



Eksamen i biokemi - SODB16042E

69

09 juni 2022

Planlagt: 14:00 - 18:00

Eksamensnr: 69

Plads: ITXM-075

Side 1 af 13

Opgave 1 – Ketonstoffer

Under længerevarende faste er fedtsyreoxidation leverens vigtigste energikilde. Størstedelen af det dannede acetyl-CoA videreomsættes til ketonstoffer. Overvejende β -hydroxybutyrat.

Idet ATP-udbyttet ved oxidation af NADH og FADH₂ i respirationskæden sættes til henholdsvis 2,5 og 1,5 ATP fås følgende ATP-regnskab for oxidation af palmitat til CO₂:

| | |
|---------------------------|---------|
| Palmitat | |
| ↓ trin 1 | -2 ATP |
| Palmitoyl-CoA | |
| ↓ trin 2 | 28 ATP |
| 8 acetyl-CoA | |
| ↓ trin 3 | 0 ATP |
| 4 acetoacetat | |
| ↓ trin 4 | -10 ATP |
| 4 β -hydroxybutyrat | |
| <hr/> | |
| I alt | 16 ATP |

a) Gør rede for hvorledes ATP-udbyttet i trin 1, 2 og 4 er beregnet.

Trin 1:

I trin 1 har vi at gøre med en inaktiveret fedtsyre. Inaktiveret fedtsyren i denne reaktion er palmitinsyre og for at den skal aktiveres og blive til palmitoyl-CoA, forbruges der 2 ATP og det sker ved følgende reaktion:



Trin 2:

Palmitoyl-CoA har 16 carbonatomer, hvorimod acetyl-CoA har 2 carbonatomer og netop derfor skal der bruges 8 acetyl-CoA ($16/2=8$).

Palmitoyl-CoA til 8 acetyl-CoA ved følgende reaktion:



- B-oxidationen er nedbrydning af fedtsyrer og denne reaktion sker i mitokondrierne og den har et ATP udbytte på 28ATP. Her vil carnitin transportere 8acetylCOA til mitokondrierne.

Trin 4:

Acetoacetat er en ketonstof som kan blive til b-hydroxy-butyrate eller acetone. Acetone udåndes.

Ved omdannelsen fra acetoacetone til b-hydroxy-butyrate forbruges 2.5 ATP og det skyldes at NADH forbruges.

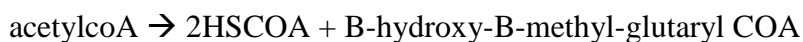
8acetyl-coa giver 4 acetoacetat som ingen ATP kræver, dog vil 4 acetoacetat omdannes til 4 hydroxy-butyrate- acetat og det sker ved denne reaktion:

- $4\text{acetoacetat} + 4\text{NADH} \rightarrow 4\text{-b-hydroxy-butyrat} + 4\text{NAD}^+$
Denne reaktion er en del af ketogenesen som er dannelsen af ketonstoffer. B-hydroxy-butyrat er en af ketonstoffer som hjernen kan benytte sig af ved langvarig faste. Reaktionen katalyseres af hydroxy-butyrate dehydrogenase.

b) Redegør for delreaktionerne i trin 3, herunder hvorfor der skal 2 acetyl-CoA til at danne 1 acetoacetat (enzymnavne, vand og CoA behøves ikke at blive medtaget i delreaktionerne).

1 acetyl-COA består af 2 carbonatomer, hvorimod acetoacetat består af 4 Carbonatomer og derfor skal der benyttes 2 acetylcoA

Dannelsen af ketonstoffer sker ved følgende reaktioner:



- Ved denne reaktion er der ikke dannet ketonstoffer endnu.
- Denne reaktion kræver ingen ATP.



- Nu består den af 4 carbonatomer, da der tilføjes ved omdannelse af acetyl-COA til acetoacetat.

Det antages at leveren under faste kan dække sit daglige energibehov ved omdannelse af 0,6 mol palmitat (molmasse 256 g/mol) til acetoacetat.

2. Beregn

a) Hvor mange g palmitat dette svarer til.

$$0.6 \text{ mol} * 256 \text{ g/mol} = 153 \text{ g}$$

b) Hvor mange mol ATP denne omsætning danner.

Der dannes 26 ATP og derfor siges
 $26 * 0.6 \text{ mol} = 15.6 \text{ ATP}$

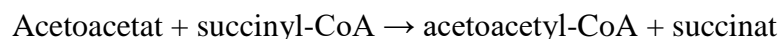
c) Hvor mange mol β -hydroxybutyrat, der dannes.

Der dannes lige mange mol for β -hydroxybutyrat som der dannes for acetoacetat eftersom 4 acetoacetat giver 4 β -hydroxybutyrat

ATP-regnskabet for forbrænding af β -hydroxybutyrat ser således ud:

| | |
|-------------------------|----------|
| β -hydroxybutyrat | |
| ↓ Trin 1 | 2,5 ATP |
| Acetoacetat | |
| ↓ Trin 2 | -1 ATP |
| Acetoacetyl-CoA | |
| ↓ Trin 3 | 0 ATP |
| 2 acetyl-CoA | |
| ↓ Trin 4 | 20 ATP |
| 4 CO ₂ | |
| <hr/> | |
| I alt | 21,5 ATP |

Reaktionsligningen for trin 2 er:



3. a) Forklar hvorfor ATP-forbruget i trin 2 er sat til -1.

Ved trin 2 er ATP -1, det vil sige der dannes 1 ATP. Reaktionen for denne omdannelsen ser således ud:

Acetoacetat + succinyl-COA + ADP → acetoacetyl-COA + succinat + ATP.

Der dannes 1 ATP fra omdannelse af acetoacetat til acetyl-COA.

b) Redegør for ATP-udbyttet på 20 ATP for trin 4-

Ved forbrændingen af 1 acetylCOA har man et ATP udbytte på 10ATP. Ved forbrændingen af 2acetyl-COA har man at gøre med et ATP-udbytte på 20ATP:

Denne reaktion sker ved hjælp af TCAcyklus og i denne cyklus har man at gøre med vigtige enzymer blandt andet citratsyntetase som danner citrat og herfra begynder TCA-cyklus. Enzymet isocytrat dehydrogenase og alfaketoglutat dehydrogenase kompleks er ligeledes nogle vigtige enzymer som er med til at regulerer TCA-cyklus. Disse enzymer hæmmes af for meget energi, det vil sige NADH, ATP, FADH₂ hæmmer disse enzymer.

Nettoligning for fuldstændig forbrænding af 2acetylCOA til CO₂ vil ses som nedenstående: (forsimplet version).



- 6 NADH * 2.5 = 15 ATP
- 2FADH₂ * 1.5 = 3 ATP
- 2ATP * 1 = 2 ATP
- I alt = 20 ATP

Hjernens daglige energiforbrug kan dækkes af 120 g glukose. Ved længerevarende faste kan størstedelen (men ikke hele) energibehovet dækkes af ketonstoffer.

4. **a) Beregn ATP-udbyttet ved forbrænding af 120 g glukose (molmasse 180 g/mol), idet ATP-udbyttet er 32 ATP/glukose.**

$$120 \text{ g} * 180 \text{ g/mol} = 0.67 \text{ mol}$$

$$0.67 * \text{mol} * 32\text{ATP} = 21,4 \text{ ATP}$$

- b) Beregn hvor mange mol β-hydroxybutyrat, der skal til for at dække 80 % af hjernens energibehov, og sammenlign med leverens produktion i opgave 2c.

5. **Angiv hvilke væv, der ud over hjernen kan forbrænde ketonstoffer samt hvorfor ketonstoffer ikke kan anvendes som brændstof for erythrocytter.**

- Leveren danner ketonstoffer, hvor hjernen nedbryder ketonstoffer ved langvarig faste. Uodver hjernen så har man også muskelvævet som kan nedbryde ketonstoffer.
- Den eneste proces som giver energi til erythrocytter er via anaerob glykolyse, hvor glukose nedbrydes til laktat og det sker ved et ATP-udbytte på 2ATP.

Opgave 2 – Enzymregulering

1. **Angiv hvilke af følgende enzymer, der er aktive i leveren efter et kulhydratrig måltid og hvilke, der er hæmmede:**

a) Acetyl-CoA carboxylase

Aktiveres

b) Carnitin-palmitoyltransferase-1

Hæmmes

c) Fosfofruktokinase

Aktiveres

d) Fruktose-1,6-bisfosfatase

aktiv

e) Glukose-6-fosfatase

Hæmmes

f) Glykogensyntase

Aktiveres

g) Glykogenfosforylase

Hæmmes

h) PEPCK (fosfoenolpyruvat carboxylase)

Hæmmes

i) Pyruvat dehydrogenase

Aktiveres

j) Pyruvatkinase

Aktiveres

2. Angiv hvilke af disse enzymer, der er:

- **Aktiveret af fruktose-2,6-bisfosfat**
- Fosforfruktokinase
- **Hæmmet af malonyl-CoA**
- **Reguleret trin i fedtsyreoxidation**
- Carnitin-palmitoyltransferase-1
- **Reguleret trin i fedtsyresyntese**
- Acetyl-coa carboxylase
- Pyruvat dehydrogenase

3. Redegør kort for trinnene i optag og lagring af glukose som glykogen i lever og muskel, herunder de insulinafhængige trin og forskellen på lever og muskel.

Ved tale om kulhydrater er der 4 vigtige processer:

Glukoneogenesen → Dannelse af glukose

Glukolysen → Nedbrydning af glukose

Glykogenesen → Dannelse af glykogen

Glykogenolyse → Nedbrydning af glykogene

Glukose oplagres i leveren i form af glykogen og det sker ved hjælp af glykogenesen.

Glukose + ATP → glukose-6-P

- Denne reaktion katalyseres ved følgende: I leveren sker fosforylering af glukose af glukokinase som er et enzym med lav affinitet, da leveren ikke vil beholde glukose og derfor er den langsom om at påsætte fosfat-gruppen på således den kan forlade cellen. Glukokinase stimuleres af glukose og hæmmes af FFA. Derudover findes glukose i leveren (hepatisk)
- I muskler vil fosforylering af glukose ske ved hjælp af hexokinase. Hexokinase er et

ekstrahepatisk enzym som findes udenfor leveren og den har en høj affinitet. Derudover hæmmes dette enzym af glukose-6P

Glukose-6-P → Glukose-1-P

- Denne reaktion katalyseres af enzymet phosphogluko mutase, som forflytter placering af fosfatgruppen i glukosemolekylet.

Glukose-1-P + UTP → UDP-Glukose + 2P

- Denne reaktion katalyseres af UDP-glukose Pyrophosforylase

UDP-glukose → Glykogen + UDP

- Denne reaktion katalyseres af enzymet glykogen syntetase. Dette enzym kan både være i a-form hvor det er aktivt eller b-form hvor det er relakseret. Glykogen syntetase enzymet er aktivt når det ikke har en fosfatgruppe på sig og det er relakseret når det har en fosfatgruppe på sig.

Insulin stimulerer fosfatase til at dephosforilere glykogen syntetase således det bliver aktivt. Hvorimod glucagon stimulerer PKA til at fosforileret enzymet således det kommer i relakseret form. Derfor så siges at insulin stimulerer glykogenesen og glucagon hæmmer glykogenesen. Glykogensyntetase danner alfa-1,4- bindinger

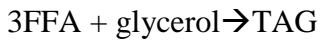
Derudover kan man også tale om afgreningsenzymet. Dette enzym kan både virke som en hydrolase og transferase. Ved hydrolase så klipper den bindinger mellem glykogenenheder og ved transferase så forflytter den glukoseenheder. 12 glukosemolekyler udfør et forgreningsmolekyle. Denne nedbryder alfa-1,6-bindinger.

- Transport af glukose i leveren og muskler sker ved hjælp af GLUT-transportører. I muskler har vi at gøre med GLUT4 og disse er ikke insulinafhængige. Hvorimod i leveren har vi at gøre med GLUT2 transportør og de er insulinafhængige.
- Muskler er adrenalin afhængige, hvorimod leveren både er adrenalin og glucagon afhængige

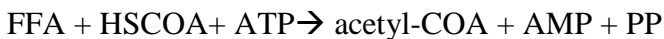
4. Redegør kort for trinnene i lagring af triacylglycerol i fedtvæv, herunder kilder til fedtsyre- og glukosedel samt betydningen af lipoproteinlipasen og glukosetransportereren GLUT4.

TAG dannes i fedtvæv ved lipogenesen og TAG i nedbrydes i fedtvæv ved lipolysen.

Oplagring af TAG sker ved dannelsen af TAG i fedtvæv og det sker ved hjælp af lipogenesis. Dannelsen af TAG i fedtvæv sker ved:

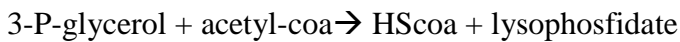


3FFA skal aktiveres og det koster 2ATP at aktivere FFA således den bliver til acetylCoA:

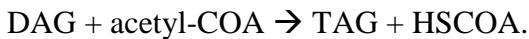
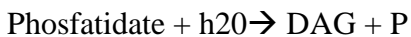


Derfor er ATP udbytte 6 ATP, da vi har at gøre med aktivering af 3FFA.

Dernæst vil 3FFA og glycerol gå sammen således det danner TAG og det sker ved følgende:



- Det skal lige næves at fedtvæv ikke kan fosforylere sit glycerol og dette er netop sket ved hjælp af Dihydroxy-acetone-P som stammer for glykolyzen. Så ved nedbrydning af glukose kan fedtvævet anskaffe sit fosforileret glycerol ved hjælp af DHAP og Dette koster 2.5 ATP for at fosforilerer glycerol



Når der indtages et måltid som indeholder TAG bliver det absorberet i lumen og for det skal absorberes i lumen skal det nedbrydes og derefter gendannes og nedbrydelsen sker ved en hydrolyse, hvor enzymet pancreatisk lipase træder til og klipper i $\text{TAG} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{FFA} + \text{MAG}$.

Når TAG er gendannet så skal det transporteres i blodbanen og dette sker ved hjælp af nogle lipoproteinpartikler, benævnt chylomikron og VLDL.

Lipoproteinpartikler består af kolesterol, proteiner og fosforlipider på ydersiden og på indersiden består den af TAG, Colesterol ester og Fedtoløselige vitaminer (K, E,D,A)

- TAG bliver frigivet til tarmen i form af chylomikron
- TAG bliver frigivet af leveren i form af VLDL

Chylomikron er det største lipoproteinpartikel og da blodbanen af hydrofil og TAG er hydrofob så vil den hjælpe TAG med at transportere den ved at pakke den ind i lipoproteinpartikler.

På chylomikronet får det tilsat apo-c og apo e som stammer fra HDL og derudover får den b48. Apo c vil stimulere enzymet LPL som kaldes lipoproteinlipasen. LPL er forankret i endothelets kapilær og den vil spalte $\text{TAG} \rightarrow 3\text{FFA} + \text{glycerol}$.

3FFA sendes til fedtvæv og muskler og glycerol vil sendes til leveren således det skal hjælpe med at danne glukose ved hjælp af glukogenesis. Når Apo-c har udført sin funktion så sendes den tilbage til HDL. Nu er TAG's mængde nedsat dog vil mængderne af colesteroleser og fedt opløselige vitaminer være den samme. Derefter vil chylomikronet kaldes kylomikron-rest og den vil ved hjælp af apo-e sendes til leveren via LDL-receptorer via receptor medieret endocytose.

Derudover har man også VLDL og det er transporten af TAG fra leveren til blodbanen. VLDL får også påsat apo-c og apo-e, dog vil den få B100 tilsat i stedet. Apo-c vil gøre præcis det samme og spalte TAG → 3FFA og glycerol.

Derefter vil VLDL bliver 50% IDL og 50% LDL.

IDL vil også spalte TAG dog sker dette ved hjælp af hepatisk lipase. Nu Har LDL kun b100 tilbage og den vil transporteres til perifært væv, da perifært væv også har nogle LDL-receptorer. Her vil 25% af denne absorberes i perifært væv, hvorimod de resterende 75% transporteres tilbage til leveren via LDL-receptor og det sker ved transportmekanismen receptor medieret endocytose.

Glukosetransportøren GLUT4 er en transportør som transportere glukose ind i blandt andet fedtvæv. Denne transportør er insulinafhængig.

Opgave 3

Spyt har forskellige funktioner i forhold til begrænsning af cariesudvikling.

1. Forklar hvordan spyt kan reducere mængden af bakterier, der kan danne en biofilm på emaljeoverfladen kort tid efter rensning af tanden.

Tandens overflade er starter med at være positivt ladet på det øverste lag finder man negativt ladet fosfationer. I mødet med saliva vil calcium er være tilbøjelig til at opløses og disse calcium ioner vil tiltrækkes af fosfationerne. Calciumionerne vil udgøre hydrationslaget. Derefter vil positivlag af calcium ioner kommer i kontakt med glykoproteiner fra spyt således tandoverfladens ladning bliver negativ. Her vil bakterierne prøve at adhærere til men da bakterier i sig selv er negativt ladet, så vil det medfører til en elektrisk afstødning, hvor 90% færre bakterier vil adhærer til tandens overflade. Dog vil bakterierne i kontakt med saliva blive mindre negativ og hydrofob således at kolonisationen vil muliggøres fra de uspecifikke og specifikke bindinger. De uspecifikke bindinger er hydrobe interaktioner og van der Waals bindinger som muliggøre adhæsion. Derudover er der de uspecifikke bindinger som sker ved hjælp af fimbrae/ pili som stammer fra bakterien. Disse vil binde til tandens overfladereceptorer og udgøre en irreversibel binding.

2. Beskriv hvordan spyt kan modvirke dannelse af syre og fremme pH stigning efter syredannelse i en anaerob biofilm, der er ca. en uge gammel.

Spyttet kan modvirke et højt pH fald ved hjælp af forskellige processer.

Kroppen indeholder nogle buffersystemer og disse vil være med til at neutralisere pH'en. Der findes 3 buffersystemer, fosfatbufferen, proteinbuffer og bicarbonatbufferen.

Buffersystemer:

Proteinbuffer som virker bedst ved pH=5

Fosfat bufferen virker bedst ved pH=7

Bicarbonat bufferen virker bedst ved pH=6 $\rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$

Derudover indeholder nogle bakterier såsom *S. salivarius* høj urease aktivitet hvilket er også med til at danne baser og medvirke til PH stigning.

Urease-aktivitet:

$\text{Urea} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$

Til slut er der også arginin deiminase pathway. Denne pathway nedbryder arginin således der dannes baser og hermed modvirker dannelse af stort pH fald:

ADI- pathway

Arginin \rightarrow NH_3 + citruline

Denne proces katalyseres af enzymet arginin deiminase

Citruline + P \rightarrow Carbomyl-P + ornithine

Carbomyl-P + ADP \rightarrow ATP + NH_3 + CO_2

Ornithine + H^+ \rightarrow Putrescin + CO_2

- Nu er der dannet baser og der kan ske neutralisering af den lave pH der er dannet.

3. Forklar hvordan spyt kan bidrage til remineralisering af emalje, der er blevet demineraliseret som følge af syredannelse i biofilmen.

Mennesker indeholder forskellige koncentrationer af spyt. Nogle mennesker indeholder store koncentrationer af natrium, calcium og fosfat ioner, derfor vil deres kritisk pH være lavere og derfor er det svære for dem at nå en demineralisering hvor der sker opløsning af emalje. Derfor siges at personer med høj ionkoncentrationer er mindre disponeret for carries udvikling, derimod er de mere disponeret for udvikling af tandsten.

Personer som har lave koncentrationer af ioner i spytet har derfor højere kritisk pH og derfor er de mere disponeret for caries.

Derudover indeholder spytet nogle proteiner som er med til at hæmme bindingen af bakterier.

4. Angiv 3 proteiner, der findes i spyt, som kan reducere bakteriel vækst eller binding af bakterier til biofilmen.

- Lactoferrin som binder til jern
- IgA som er et antistof og den agglutinerer
- Lysozym som ødelægger cellemembranen

Opgave 4

I en anaerob biofilm kan nogle bakterier danne mælkesyre (laktat), eller eddikesyre (acetat),

myresyre (formiat) og ethanol ud fra glukose.

1. Forklar under hvilke forhold der vil hovedsageligt dannes mælkesyre (laktat) og under hvilke forhold der vil hovedsageligt dannes eddikesyre (acetat), myresyre (formiat) og ethanol.

Ved anaerobe forhold vil der dannes syre ved sukkertilgængelighed. Det som afgør hvilke syre som dannes afhænger af sukkertilgængeligheden.

Ved høj sukkertilgængelig vil der være højt glykolytisk aktivitet. Derfor vil der være ophobning af GAP og F16BP. F16BP er aktivator for enzymet laktat dehydrogenasen og vil så danne laktat som også kaldes mælkesyrer. Derudover vil GAP hæmme enzymet pyruvat format lyase således der sker delvis nedproduktion af eddikesyrer som fungerer som en buffer og derudover vil der ikke dannes ethanol, smørsyre og myresyre.

Hvorimod ved lav sukkertilgængelig vil det modsatte ske. Der vil være lav glykolytisk aktivitet, hvilket medfører til at laktat dehydrogenase mangler sin aktivator som er F16BP og derfor vil det ikke være muligt at danne mælkesyre, derudover vil GAP ikke have muligheden for at hæmme pyruvat format lyase og derfor vil ethanol, smørsyre og myresyre dannes og der vil ske en øgelse af eddikesyreproduktion.

Det vil sige at ved sukkertilgængelighed vil der ske lavt pH fald, men det er langt mere ekstremt under højt sukkertilgængelighed sammenlignet med lav sukkertilgængelighed

2. Forklar hvor langt pH i plakvæsken (biofilmvæsken) omtrentligt skal falde for at der kan ske demineralisering af den underliggende emalje.

Ved demineralisering så sker der opløsning af emaljen og det skyldes at pH er kommet under den kritiske pH som normalt ligger på 5.5, men i biofilm er den kritiske pH på 5 og derfor skal den derunder dvs omkring $\text{pH} = 4.7$ før der sker en demineralisering.

Ved demineralisering er der tale om en undermætning og det vil sige at opløselighedsproduktet er større end ionproduktet og derfor medvirker det til opløsningen af emaljen.

3. Forklar hvor meget pH efter endt syreproduktion omtrentligt skal stige i plakvæsken for at der kan ske remineralisering af demineraliseret emalje.

Den skal være over 5 i biofilm før der kan ske en remineralisering af emaljen. Ved remineralisering sker der udfældning af mineraler og det sker når ionproduktet er højere end opløselighedsproduktet.