



06 juni 2024

Planlagt: 14:00-18:00

Eksamensnr: 23

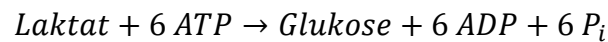
Plads: EH-0157

Side 1 af 10

Opgave 1 – Faste

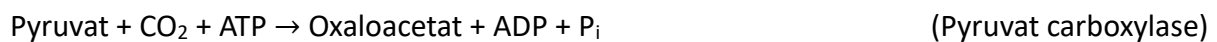
Ved længerevarende faste er glukoneogenese eneste kilde til blodglukose

- a) Opskriv en afstemt ligning for omdannelse af laktat til glukose. Ligningen skal være korrekt afstemt mht. glukose, laktat, ATP, ADP og uorganisk fosfat (Pi), men vand og H⁺ skal ikke medtages, eventuelle GTP/GDP erstattes af ATP/ADP.



- b) Angiv de 4 enzymer, som indgår i omdannelsen af laktat til glukose, men ikke indgår i den modsatte proces (glukose til laktat).

Under glukoneogenesen anvendes flere forskellige substrater (ketogene aminosyrer, såsom alanin, glycerol eller laktat), hvorved glukose dannes. Her indgår 4 irreversible enzymer, som er med til at sikre, at der ikke forløber glykolyse samtidigt med glukoneogenese. De fire irreversible enzymer er følgende:



- c) Angiv mindst en allosterisk aktivator eller hæmmer for 2 af disse enzymer.

Fructose-1,6-di-phosphatase hæmmes allosterisk af koncentrationen af Fructose-2,6-di-P. Koncentrationen af Fructose-2,6-di-P afhænger af det bifunktionelle enzym, *phosphofruktokinase II*. Dette enzym stimuleres af insulin, som stimulerer kinasen. Herved dannes Fructose-2,6-di-P, hvilket stimulerer *phosphofruktokinase I* allosterisk positivt, hvorved glykolyse forløber. Modsat spiller glukagon en rolle, som aktiverer phosphatasen, hvilket resulterer i en lavere koncentration af Fructose-2,6-di-P.

Dermed hæmmer koncentrationen af Fructose-2,6-di-P allosterisk negativt den irreversible reaktion, katalyseret af Fructose-1,6-di-phosphatase. En høj glukagon/insulin ratio vil dermed opregulere glukoneogenesen.

Derudover stimuleres Fructose-1,6-di-phosphatase allosterisk positivt af koncentrationen af citrat.

Pyruvat carboxylase hæmmes allosterisk af koncentrationen af oxaloacetat, hvilket er et eksempel på en af de vigtigste anapleuriske reaktioner.

Ligeledes stimuleres phosphoenolpyruvatcarboxylase allosterisk positivt af koncentrationen af oxaloacetat.

- d) Angiv hvorledes muskel og fedtvæv kan forsyne leveren med forbindelser, der kan anvendes som glukoneogenesesubstrater (kulstofkilder) og energikilde (ATP-produktion) i glukoneogenesisen.**

Under glukoneogenese vil leveren kunne anvende forskellige kilder til at danne glukose. Herunder gælder det at ketogene aminosyrer kan omdannes ved hjælp af en transamineringsreaktion, hvorved pyruvat dannes. Her kunne alanin eller aspartat eksempelvis anvendes som glukoneogenesesubstrater. Et eksempel på denne transamineringsreaktion ses herunder:



Derudover kan glycerol anvendes som glukoneogenesesubstrat. Glycerol frigives blandt andet ved nedbrydning af triacylglycerol (TAG) til frie fedtsyrer og glycerol. Her kan dette indgå i glukoneogenesisen, som samtidigt er det mest favorable glukoneogenesesubstrat sammenlignet med laktat og alanin. Laktat og alanin er begge glukoneogenesesubstrater, som forbruger ATP. Derimod udvindes 3 ATP ved at bruge glycerol som substrat i glukoneogenesisen.

- e) Angiv et hormon, der henholdsvis aktiverer og hæmmer glukoneogenesisen i lever.**

Som beskrevet i opgave c, da spiller insulin og glukagon ratioen en rolle i metabolismen. Disse koncentrationer har en indvirkning på det bifunktionelle enzym, *phosphofruktokinase II*.

Opsummerende virker insulin ved at opregulere glykolysen, mens glukagon opregulerer glukoneogenesisen.

Opgave 2

Det antages at hjernen dagligt omsætter 20 mol ATP.

- a) **Beregn hvor mange mol af ketonstoffet β -hydroxybutyrat, der skal til for at dække 70 % af hjernens energibehov, når fuldstændig oxidation af β -hydroxybutyrat til CO_2 giver 21,5 ATP.**

Først udregnes den del, som ketonstofferne skal dække:

$$20 \text{ mol ATP} \cdot 0,7 = 14 \text{ mol ATP}$$

Der fås en ATP produktion på 21,5 ATP ved fuldstændig oxidation af β -hydroxybutyrat, som skal dække hjernens forbrug på 14 mol ATP:

$$n_{\beta\text{-hydroxybutyrat}} = \frac{14 \text{ mol ATP}}{21,5 \text{ ATP}} = 0,651 \text{ mol}$$

Der skal dermed bruges 0,651 mol β -hydroxybutyrat til at dække 70% af hjernens energibehov på 20 mol ATP.

- b) **Beregn hvor mange mol og gram palmitat (molmasse 256 g/mol), der skal til for at danne dette (begge tal skal anføres).**

Forholdet mellem palmitat og β -hydroxybutyrat er 1:4, hvorfor molmassen for β -hydroxybutyrat divideres med 4:

$$n_{\text{palmitat}} = \frac{0,651 \text{ mol}}{4} = 0,163 \text{ mol palmitat}$$

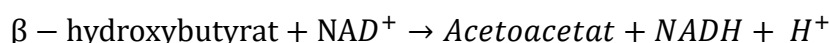
For at finde massen af palmitat anvendes følgende formel:

$$m_{\text{palmitat}} = n \cdot M = 0,163 \text{ mol} \cdot 256 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 43,14 \text{ g palmitat}$$

Der skal dermed anvendes 0,163 mol palmitat og 43,14 g palmitat for at danne 0,651 mol β -hydroxybutyrat til at dække 70% af hjernens energibehov.

- c) **Redegør for hvorledes omsætningen af β -hydroxybutyrat giver 21,5 ATP, idet det antages, at oxidation af NADH og FADH_2 giver henholdsvis 2,5 og 1,5 ATP.**

β -hydroxybutyrat giver 21,5 ATP ved fuldstændig oxidation til CO_2 . Et β -hydroxybutyrat molekyle omdannes til 2 Acetyl-CoA, idet β -hydroxybutyrat består af 4 carbonatomer modsat Acetyl-CoA, som består af 2 carbonatomer. Nedenstående reaktion viser første trin i omsætningen:



Denne oxidoreduktase er katalyseret af *hydroxybutyrat dehydrogenase*, hvor denne reaktion giver 2,5 ATP (1 NADH). Herefter omdannes acetoacetat til Acetoacetyl-CoA, hvor denne reaktion forbruger ATP. Denne transferase, som er katalyseret af *3 ketoacyl-CoA transferase*,

udnytter omdannelsen af Succinyl-CoA til Succinat. Denne reaktion forbruger 1 ATP, hvorfor der nu ses et nettoudbytte på 1,5 for omsætningen indtil videre.

De 2 dannede Acetyl-CoA indgår i TCA-cyklus, hvor disse begge producerer 10 ATP (3 NADH, 1 FADH₂, 1 ATP).

Hermed opnås et samlet netto ATP udbytte på 21,5 ATP. Ovenstående forklaringer samt beregninger fremgår af nedenstående skema:

β -hydroxybutyrat				
<i>Hydroxybutyrat dehydrogenase</i>	↓	→ 1 NADH	X 2,5	+ 2,5 ATP
Acetoacetat				
<i>3 ketoacyl-CoA transferase</i>	↓	→ -1 ATP	X 1	- 1 ATP
Acetoacetyl-CoA				
<i>Acetyl-CoA acetyl transferase</i>	↓			
2 Acetyl-CoA				
	↓	→ 6 NADH	X 2,5	+ 15 ATP
<i>TCA-cyklus</i>	↓	→ 2 FADH ₂	X 1,5	+ 3 ATP
	↓	→ 2 ATP	X 1	+ 2 ATP
4 CO ₂				
I alt:				+ 21,5 ATP

- d) Opskriv en afstemt ligning for oxidation af NADH i respirationskæden uden at medtage ATP-dannelse. Vand og H⁺ skal også afstemmes.



- e) Redegør (gerne med tegning) for de processer, hvormed NADH-oxidation fører til ATP-dannelse (oxidativ fosforylering). Subcellulær lokalisering skal fremgå.

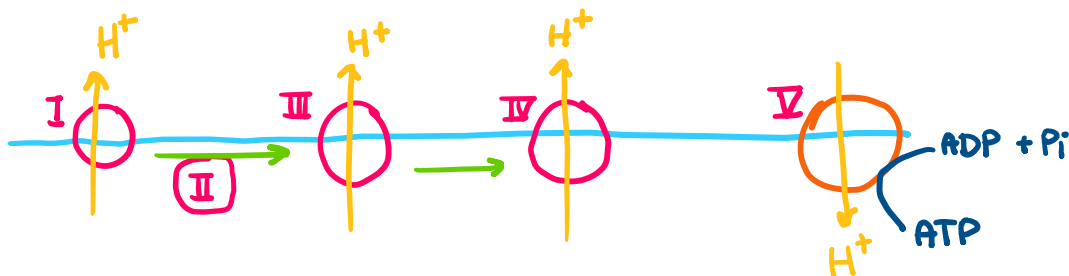
Den oxidative fosforylering foregår i cellernes mitokondrier. Mitokondriet er opbygget af en ydre og indre membran. Herimellem ligger det intermembranøse rum. Den ydre membran

er delvist permeabel, grundet dets indhold af cardiolipin. Den indre membran er impermeabel, hvorfor elektrontransportkæden kan gøre brug af dens impermeabilitet til at danne en elektrokemisk gradient.

Elektrontransportkæden består af 5 komplekser, hvoraf fire af disse spiller en rolle i NADH-oxidationen. Det første kompleks (*NADH-ubiquinone reductase*) udnytter den lave koncentration af H^+ i det intermembranøse rum, hvor denne pumper 4 H^+ ud. Derudover videreføres 2 elektroner til næste kompleks (faciliteret af *coenzym Q* – markeret med grøn pil på tegning). Komplex II er ikke transmembrant, men her reduceres $FADH_2$. Komplex III (*Ubiquinol-cytochrom c reductase*) pumper ydermere 4 H^+ ud i det intermembranøse rum. Her anvendes *cytochrom C* til transport af de to elektroner (grøn pil). Slutteligt pumpes 2 H^+ gennem kompleks IV (*cytochrom oxidase*). Hermed har reduktionen af NADH ført 10 H^+ ud til intermembranøse rum faciliteret af kompleks I, III og IV.

Herefter udnyttes den elektrokemiske gradient over membranen til at drive ATP-synthasen, som er kompleks V. Her omdannes $ADP + P_i$ til ATP. Derudover anvendes ilt til at reducere de 10 H^+ til vand. Jævnfør spørgsmål 2d dannes 5 H_2O af de 10 H^+ og 5 O_2 . Ydermere dannes 2,5 ATP.

Denne oxidationsproces gennem elektrontransportkæden ses forsøgt tegnet nedenfor. Den blå linje skal forestille den indre mitokondriemembran. De gule pile angiver retning af transporten af H^+ .



Oral Biokemi

Opgave 3

a) Forklar i korte træk hvordan en biofilm kan dannes på en tandoverflade og angiv herunder hvilke væsentlige komponenter den er sammensat af.

På den rensede emaljeoverflade dannes pelliclen. Emaljeoverfladen er netto negativt ladet grundet dens indhold af negativt ladet phosphationer. Hertil binder positivt ladet calciumioner fra spytet, hvorfor nettoladningen bliver positiv. Hertil binder negativt ladet spytproteiner, hvoraf de første til at binde er sure prolin-rige proteiner og statheriner. Denne binding medfører igen en negativt ladet overflade. Denne elektrokemiske frastødning frastøder op til 90% af bakterier, idet disse ligeledes er negativt ladet.

Dog kan nogle bakterier godt danne, hvoraf disses binding er svag, reversibel og uspecifik (f.eks. *Van der Walls*). Bakterierne er typisk gram positive streptokokker som *s. mitis*, *s. sanguinis*, *s. oralis*, *s. gordonii m.fl.* Bakterierne befinder sig 10 nm fra pelliclens overflade, og såfremt deres initiale binding ikke bliver brudt, da kan de binde sig via irreversible, stærke, specifikke bindinger (polymerbroer, hydrofobe bindinger, og calciumbroer). Polymerbroerne dannes af bakteriernes adhæsiner; fimbriale (fimbriae/pili) eller a-fimbriale (glycocalyx). Til disse bakteriers binding vil andre bakterier binde via co-aggregation.

Bakterierne vil indlejres i matrix, idet de producerer ekstracellulær matrix (ECM), intra- og ekstracellulære proteiner (IPS og EPS). Biofilmen bliver mere klæbrig, adhærerende og impermeabel.

Såfremt biofilmen bliver acidurisk og cariogen vil bakterier som *s. mutans*, *lactobacillus*, *actinomyces* og *veillonella* være tilstede i biofilmen.

b) Forklar hvilke konsekvenser det har for tandemaljen under biofilmen, hvis pH i biofilmvæsken falder til en lavere værdi end biofilmvæskens kritiske pH værdi med hensyn til hydroxylapatit (mht. HAp).

Biofilmsvæskens kritiske pH-værdi mht. HAp er 5.0, hvilket angiver forholdet hvor ionaktivitetesproduktet mht. HAp er lig med opløselighedsproduktet mht. HAp. Dette medfører ligeledes en mætningsgrad på 1.



pH-værdien kan falde under 5.0 grundet flere forskellige faktorer, herunder anaerob bakteriel kulhydratmetabolisme. Her dannes mælkesyre/laktat, hvor laktat (HL) kan diffundere igennem emaljelaget. Efter indtrængen i emaljelaget kan HL dissociere til en H⁺ ion samt en laktation, L⁻. H⁺ kan blandt andet binde til phosphationen. L⁻ kan binde til calcium, hvorved *calciumlaktat* dannes. Calciumlaktat kan frit dissociere ud af emaljelaget igen, hvorved en af ionkomponenterne i HAp mistes. Processen, hvor mælkesyre diffunderer ind i emaljelaget kan medføre en initial carieslæsion (*subsurface læsion*).

Ionaktivitetsproduktet mht. HAp er nu lavere end opløselighedsproduktet mht. HAp, hvilket medfører at mætningsgraden er under 1. Dette medfører demineralisering af emaljen.

c) Angiv hvilket forhold der vil være mellem ionaktivetsproduktet og opløselighedsproduktet mht. HAp i den situation der er beskrevet under opgavens punkt b).

Ved demineralisering af emaljen vil ionaktivetsproduktet mht. HAp være mindre end opløselighedsproduktet mht. HAp. Dette medfører at mætningsgraden er under 1.

Opgave 4

a) Redegør for bakterielle processer, der fører til pH fald i den dentale biofilm ved henholdsvis høj og lav tilgængelighed af fermenterbare kulhydrater i biofilmen. Angiv endvidere en enzymaktivering/enzymhæmning, der har betydning for hvilken af de to processer, der finder sted.

Ved aerob bakteriel kulhydratmetabolisme omdannes kulhydrater ved fuldstændig oxidation til CO₂ og vand. Ved anaerob bakteriel kulhydratmetabolisme omdannes kulhydrater til laktat eller andre lavmolekylære organiske syrer – alt afhængigt af kulhydrattilgængeligheden:

Ved høj kulhydrattilgængelighed fås høje koncentrationer af Fructose-1,6-di-P og høje koncentrationer af 3-P-Glyceraldehyd. Den høje koncentration af Fructose-1,6-di-P stimulerer *laktatdehydrogenasen (LDH)*, mens den høje koncentration af 3-P-Glyceraldehyd hæmmer *pyruvatformatlyasen (PFL)*. LDH danner laktat af pyruvat, som ydermere giver et ATP udbytte på 2 ATP.

Ved lav kulhydrattilgængelighed fås lave koncentrationer af Fructose-1,6-di-P og lave koncentrationer af 3-P-Glyceraldehyd. Den lave koncentration af Fructose-1,6-di-P hæmmer laktatdehydrogenasen (LDH), mens den lave koncentration af 3-P-Glyceraldehyd stimulerer pyruvatformatlyasen (PFL). PFL danner propionsyre, methansyre, smørsyre og eddikesyre, hvilket giver bakterien et netto ATP udbytte på 3 ATP.

b) Redegør for to bakterielle processer, der kan føre til en efterfølgende pH stigning i biofilmvæsken.

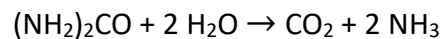
Bakterier, som udtrykker *arginindeiminase pathway (ADI-systemet)* kan anvendes til at øge pH-niveauet i biofilmvæsken igen. Bakterier som udtrykker dette system er blandt andre *s. gordonii* og *s. mitis*. Her udnyttes bakteriernes omdannelse af arginin til citrullin, som efterfølgende omdannes til carbamoyl-P og ornithin ved de følgende reaktioner:

1. Arginin + H₂O → Citrullin + NH₃
2. Citrullin + P → Carbamoyl-P + Ornithin
3. Carbamoyl-P + ADP → CO₂ + ATP + NH₃

4. Ornithin + H⁺ → Putrescin + CO₂

Den første reaktion, arginindeiminase, omdanner arginin til citrullin, hvorved ammoniak frigives. Frigivelsen af ammoniak er brugbar til at øge pH-værdien, idet denne binder frie sure H⁺ ioner til sig. Dette udbytte af ammoniak ses ligeledes i reaktion 3, hvor der samtidigt frigives 1 ATP. Reaktion 4 er et eksempel på en decarboxylase, hvor ornithin binder frie H⁺ under dannelsen af den ildelugtende putrescin. Putrescin er ligeledes med til at øge pH-værdien i biofilmsvæsken. Decarboxylaser virker kun ved lave pH værdier (4-6). En lignende decarboxylase reaktion er omdannelsen af lysin til cadaverin, som tjener samme formål.

En anden bakteriel proces, som kan øge pH-niveauet i biofilmsvæsken er *urease*. Her nedbryder bakterierne urea og vand til kuldioxid og ammoniak:



Herved dannes ammoniak, som kan binde H⁺ til sig. Dette medfører til øgning af pH-værdien i biofilmsvæsken.

c) Forklar hvordan fluorid ioner kan påvirke bakterielle processer, der fører til pH fald i biofilmen.

Som tidligere redegjort for medfører høj kulhydrattilgængelighed dannelsen af laktat, hvormed dette kan medføre demineralisering af emaljen. Vigtigt for denne kulhydratmetabolisme er bakteriernes evne til optagelse af fermenterbare kulhydrater. De kan optage kulhydrater på to måde; *fosfotransferasesystemet (PTS)* og *proton motive force (PMF)*.

PTS fungerer ved normale pH-værdier samt en lav kulhydratkonzentration (da denne er mættet selv ved lave koncentrationer). PTS optager glukose i cellen som fosforyleres. Herefter omdannes dette via glykolyse til 2 x 2-P-glycerat. Den videre omdannelse af 2-P-glycerat til PEP (phosphoenolpyruvat) katalyseres af enzymet *enolase*. De to dannede PEP molekyler har nu hver sin skæbne. Det ene PEP molekyle bruges til at transportere et nyt glukosemolekyle ind via enzymkomplekset. Det andet PEP omdannes til laktat og kan på den måde indgå i demineraliseringsprocessen, som det blev gennemgået i opgave 3b.

Fluorid kan hæmme enzymet enolase, hvorved dette inaktiveres. Dette nedsætter omdannelsen af 2-P-glycerat til PEP, hvilket medfører at PEP molekylerne ikke kan anvendes til kulhydratmetabolisme samt ny transport af glukose ind i cellen til yderligere kulhydratmetabolisme. Fluorid spiller derfor en essentiel rolle i nedregulering af bakteriernes syredannende processer.

Det andet kulhydrattransportssystem, PMF, fungerer ved aciduriske pH værdier, mens dette ikke afhænger af fluorid. Dette anvender i stedet den elektrokemiske gradient, idet pH værdien i EC er lavere end i IC. Dette medfører faciliteret transport af glukosemolekyle ind i cellen ved samtidig transport af H^+ .

En af grundene til at fluor tilsættes *tandpasta* (i form af NaF og/eller *natriummonophosphatfluorid*) skyldes evnen til at hæmme enolasen under fosfotransferasesystemet. Derudover kan fluor indgå i hydroxyapatitkrystallerne som FAp eller FHAp, hvor dette medfører en lavere kritisk pH-værdi på 4.5. Dette medfører, at krystallerne kan overleve længere ved lavere pH værdi end HAp før der sker en eventuel demineralisering.