræver magnesiumioner. Ved høj F- koncentration hæmmes denne

proces, da F- binder Mg2+.

Phosphortransferasesystemet (PTS) transporterer glucose ind i bakterierne samtidig med at detphosphoryleresglucose (ude) + PEP --> glu-6-P (inde) + pyruvatPEP er en komponent i glycolysen, der dannes fra 2-phosphorglycerat. Enzymet der deltager iprocessen er enolase, som er afhængig af magnesiumioner. Hvis der er fluoridioner tilstede ibakterier

Nogle bakterier besidder en unik transportmekanisme, hvor glukose kan transporteres intracellulært. Fosfattransferase (PTS) er et system, som aktivt kan transportere glukose intracellulært. Systemet har meget høj affinitet for glukose. Ekstracellulær glukose transporteres ind via PTS , hvor det undervejs (se det metabolske skema) bliver fosforyleret af fosfoenolpyruvat(PEP) til glukose-6-fosfat. Glukose-6-fosfat kan herefter en kort kaskade omdannes tilbage til 2\* pep vha. enolase. Den ene PEP forbliver uændret og hjælper med at få endnu et glukose molekyle intracellulært. Den anden PEP vil omdannes til pyruvat under dannelse af ATP. Det dannede pyruvat kan herefter indgå i TCA -cyklus, hvormed bakterien kan høste ATP.( **lav ph kan system ikk anvendes, her har nogle bakter s.mutans protonmortivforce system virker ved ph 5.5 glukose transport i symport med h+**)

# Juni 2016

**Problemløsningsopgave 2**

**Årligt opstår nye sundhedstrends, og mange mennesker lever under forskellige diætregimer,**

**fx raw-food, veganisme, vegetarisme, flexitarisme, palæo etc.   
Ofte kan man sige lige så meget dårligt om en given kur, som man kan sige gode ting.   
Dog tyder noget på at oprindelige folkeslag, ikke led af den samme grad og art af tandsygdomme som vi gør i dag.**

**Med udgangspunkt i tre situationer   
1) en sucrose-holdig diæt (almindelig vestlig diæt med relativt stort indhold af sucrose)   
2) En stivelsesholdig diæt (fx et stammefolk, hvis fødeindtag primært består af svært nedbrydelige kulhydrater og protein fra tid til anden**

**3) en person der lever strikt efter fx palæokuren (primært protein), diskuter da:**

1. **Dannelsen af plaque**

**Ved forekomst af føde vil bakterierne udnytte den tilstedeværende kulhydratmængde og danne intra og ekstracellulær polysakkarid (ips og Eps). Individer som kun indtager en protein og fedtholdig kost udvikler en tynd og strukturløs plak. Tiden hvormed en biofilm dannes og veletableres afhænger stærkt af typen af det tilstedeværende kulhydrat, som bakterierne kommer i kontakt med. Mennesker der spiser en stivelsesholdig diæt(glukoserig) kost vil ikke udvikle en ligeså hurtig og stabil biofilm ift sukroserig kost. Ydermere er biofilmen i en sukroserig kost tykkere.**

1. **Dynamiske ændringer i pH i forbindelse med fødeindtaget**
2. **Evt. neutraliseringsmekanismer i plaquen, og deres effektivitet**

Alle syrer som dannes af bakterierne , vil blive transporteret ud af bakterien hvorved de akkumuleres i ECM og medføre et ph fald. Det skal påpeges , hvis ph bliver alt for lav, vil nogle bakterier dø, da ikke alle bakterier er acidofile. Derfor findes der i pelliklen andre bakterier fx **veillonell**a som kan udnytte nogle substrater/biprodukter fra andre bakteriers metabolisme. **Veilonella spp**. Kan især udnytte laktat og nedbryde det i følgende reaktioner

Laktat+h20 > acetat +CO2+H2 , får andre svagere syre!!! Acetat

Laktat +H2 >Proprionat+H20

Ovenstående reaktioner derfor fungerer som et buffersystem, hvilket medfører en stigning af ph, således at ph-værdien ikke bliver for lav og udrydder alle bakterier i biofilme. Førnævnte eksempel er blot en af de mange muligheder , hvormed bakterier kan udnytte andre bakteriers produkt.

# Juni2015

**Essayopgave 2 - pH i dental biofilm**

***1 Beskriv processer i den dentale biofilm der kan medfører at ph falder , angiv omtrentlig hvor lav ph realistisk kan blive i biofilm og forklar hvilke ydre faktorer der kan få væsentlig betydning for disse processer***

Processer i den dentale biofilm, der kan medføre pH fald og angivelse af hvor lav pH realistisk kan blive og de ydre faktorers indflydelse:Plakbakterier der omdanner kulhydrater til organiske syrer vil bevirke et pH fald. Ved glycolysen dannes pyruvat. Under aerobe forhold oxideres pyruvat fuldstændigt til CO2 og H2O ved TCA. Under anaerobe forhold omdannes pyruvat til organiske syrer. Ved høj sukkerkoncentration reduceres pyruvat til laktat vha laktat dehydrogenase (stimuleres ved akkumulation af fructose 1,6BP) ved samtidig oxidation af reducerede coenzym NADH+H. Ved lav sukkerkoncentration vil et fald i Glyceraldehyd 3 phosphat stimulerere pyruvatformal lyase som omdannet pyruvat til acetyl-Coa+ format. AcetylCoA reduceres til acetylfosfat som omdannes til acetat under produktion af ATP. Desuden kan der også dannes acetaldehyd som omdannes til ethanol. Acetat er en svagere syre (højere pKa) end laktat og giver derfor ikke et lige så stort pH fald. PH vil ikke falde til under 4. Iltforhold, sukkertilgængelighed og biofilmens karakter spiller en væsentlig rolle i produktio af syre. De saccharolytiske bakterier har glucosidaser og neuraaminaidaser. Disse enzymer medvirker til bakteriernes adhæsion samt til udnyttelse af substrater til deres metabolisme. Glucosidasen spalter glucosidbindinger og fraspalter således sukker fra pellikelproteinernes sidekæder. Disse sukre udnytter bakteriernes i deres metabolisme ved lav tilgængelighed af lettilgængelige kulhydrater. Sukker kan desuden komme fra indtagelse af sukker fra kosten. Sucrose spiller en væsenligt rolle. Det ændrer biofilmens karakter markant. Sucrose indeholder en energirigbinding som spaltes af bakterielle enzymer hvorved der udvindes energi til polymerisation af ekstracellulære polysaccharider samt monosaccarid til metabolisme. Der findes to typer af polysaccharider; glucaner og fructaner. Dextran (glucan) giver plakken en klæbrig og gelatinøs karakter og begrænser fri bevægelighed af metabolitter og ilt mellem plakvæsken og saliva. Mutanerne har også en strukturel funktion. Levan (fructan) fungerer som energireservoir. Nogle bakterier har også et lager af glucose intracellulært. Disse ekstracellulære polysaccharider giver biofilmen den lukkede struktur, hvorfor der vil være anaerobe forhold inderst i plakken. Dette er som ovenstående, det der resulterer i syreproduktion**.**

# Juni 2015

**2 Beskriv processer i den dentale biofilm der kan medfører at ph stiger og angiv omtrintlig hvilken ph værdi spytter har under normale forhold samt hvad der menes med kritisk ph og hvad den værdi normalt andrager i menneskespyt.**

pH i spyttet under normale forhold: 6,5-7,5Kritiks pH: 5,5 i menneskespyt og der menes den pH til hvilken en opløsning lige er mættet ift et specifikt mineral, fx emalje. Bruges kun om opløsninger der er i kontakt med mineral, fx saliva og plaquevæske. Processer i den dentale biofilm der kan medføre pH stigning er proteolytisk bakteriemetabolisme. Bakterier metaboliserer urea som findes i spyt. Herfra fås nitrogen som er en vigtig kilde til bakterievækst: urinstof/urea + H20 --> 2NH3 + CO2. Ammoniak fra urea metabolisering er i sig selv en base og kan derfor reagere med H+ og neutralisere syre fra cariogene mikroorganismer. Det kan også indgå i dannelsen af aminosyrer. (en række reaktioner med aminysredannelse. De frie aminosyrer, som ikke indgår i proteinsyntesen kan fermenteres parvis under anaerobe forhold (=sticklandreaktion): AS+NAD+ --> Oxosyre+NADH+NH3 Oxosyre + NAD+ + COA --> NADH + CO2 + acetylCOA AcetylCOA+ ADP --> acetat + CP2, + CoA + ATp. Der er altså dannes NH3 (base) og Acetat (syre). De vil udligne hinandens effekt hvorfor der ikke ses en markant pH ændring.Ved fermentering af arginin og ved decarboxylering af aminosyrer produceres der base, som vil ændre pH i biofilmen. Fermentering af arginin: arginin fermenteres ikke ved parvis fermentering. Det indgår som substrat i baseproducerende reaktioner. (=arginin deaminase pathway) Arginin + H2O --> citrullin + NH3Citrullin + Pi --> carbamyol-P + ornithincarbamyol-P + ADP --> ATP + NH3 + CO2. Ved dissse reaktioner dannes altså 2NH3 og det resulterer i en pH stigning. Ved lavt pH induceres bakterielle decarboxylaser som decarboxylerer aminosyrer under dannelse af ildelugtende aminer. AS --> amin + CO2. Der er sket en eliminering af carboxylsyregruppen ved denne decarboxylering og der er derfor et baseoverskud som forårsager pH stigning.

# Juni 2015

**Problemløsningsopg 2 Biofilmdannelse:**

**1 Beskriv en tandoverflades ultrastrukturelle opbygning og forklar begrebet endhedscelle :**

Emaljen består for mestendels af hydroxylapatitkrystaller (fremover HAP). Desuden andremineraler såsom flourapatit samt emaljeproteiner og vand. Procentvis fordeler disse komponentersig således:

**Mineral: ca. 96 %**

**H2O: ca. 3 %**

Emaljeproteiner ca 1% (herunder amelogeniner, non-amelogeniner og enzymer)

HAP aflejres af den sekretoriske ameloblast under amelogenesen hvorefter nævnte celle går bort , dette er årsagen til at emaljen ej kan gendannes når denne først går tabt.***I teorien udgøres hver enkelt HAP af mange enhedsceller med formlen Ca1o(PO4)6(OH)2***. Dette forbliver dog en teoretisk anskuelse idet enhedscellen ej er en selvstændig struktur, men derimod blot et middel til redegørelse for HAP-komponenternes indbyrdes forhold. Flourapatit har samme kemiske struktur som HAP med den forskel at OH- er substitueret med flourid.***En HAP er ca. 100-1000 nm lang og 40 nm bred og arrangeres under amelogenesen i såkaldteprismer og interprismer . Prismerne og interprismerne har samme fysiske og kemiske egenskaber, det eneste der adskiller dem deres aflejring i emaljen***.

Prismerne ses at være hexogonale og er opbygget af tæt pakkede krystaller der måler 40 nm i diameter og har en længde på 100-1000 nm. Fuldudviklede emaljeprismer har ikke en hexagonal struktur grundet det øgede tryk de påfører hinanden under udviklingen hvorfor termerne rod/interrod bruges om den færdigudviklet emalje.

**De yderste krystaller i prismen er ikke parallele med prismens longitudinelle akse**, men har derimod en mere tilfædlig orientering, samtidig med at der ses færre krystaller i periferien. Det medfører at interkrystalrummet (rummet ml krystallerne) samt porevolumen i den perifere del af prismerne er større. Den større porevolumen medfører at der i periferien indeholdes væsentlig større mængder luft , vand, el proteiner. Interkrystalrummet i den celntrale del af prismen er ikke lige så stort, eftersom krystallerne tætpakkede og placerer sig parallelt med hinanden. Førnævnte forklarer hvorfor caries udvikler sig hurtigere i den andel hvor porevolumen er størst, dvs i den perifere del af prismen.

(Selvom emaljen er menneskets hårdeste væv, findes i emaljen stadig porøsiteter benævnt interkrystalrum

# Juni 2015

**2 Forklar hvordan pellikel dannes på tandoverfladen og beskriv sammensætningen af henholdsvis pellikel og biofilm med klar angivelse af væsentlige kemiske komponenter.**

Pellikeldannelse:Ca2+ fra spyttet binder til den negative emaljeoverflade (phosphat yderst, se ovenfor). Sure proteiner, negativt ladede, fra spytter binder til overfladen. De første er primært prolinrige proteiner og statherin. Senere binder muciner, lysozym og amylase til. Pelliklen er tynd og cellefri og den kan blive op til 10 um. Pellikel vs biofilm sammensætningPellikel: organisk film på emaljeoverfladen bestående af spytglycoproteiner herunder sialsyre, statherin, mucin, prolinrige proteiner, samt ioner: calcium, magnesium og phosphat. Biofilm/plak: bakterier indlejret i intermikrobiel substans efter adhæsion til pellikel på tandoverfladen. Bestanddele: bakterier, polysachharider (dextran, levan, mutan), spytproteiner og ioner.

# Juni 2015

**3 Forklar hvorfor diffusionsforholdene i dental biofilm som oftest ændres over tid hvis ikke biofilm fjernes.**

Diffusionforholdene ændres over tid, da bakterierne i biofilmen danner ekstracellulære polysaccharider særligt ved tilførsel af sucrose. Sucrose nedbrydes til fructose og glucose og den energirige binding heri bruges til dannelse af ekstracellulære polysaccharider. Glykosyltransferaser danner glucaner (dextran og mutan) og fructosyltransferaser danner fructaner (=levan).

Fructaner fungerer primært som energireservoir mens glucaner har en strukturel funktion og gør biofilmen tykkere, impermeabel og gelatinøs. Særligt dextranerne gør plakken klæberig og mutanerne gør den uopløselig. Dette ændrer diffusionforholdende. Biofilmen får gelfiltration- og ionbytterefekt. gelfiltrationseffekten opnås pga polysacchariderne og matrixproteinerne giver ionbyttereffekt. Gelfiltration: filtrering af molekyler, makromolekyler kan ikke penetrere og de små ladede molekyler såsom organiske syrer og ammoniak tilbageholdes i biofilmen. Ionbytter: matrixproteinernes ladning afhænger af deres isolektriske punkt og pH i miljøet og dette vil så have en betydning i forhld til hvilke stoffer der kan passere og koncentration af de stoffer (også ioner).

Svarmulighed 2:

Grundet dannelsen af de ovenfornævnte ekstracellulære polysaccarider bliverbiofilmen under uforstyrrede forhold mere og mere lukket, især ved tilsætning afsukrose.Gelfiltrationen hindre at buffersystemerne kan komme igennem og afbalancerepH. Samtidig kan oxygen heller ikke kan komme igennem biofilmen hvilket leder tilanaerob forbrænding og fald i pH.Gelfiltrationen gør at det kun er små uladede partikler som kan komme igennem somglukose og urea.Ved fjernelse af sucrose må bakterierne nedbryde de ekstracellulære polysaccharider(især levan) og dermed bliver biofilmen mere åben og det vil igen øgediffusionsmulighederne i biofilmen**.**

# Juni 2015

**4 Angiv hvorledes koncentrationen af calcium og fosfat i dental biofilm afviger fra koncentrationen i spyttet og beskriv hvilken betydning dette kan have for henholdsvis mineralisering og demineralisering, remineralisering.**

Koncentrationen af **calcium og phosfat** er væsentligt højere i dental biofilm (3-4

gange) end i spyttet grundet ionbytter effekten.

Dermed er den øgede koncentration i biofilmen med til at hæve ionproduktet og

dermed sænke den kritiske pH for biofilm til omkring 4,5.

Dermed skal der en lavere pH (=> en større syre koncentration) til før mætningsgraden kommer under 1 og der sker en demineralisering. Endvidere skal pH stige mindre for at der begynder at ske

remineralisering.

Det er ekstra favorabelt hvis man har Flour i biofilmen (også grundet ionbytter effekt).

Flour bliver ikke påvirket ved den pH hvor hydroxylappatit demineraliseres og dermed

kan biofilmen remineralisere samtidig med flourapatit. Det har et lavere

opløselighedsprodukt 10-121 i forhold til hydroxylappatid 10-117 og derfor også mindre

påvirkeligt for kommende fald i pH.

Biofilmen virker som et reservoir for ioner og det er essentielt for at kunne

remineralisere. Det er forskellen fra tab af mineral ved udefra kommende syre som

fjerner mineralet direkte uden det midlertidige stop i biofilmen. Med en biofilm som

reservoir kan man ved pH stigning remineralise og undgå større permanent skade.

# Juni 2014

**Forklar hvad der forstås ved mineralisering ? demineralisering,?og remineralisering?og hvordan emaljen kan opløses ved anaerob metabolisme under dental biofilm? Forhold der er anderledes end ved emaljeopløsning forårsaget af tanderosion**

Mineralisering er opbygning af tandens uorganiske komponent. Det sker under tanddannelsen. Ameloblasterne danner prismer og interprismer, som består af krystaller af hydroxylappatit. Disse krystaller består teoretisk set af enhedsceller som er (Ca)10(Po4)6OH2. Krystalvæskten styres af proteiner herunder amelogening og enamelin.

**Demineralisering** af opløsning af den uorganiske komponent hydroxylappatit. Demineralisering kan kun ske i en væske. Alle væsker har et ionprodukt og emalje har et opløselighedsprodukt. Når væskens ionprodukt er mindre end HAPs opløselighedsprodukt fås en mætningsgrad under 100%. Det resulterer i demineralisering af tandsubstans. Tanden går i opløsning.

Ved en mætningsgrad over 100 % er der potentiale for **remineralisering.** De ioner der findes i plakvæsken eller saliva kan calcium og phosphat udfælde i emljaens porøstiteter. Porvevolumen yderst i emlajen er større pga uorgansiseret krystalstrutkur. Den samme organiseret krystalstrutkur fås ikke ved remineralisering, men porøstitetere kan "fyldes". (calciumphosphatsalte findes på forskellige former, molforholdet mellem calcium og phosphat stiger med øget pH)

Der sker hele tiden de- og reminieralisering. ?

Ved anaerobe forhold danner bakterer lavmolekylre organiske syrer, her er laktat særligt vigtigt. Der kan også dannes acetat og propansyre. Evt reaktionsligning.

Laktat i protonreet form udskilles af bakteriecellen. Der sker en gradvis ophobning af det inde og pga ligevægt vil der ske en gradvis acidificering inde i cellen, hvilket betyder syreproduktion mindskes.

I plakvæsken vil der væe en ligevægt af laktat på protoneret og deportoneret form. laktat kan diffundere ind i emaljevæsken og igen her vil der være en ligevægt. Væskens ionprodukt falder. Laktat kan fjerne calcium, H+ kan reagere med OH- og danne vand og phosphat og H kan reagere. Disse fjernes så at sige fra ligevægten af HA på fast og ionform. Væske og tandsubstans forsøger at opnå ligevægt ift ioner.

Erosion: pH muligt lav. biofilm virker som reservoir af ioner. Der er essentielt for remineralisering. Udefrakommende syre uden midlertidigt tilbageholdelse af ioner. i biofilm er der re og deminarlsiering hele tiden.

Opløsning af HAP beror på udfældning af HAP krystaller når disse kommer i kontakt med undermættet væske.

Ved

Anaerob glykolyse adskiller sig ikke fra aerob glykolyse, og der bliver i begge tilfælde således

dannet pyruvat. Skæbnen der afventer pyruvat er således forskellen mellem bakteriens aerobe og anaerobe sukkermetabolisme. Den anaerobe metabolisme ser således ud Fig 1.

Ved høj sukkertilgængelighed dannes store mængder mælkesyre laktat (relativt stærk organisk syre) idet Fruktose- 1,6-Bifosfat, glyceraldehyd 3-fosfat ophobes. Bakterierne udskiller laktaten så ph ikke bliver for lav inde i bakteriecellen og der sker en demineralisering af tanden.

Erosion:Ved tandslid forstås fysisk og kemisk betinget tab af hård tandsubstans, der ikke er sket som følge af caries, tandfrakturer og misdannelser. Med alderen er et langsomt fremadskridende tandslid en normal fysiologisk proces, som kan forværres ved tab af kindtænder pga. øget belastning på resttandsættet (1) Således afspejler tandslid vores livsstil, fødevalg, tandpleje, arbejdsforhold, skader, sygdomme, og om tænderne har været brugt til specielle gø- remål.

**Juni 2014**

**Beskriv hvad der menes med kritisk ph ? og hvorfor denne IKKe er den samme i forskellige væsker.? Angiv den gennemsnitlig kritiske ph værdi for menneskespyt og forklar hvorfor der er individuelle forskelle i denne værdi ? Beskriv hvilken betydning disse forhold kan have for caries processen.**

Ved kritisk pH menes den pH værdi til hvilken en oløsning lige er mættet ift et specifikt mineral. Kritisk pH kan kun appliceres på væsker der er i kontakt med et specifikt mineral fx emalje. Dene værdi afhænger af koncentrationer af calcium og phosphat, og derfor varierer denne værdi fra væske til væske og fra individ til individ.

Gennemsnitlig kritisk pH værdi for menneskespyt: 5,5, men den varierer grundet variation i indholdet af ioner i spyttet hos forskellige individer.

Hvis man har et højt indhold af ionerne i spyttet skal der mere syre til for at bevirke en demineralisering og derfor er den kritiske pH værdi lavere end hos indivder med lavere koncentrationer af ionerne.

**Juni 2014**

**Med hensyn til ph værdien i den anaerobe dentale plaque som kan medføre demineralisering henholdsvis remineralisering af tandemalje beskriv da:**

1. **Bakterielle processer der medføre et ph fald i dental biofilm og hvilke forhold der i særlig grad kan accelerer disse processer.**

Bakteriererne danner 2 pyruvat pr glucose ved glycolyse. Under anaerobe forhold reduceres pyruvat til laktat (der sker nenlig en ophobning af reducerede coenzymer og desuden stimulerer akkumulation af F1,6BP laktatdehydrogenase).

Laktat dehydrogenase: Pyruvat + NADH+H+ --> laktat + NAD+

Pyruvat lyase katalyserer desuden omdannelsen af pyruvat til acetylCOA+ format ved lav sukkerkoncentration. AcetylCoA + p--> acetylfosfat

Acetylfosfat + ADP --> acetat + ATP

AcetylCoA kan også omdannes til ethanol via acetaldehyd under produktion af to oxiderede coenzymer, 2NAD+.

Acetat og laktat er lavmolekylære syre der vil medføre et pH fald under anaerobe forhold. Laktat er en stærkere syre, lavere pKa og laktatproduktion acceleres under anerobe forhold og høj sukkerkoncentration, hvorfor pH vil falde mere i dette tilfælde.

1. **Konkrete eksempler på bakterielle processer der vil medføre en ph stigning i dental biofilm.**

Ved fermentering af arginin og ved decarboxylering af aminosyrer produceres der base, som vil ændre pH i biofilmen. Fermentering af arginin: arginin fermenteres ikke ved parvis fermentering. Det indgår som substrat i baseproducerende reaktioner. Arginin + H20 --> citrullin + nh3Citrullin + Pi --> carbamyol + ornithincarbamyol-P + ADP --> ATP + NH3 + Co2. Ved dissse reaktioner dannes altså 2NH3 og det resulterer i en pH stigning. Ved lavt pH induceres bakterielle decarboxylaser som decarboxylerer aminosyrer under dannelse af ildelugtende aminer. AS --> amin + CO2. Der er sket en eliminering af carboxylsyregruppen ved denne decarboxylering og der er derfor et baseoverskud som forårsager pH stigning

**JUNI 2014**

**Opg.2**

Tilstedeværelse af nitrogen er meget vigtig for bakterievækst samt overlevelse. Barkterierne har specifikke mekanismer til at nedbryde nitrogenholdige stoffer, fx urea og proteiner i spyttet . Den normale nitrogen metabolisme for alle aminosyrer , untaget arginin, betegnes stickland reaktion(SLR). Nedbrydningen af arginin er speciel og reaktionskaskaden betegnes arginin deiminase pathway se figur og giver bakterien 1 atp samtidig med at ph øges. Produktet der dannes af mekanismen er putrescin og er ildelugtende. Ph stigningen skyldes hhv dannelse af 2 NH2 samt decarboxylering af ornithin (aminosyre) til putrescin( amin). Aktiviteten af bakteriel decarboxylase øges ved lav ph- værdi i biofilmen. Denne øgning er hensigtsmæssig fra et bakterielt perspektiv, da en alt for lav ph værdi vil kunne udrydde mange bakterier.

Proteolytisk metabolisme, særlig af urea giver **2NH3 + CO2.** NH3 er en base. NH3 kan omdannes til NH4+ og indgå i dannelsen af aminosyrer. Aminosyrer der ikke bruges i proteinmetabolismen kan fermenteres parvis under anaerobe forhold. Argining fermenteres separat. Desuden kan der ske decarboxylering af aminosyrer. Parvis fermenteringAminosyre + NAD--> oxosyre + NH3 + NADHOxosyre + NAD CoA--> acetylCoA +NADH CO2AcetylCoA + ADP--> ATP + CoA + acetat + CO2Der dannes syre og base --> udligner hinanden. fermentering af argininArginin --> Citrullin + NH3Citrullin -->ornithin + carbamoylPCarbamoylP +ADP--> NH3 + ATP + C2Der dannes to baser --> pH falderDecarboxylering af aminosyre:Aminosyre --> amin + Co2fx ornithin --> putrescin + CO2.Da der sker en elimnering af carboxylsyregruppen vil der være et baseoverskud som resulterer i pH stigning. pH stigning kan ske ved fermentering af argininArginin + H20 --> citrullin + NH3Citrullin + Pi --> carbamoyl + ornithin Carbamoyl-P + ADP --> ATP + NH3 + CO2. Ved sticklandsreaktioner sker der både produktion af base og syre, hvorfor pH ikke vil ændre sig markant.

**Juni 2014**

1. **Forhold der er særligt grad kan medfører at enten den ene eller anden process er dominerende.**

I Supragingival biofilm, hvor der er højt tilgængelighed af sucrose, vil der dannes en tyk og lukket plak med anaerobe forhold dybest. Et lager af ekstracellulære polysaccharider vil desuden fungere som energireservoir for bakterierne. Disse saccharolytiske bakterier vil under disse forhold fremme et pH fald.

I subgingival plak findes særligt proteolytiske bakterier som nedbryder og dermed udnytter aminosyrer fra saliva/gingivalvæskle, bakteriel syntese og proteiner fra matrix (biofilmmatrix). Tilgængelighed af proteiner vil favoriserer proteolytisk metabolisme hos proteolytiske bakterier.

**AUg 2014 figur**

**Aminosyrer og pH i plaquevæske**

**1. Decarboxylering af aminosyrer har været fremført som en mulig**

**mekanisme til genopretning af en lav pH-værdi i plaquevæsken.**

**Gør rede for denne sammenhæng.**

Ved decarboxylering af en aminosyre dannes en amin samt CO2.

Eksempelvis: ornithin --> putrescin + CO2.

Der er sket en fjernelse af carboxylsyregruppen ved denne decarboxylering og der er derfor et baseoverskud, der forårsager en pH stigning.

Decarboxylering af aminosyre:Aminosyre --> amin + Co2fx ornithin --> putrescin + CO2.Da der sker en elimnering af carboxylsyregruppen vil der være et baseoverskud som resulterer i pH stigning

Basedannelse i biofilmen og dermed pH stigning:

* Hydrolyse af urea vha. enzymet urease (reaktion er opskrevet længere nede)
* Arginin metabolisme vha. arginindeminase system (ADS), en reaktion som bakterier under anaerobe forhold kan bruge til dannelse af 1 ATP samt dannelse af 2 ammoniak (base).
* Decarboxylering af aminosyrer vha. carboxylaser, aktive ved lav pH
* Urea stammer fra spyt, omdannes til 2 ammoniak (NH3) og CO2 vha. bakterielle ureaser

Reaktion: Urea + H2O -> 2 ammoniak (NH3) + CO2

* Arginin: omdannes af ADS til ornithin, 2 NH3 og CO2 under dannelse af ATP

Arginin kan vha. følgende reaktion omdannes til ornithin og carbamoylfosfat

Arginin + H2O -> citrullin + NH3

Citrullin + Pi -> Carbamoylfosfat + ornithin

Carbamoylfosfat + ADP -> CO2 + ATP + NH3

Bakterien kan bruge denne pathway til ATP dannelse under anaerobe forhold

Ammoniak NH3 er en base – baseoverskud -> stigning i pH

Pathway kan induceres vha. Arginin supplementation, tanken bag tilsætning til tandpasta

Ornithin kan decarboxyleres til putrescin som følgende:

Ornithin -> putrescin + CO2

Putrescin er basisk og giver dårlig ånde (ildelugtende)

Decarboxylase enzym aktiveres ved lav pH.

Decarboxylering resulterer i netto basedannelse

**2. Nogle tandpastaer er tilsat arginin.**

**Gør rede for rationalet der ligger til grund for dette.**

**Redegørelsen skal omfatte reaktionsligningerne i ”arginine**

**deiminase pathway” samt en forklaring på, hvorfor denne ”pathway” kan tænkes at hæmme caries-processen.**

At arginin kan få pH til at stige. Substrat til arginin fermentering.

Nedbrydningen af arginin er speciel og reaktionskaskaden betegnes arginin deiminase pathway se figur røde hæfte og giver bakterien 1 atp samtidig med at ph øges. Produktet der dannes af mekanismen er putrescin og er ildelugtende. Ph stigningen skyldes hhv dannelse af 2 NH3 samt decarboxylering af ornithin (aminosyre) til putrescin (amin). Aktiviteten af bakteriel decarboxylase øges ved lav ph-værdi i biofilmen. Denne øgning er hensigtsmæssig fra et bakterielt perspektiv, da en alt for lav ph værdi vil kunne udrydde mange bakterier.

Fermentering af arginin:

Arginin --> Citrullin + NH3Citrullin -->ornithin + carbamoylPCarbamoylP +ADP--> NH3 + ATP + C2Der dannes to baser --> pH falder

**Aug 2014**

**Mundtørhed (hyposalivation) er en alvorlig bivirkning ved mange**

**former for psykofarmaka-terapi og- strålebehandling.**

**En patient henvender sig i din praksis med tydelige symptomer på**

**effekter af mundtørhed: misfarvede tænder, blister-dannelse og**

**fremskredet caries.**

**Før du tilrettelægger en egentlig behandlingsplan, har du en**

**indledende samtale med vedkommende om spyttets funktion i forhold**

**til at opretholde den orale sundhedstilstand**.

**1. Angiv nogle forskellige komponenter i saliva som har følgende**

**effekter: Modvirker demineralisering af emaljen, tilfører bufferkapacitet**

**og virker antibakterielt (nogle komponenter kan godt**

**have to effekter**).

Antibakterielt: *sIgA (sekretorisk iga), lysozym, agglutin, laktoferrin*

Modvirker demineralisering af emaljen: elektrolytter *overmættet phosfat og calcium*

Tilfører bufffer kapacitet: Modstår ph forandringer, *phosfatsystemet samt bicarbonatsystemet* (bicarbonat system virker ved lavere ph end phosphatsystemet)

Organiske komponenter

* Antibakterielle spytproteiner bindes til pelliklen e.g. peroxidase, lysozym, lactoferrin, cystatin der kan påvirke bakterievækst og metabolisme
* Lactoferrin: jern chelator, hæmmer bakterie metabolisme
* Cystatin: protease inhibitor, hæmmer bakteriernes evne til at metabolisere spytproteiner
* Lysozym: kan ødelægge bakteriens cellevæg
* Peroxidase: kan nedbryde h20 for at omdanne thiocyanat til hypothiocyanat som virker antibakterielt.

Ikke egentlig spyt effekt:

* Flour i spyt, oprindeligt fra tandpasta eller flourideret drikke – kan optages af bakterier ved lav pH binder intracellulært Mg+2 som kræves for enzymet enolase
* Enolase katalyserer dannelse af phosphoenolpyruvat (PEP), kræves for PTS systemet fungerer.
* Optag af glukose hæmmes og dermed kan syreproduktion reduceres

2**. Mindst to komponenter fra hver effekt-kategori skal anføres**

**samt en forklaring på komponentens virkning**

Lysozym virker ved at ødelægge bakteiernes cellevæg, laktoferrin binder jern som bakterierne bruger til deres metabolisme

Buffer : Virker på den måde at de buffer syre fra de sukkerfermenterende orale mikroorganismer. Phosfatens tilstandsform påvirkes af ph i saliva. Dvs ved ph 7.5-6 har størstedelen af phosfaten formen dihydrogen H2PO4- og monohydrogen HPO42- phosfat.

Når ph falder stiger koncentrationen af H+, hydrogenphosfaten vil binde en hydrogen ion og ændres til en dihydrogenphosfat ion. Så hvis der er nok monohydrogen til at reagere med H+, vil ph ikke falde yderligere.

Bicarbonatsystemet virker ved lavere ph omkring 6 og optager H+ efter følgende reaktion:

H+HCO3- <=>H2CO3<=>CO2+H2O .

B. systemet virker bedst ved stimuleret saliva da koncentrationen af bicarbonat stiger med stigende flow rate.

**AUG2013**

**~~1)Angiv hvilke enzymer, der kan være tilsat til enzymtandpasta i Danmark og angiv de processer de katalyserer.~~**

~~Det såkaldte peroxidase-thiocyanat-system findes fysiologisk i saliva og fungerer bl.a. som en slags »afgiftningsmekanisme« for hydrogenperoxid (H2O2), som er en potentiel cellegift der dannes under cellers og bakteriers stofskifteprocesser. Afgiftningen sker ved at H2O2 reagerer med thiocyanat katalyseret af enzymet lactoperoxidase og omdannes til hypothiocyanit, som er væsentlig mindre toksisk end H2O2. Hypothiocyanitten virker imidlertid som en enzymhæmmer i den anaerobe glykolyse~~

~~Til det første system hører dekstranaser, mutanaser og proteolytiske enzymer. Problemet er imidlertid at enzymerne ikke retineres i mundhulen og derfor ikke får tid til at virke. Det andet princip der benytter sig af peroxidase-thiocyanat-systemet, har ikke i korte kontrollerede undersøgelser kunnet give entydige resultater (42,43), og langtidsundersøgelser findes ikke.~~

**[2] Angiv hvilke processer enzymerne dextranase og mutanase katalyserer og forklar hvilken rolle sådanne enzymer kunne have i tandpasta.**

 that dextranase-producing oral bacteria may affect sucrose-dependent colonization of S. mutans on the tooth surface

Mutanase: in dental plaque may affect the synthesis and structure of sticky, extracellular glucans.

**AUG 2013 Glycolyse i anaerob dental plaque**

**[1] Angiv de reaktioner, der i glycolysen giver anledning til produktion af ATP (Phosphorylering på substratniveau).**

To reaktioner giver anledning til ATP produktion, phosphorylering på substratniveau:

1,3-diphosphorglycerat + ADP --> 3-phosphorglycerat + ATPphospherenolpyruvat (PEP) + ADP --> pyruvat + ATP.Da der bruges to ATP for hvert mol glucose og dannes fire ATP ernettoresultatet 2 ATP

**[2] Angiv på hvilken måde pyruvat kan omdannes og give yderligere[3] produktion af ATP, når der ikke er tilstrækkelig med sukker tilstede.**

svaret Pyruvat kan oxideres til acetylCoA som først og fremmest kan gå videre i TCA, hvor der dannes reducerede coenzymer som kan oxideres i Elektrontransportkæden og give ATP.

ekstra

Nogle bakterier besidder en unik transportmekanisme , hvor glukose kan transporteres intracellulært . Fosfattransferase (PTS) er et system , som aktivt kan transportere glukose intracellulært. Systemet har meget høj affinitet for glukose. Ekstracellulær glukose transporteres ind via PTS , hvor det undervejs bliver fosforyleret af fosfoenolpyruvat(pep) til glukose -6-fosfat. Glukose -6-fosfat kan herefter en kort kaskade omdannes tilbage til 2\* pep vha enolase. Den ene PEP forbliver uændret og hjælper med at få endnu et glukose molekyle intracellulært. Den anden PEP vil omdannes til pyruvat under dannelse af ATP. Det dannede pyruvat kan herefter indgå i TCA -cyklus , hvormed bakterien kan høste ATP.**(ved lav ph kan system ikkE anvendes, her har nogle bakter fx s.mutans protonmortivforce system som virker ved ph 5.5 glukose transport i symport med h+**)

**[4] Forklar om hvorledes omdannelsen af pyruvat ved underskud af sukker påvirker tandoverfladen i forhold til ved overskud af sukker.**

Glukoseoverskud

Pyruvat omdannes til laktat vha. enzymet laktat dehydrogenase som aktiveres af fruktose-1,6,bifosfat som vil ophobes ved glukoseoverskud. Laktat har pKa 3,86

Glukoseunderskud (s.14)

Ved glukoseunderskud vil enzymet pyruvatformat-lyase aktiveres PFL (hæmmes normalt af glycerolaldehyd-3-fosfat) og pyruvat omdannes til eddikesyre og ethanol. Eddikesyre har pKa 4,76

Der dannes også andre lavmolekylære syrer så som smørsyre, myresyre og propasyre

**Maj 2013**

**Sucrose og anaerobe sucrose-metabolisme i biofilmBesvarelsen skal omfatte:[1] En forklaring på hvorfor sucrose er speciel i forhold til udvikling af biofilm på tænderne.**

Sucrose er et disaccharid bestående af glucose og fructose og det indeholder en høj energirig binding. Denne energirige bindning i sukrose forklarer hvorfor molekylet har større patogen effekt mht dannelse af ekstracellulære polysakkarider. Da den frie energi i andre disakkarider som maltose laktose er mindre kan der ikke ske en polymerisation. Den høje energirigbinding i sukrose spaltes af bakterielle enzymer glukosyl transferase (dextran sukrase) og fruktosyl transferase(levan sukrase) i biofilmen. Der udvindes energi til polymerisation af ekstracellulære polysaccharider samt et frit monosaccharid der kan indgå i metabolismen.

Glucose polymeriseres til glucaner. Her er der tale om to typer, **dextraner og mutaner**. Dextraner er vandopløselige, giver plakken en strukturel funktion og gør den klæbrig og genlatinæs. Mutaner er vandUopløselige.

Fructose polymeriseres til levaner. Det betyder altså at bakterierne har et energireservoir (leavaner) og indlejret i et stillads af ekstracellulære polysaccharider som har en gelfiltrationseffekt. Organiske syrer tilbageholdes i biofilmes, mens glukose og urea diffunderer ind i plakken. Sucrose ændrer derfor strukturen af biofilmen markant.

**[2] En redegørelse for den bakterielle, anaerobe sucrose-metabolisme. Redegørelsen skal omfatte kardinalenzymer og ultimative produkter i tilfælde af henholdsvis overskud og underskud af sucrose.**

Ved anaerob sucrosemetabolisme vil sukkeret (glucose, fructose) indgå i glycolysen og omdannes til 2 pyruvat pr glucose. Glucose fosforyleres til G6P og fructose fosforyleres til F6P.

Ved overskud af sucrose: Høj sukkerkoncentration resulterer i dannelsen af laktat. Laktatdehydrogenase katalyserer omdannelsen af pyruvat til laktat under oxidation af NADH+H+. Laktat dehydrogenase stimuleres af frucotse16BP.

Lav sukkerkoncentraion: Pyruvat omdannes til acetylCoA og Format af pyruvatformatlyasen. AcetylCoA omdannes til acetylfosfat under oxidation af NADH+H+. Acetylfosfat + ADP --> ATP + acetat. Desuden kan der også dannes ethanol som dannes fra acetaldehyd der dannes under samtidig oxidation af NADH+H.

Der dannes lavmolekylære organiske syrer.

Laktat er en stærkere syre en acetat.

**[3] En forklaring på hvordan de ultimative produkter ved anaerobe sucrose-metabolisme påvirker tandemaljen, herunder om der er forskel på påvirkningen ved henholdsvis overskud og underskud af sucrose**

De ultimative produkter er lavmolekylære organiske syrer som kan resultere i demineralisering af tandemaljen. Laktat er en stærkere syre end acetat og resulterer derfor i et større pH fald. Resultatet er at hvis ionproduktet af plakvæsken falder til mindre en emaljens opløselighedprodukt, vil mætningsgraden være mindre end 1 og der sker deminarlisering.

Mælkesyre: HL <--> H+ + L-. Laktat reagerer med calcium, H+ reagerer med fosfat og OH og fjerner disse komponenter fra ligevægten. Hydroxyllappatit opløses.

**Maj 2013**

**Spyttet er en væsentlig faktor i relation til begrænsning af cariesudvikling.[1] Beskriv hvorledes spyttet sandsynligvis kan beskytte den rene emaljeoverflade mod dannelse af biofilm.**

**[2] Angiv nogle komponenter i spyttet som virker bakterie hæmmende og beskriv hvilken type stoffer der er tale om.**

Antibakterielt: *sIGA (sekretorisk iga), lysozym, agglutin, laktoferrin*

*Lysozymer : ødelægger bakteriens cellemembran*

Lactoferin: binder jern som bakterierne skal bruge i deres metabolisme

**[3] Beskriv hvorledes spyttet kan være med til at begrænse pH fald under anaerob sucrose-metabolisme i biofilm.**

Spyttet kan være med til at *begrænse ph fald* ved sukker clearance, spytsekretionshastigheden,buffersystemerne samt bakteriernes nitrogen metabolisme. Dette resulterer i en modvirkning af ph fald, da bakterierne gør brug af kulhydrat og danner syre under anaerobe forhold. De anaerobe forhold opstår som følge af den opnåede tykkelse af biofilmen, som fungerer som et lukket system i de dybere lag. Oral clearance er essientiel på dette stadium , da den medvirker til fjernelse af kulhydrat, som via føden kommer i munden.Herved gøres kulhydraterne utilgænglige for bakterierne i de dybere lag.

Bicarbonatsystemet/buffersystemet virker ved lavere ph omkring 6 og optager H+ efter følgende reaktion: H+HCO3- <>H2CO3<>CO2+H2O .

B. systemet er med til at begrænse ph udsving og virker bedst ved stimuleret saliva da koncentrationen af bicarbonat stiger med stigende flow rate**.**

**[4] Forklar hvordan spyttet efter anaerob sucrose-metabolisme i biofilm kan være med til at remineraliser demineraliseret emalje.**