



Eksamen i biokemi - SODB16042E

23

09 juni 2022

Planlagt: 14:00 - 18:00

Eksamensnr: 23

Plads: ITXM-087

Side 1 af 11

**Opgave 1 – Ketonstoffer**

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

Idet ATP-udbyttet ved oxidation af NADH og  $FADH_2$  i respirationskæden sættes til henholdsvis 2,5 og 1,5 ATP fås følgende ATP-regnskab for oxidation af palmitat til  $CO_2$ :

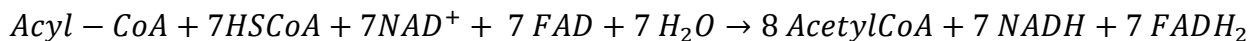
Palmitat	
↓ trin 1	-2 ATP
Palmitoyl-CoA	
↓ trin 2	28 ATP
8 acetyl-CoA	
↓ trin 3	0 ATP
4 acetoacetat	
↓ trin 4	-10 ATP
<b>4 <math>\beta</math>-hydroxybutyrat</b>	
<hr/>	
<b>I alt</b>	<b>16 ATP</b>

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

Trin 1: Under omdannelsen af palmitat til palmitoyl-CoA, også kaldet aktivering, bruges der 2 ATP, i det der dannes et AMP.



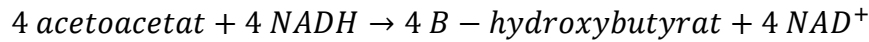
Trin 2: Palmitoyl-CoA omdannelsen til 8 Acetyl-CoA kaldes  $\beta$ -oxidation og finder sted i mitokondriet. Her ses reaktionen således ud:



Der dannes 7xNADH svarende til 17,5 ATP og 7xFADH<sub>2</sub> svarende til 10,5 ATP. I alt er der en udbytte på 28 ATP.

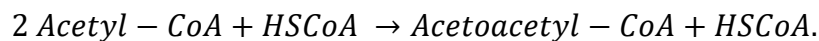
Trin 3: Omdannelsen af 8 Acetyl-CoA til 4 acetoacetat er ikke energi krævende, derfor er der en udbytte på 0 ATP.

Trin 4: Denne trin koster 10 ATP, da der bruges 4x NADH a 2,5 ATP.

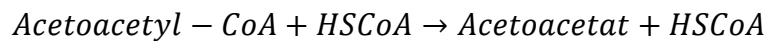


- b) Redegør for delreaktionerne i trin 3, herunder hvorfor der skal 2 acetyl-CoA til at danne 1 acetoacetat (enzymnavne, vand og CoA behøves ikke at blive medtaget i delreaktionerne).**

Reaktioner foregår over 2 trin. Først går 2 acetyl-CoA sammen med HSCoA og danner Acetoacetyl-CoA. Men under denne proces frigives et HSCoA



Under trin 2 går acetoacetyl-CoA med endnu et HSCoA, og der frigives et HSCoA som produkt.



Dette vil sige, at der er i alt er opbrugt 4 HSCoA for dannelsen af 1 Acetoacetat, men da 2 frigives undervejs så vil netto omkostning være 2 HSCoA. Derfor skal der 2 Acetyl-CoA til, for at kunne danne 1 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.**

For at finde den opbrugte mængde af palmitat i gram bruges følgende formel:

Massen(palmitat) = molaremassen\*stofmængden.

$$256\text{g/mol} * 0,6 \text{ mol} = 153,6 \text{ g.}$$

- c) Hvor mange mol ATP denne omsætning danner.**

For omdannelsen af 1 mol palmitat til 4 acetoacetat får vi en omsætning på 26 ATP. Da leveren kan nøjes med 0,6 mol, så vil omsætningen ligge på:

$$0,6\text{mol}/1\text{mol} * 26\text{ATP} = 15,6 \text{ ATP.}$$

- d) Hvor mange mol  $\beta$ -hydroxybutyrat, der dannes.**

For at finde stofmængden af den dannet  $\beta$ -hydroxybutyrat ud fra en palmitat stofmængde på 0,6 mol, skal der forholdet mellem disse to stoffer beregnes.



Ud fra de opstillede reaktioner vil forholdet mellem palmitat og  $\beta$ -hydroxybutyrat være 1:4. Det vil sige:

$n(\beta\text{-hydroxybutyrat}) = 0,6 \text{ mol} \cdot 4 = 2,4 \text{ mol}$ .

**ATP-regnskabet for forbrænding af  $\beta$ -hydroxybutyrat ser således ud:**

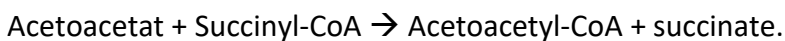
$\beta$ -hydroxybutyrat	
↓ Trin 1	2,5 ATP
Acetoacetat	
↓ Trin 2	-1 ATP
Acetoacetyl-CoA	
↓ Trin 3	0 ATP
2 acetyl-CoA	
↓ Trin 4	20 ATP
4 CO <sub>2</sub>	
<hr/>	
I alt	21,5 ATP

**Reaktionsligningen for trin 2 er:**



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

Dette skyldes aktivitet af enzymet 112: 3-ketoacyl-CoA transferase, under følgende reaktion:



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

Der fås en udbytte på 20 ATP, da hvert cyklus/ fuldstændig oxidation af 1 acetyl-CoA giver en omsætning på 10 ATP. Disse ATP kommer af dannelsen af: 3X NADH a 2,5 ATP = 7,5 ATP

1X FADH<sub>2</sub> a 1,5 ATP

1X GTP → ATP

Det vil sige i alt 2x 10ATP = 20 ATP for fuldstændig oxidation af 2Acetyl-CoA

**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.**

For at beregne ATP udbyttet af forbrændingen af 120g glukose, skal dette omregnes til mol. Dette gøres via formlen:

$n(\text{glukose}) = \text{massen} / \text{molaremassen}$

$120\text{g} / 180\text{ g/mol} = 0,67\text{ mol.}$

ATP udbyttet for fuldstændig forbrænding af hvert mol glukose er

32 ATP, hvorfor ATP udbyttet for 0,67 mol glukose er:

$$\frac{0,67\text{mol}}{1\text{mol}} * 32\text{ ATP} = 21,44\text{ ATP.}$$

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

Hjernens energibehov svarer til 21,44 ATP. Da ketonstoffer kun dækker 80% svarer dette til:

$$21,44\text{ATP} * 0,8 = 17,152\text{ ATP.}$$

Dette vil sige at hjernen har brug for en energiomsætning på 17,15 ATP fra forbrændingen af B-hydroxybutyrat. Vi ved fra tidligere (fra tabellen), at omsætningen af 1 mol B-hydroxybutyrat giver en ATP udbytte på 21,5 ATP. Da hjernen kun skal bruge 17,152 ATP så svarer dette til:

$$\frac{17,15\text{ ATP}}{21,5\text{ ATP}} = 0,79\text{ mol B - hydroxybutyrat}$$

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

Nervevæv og muskelvæv kan også forbrænde ketonstoffer. Erythrocytter kan ikke anvende ketonstoffer, da de ikke indeholder mitokondrier og dermed ikke er i stand til at oxidere dem. Ketolyse kan generelt foregå i alle celler med mitokondrier undtagen hepatocytter.

## 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**

- b) Carnitin-palmitoyltransferase-1**
- c) Fosfofruktokinase**
- d) Fruktose-1,6-bisfosfatase**
- e) Glukose-6-fosfatase**
- f) Glykogensyntase**
- g) Glykogenfosforylase**
- h) PEPCCK (fosfoenolpyruvat carboxylase)**
- i) Pyruvat dehydrogenase**
- j) Pyruvatkinase**

Aktive:

- a (fordi den øger FFA syntese)
- c (fordi den øger/stimulerer glykolyse)
- d (fordi den stimulerer pyruvatkinase)
- f (stimulerer glykogenese)
- i (stimulerer Acetyl-CoA dannelsen og øger ATP-dannelsen)
- j (stimulerer omdannelsen af PEP til Pyruvat)

Hæmmede:

- b (fordi den ellers vil øger B-oxidation og nedbrydning af FFA)
- e (fordi den ellers vil hæmme forsyning af glukose)
- g (fordi den ellers vil stimuleres glykogenlyse)
- h (fordi den ellers vil stimulere glukoneogenese)

**2. Angiv hvilke af disse enzymer, der er:**

- **Aktiveret af fruktose-2,6-bisfosfat** (aktiverer enzym c).
- **Hæmmet af malonyl-CoA** (hæmmer enzym a)
- **Reguleret trin i fedtsyreoxidation** (enzym b)
- **Reguleret trin i fedtsyresyntese** (enzym a)

Kun enzymer som påvirkes direkte er skrevet.

**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.**

I leveren:

Glukose optage i leveren via glut 2 receptorer. Disse receptorer er ikke insulin afhængige. Når glukose kommer ind i hepatocytter forsynes de via glukoskinase (enzym 73). Glukokinase har lav affinitet for glukose (ift. Hexokinase). Glukose bliver således fosforileret til glukose-6-P. Herefter bliver de til glukose-1-P via enzymet phosphogluko mutase (enzym 151). Herefter dannes et UDP-glukose molekyle, som skal påsættes en tidligere glykogenenhed (dog kan de også dannes de novo).  $\text{Glukose-6-P} + \text{UTP} \rightarrow \text{UDP-glukose} + 2\text{P}$ . Herefter  $\text{UDP-glukose} + \text{glykogen}_n \rightarrow \text{glykogen}_{n+1} + \text{UDP}$  (via enzymet 91: glykogensyntase).

I musklen:

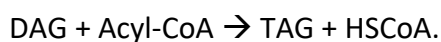
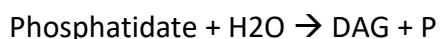
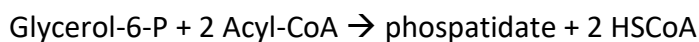
Glukose optages via glut-4 receptorer. Disse er insulinafhængige receptorer. De befinder sig i intracellulære vesikler, som fusionere med cellemembranen ved insulin binding til cellen. Herefter fosforlyeres glukose via hexokinase (som har højere affinitet for glukose). Glukose bliver til glukose-6-P og indgår derefter i glykolyse, da musklerne gerne vil opnå energi. Ved aerob glykolyse vil muskelcellerne omsætte 2 ATP og 2 NADH, hvorimod ved anaerob glykolyse vil de danne laktat med en energiomsætning på 2 ATP.

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

TAG optages gennem enterocytter som MAG og 2 FFA. Herefter bliver den gendannet til TAG i enterocytterne, hvor de pakkes ind i chylomikroner og sendes gennem lymfen til blodbanen. I blodbanen vil chylomikroner modtage Apo C og Apo E fra HDL. I Kapilæres endothel sidder der lipoproteinlipase (LPL), som vil stimuleres af at Apoc C binder til den. LPL vil derfor nedbryde TAG til 3 FFA og glycerol og ellers sende Apo C tilbage til HDL. Glycerol sendes til leveren og 3 FFA til fedtvævet.

Disse FFA aktiveres og omdannes til acetyl-CoA, hvorefter de kan indgå i reaktion med glycerol-3-P og omdannes til TAG (lipogense). Adipocytter kan ikke optage glycerol-3-p, derfor finder glukoseoptagelsen sted ved hjælp af glut-4 receptorer. Disse er som nævnt tidligere insulinafhængige. Glukose kommer ind i cellerne, fosforyles af hexokinase, og bliver til glukose-6-P, som efter flere reaktioner bliver til Dihydroxyaceton-P (DHAP). DHAP bliver til glycerol-6-P.

Følgende reaktioner finder sted:





### 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.**

Spyt bidrager til dannelsen af pellicel, som er en acellulær og bakteriefrit lag. Renset tandoverflade har  $PO_4^-$  mod overfladen, hvilket vil tiltrække calcium ioner (både fra spyt, men kan også komme fra selve tanden). Dette vil føre til dannelsen af en hydration lag, altså et dobbelt ion lag. Dette lag er nu positiv på overfladen og vil tiltrække negative spytproteiner hovedsagligt sure prolin-rige proteiner, histatiner og statheriner. Når de første proteiner er bundet til, så er pelliclen dannet og den kan nu modstå mekanisk og kemiske påvirkninger på tanden. Da overfladen er nu negativ, så vil de kolonisering af bakterier hæmmes med 90% via elektrostatisk frastødning. Desuden kan spyt modvirker kolonisering via oral clearance. En hurtigere spytflow forhindrer bakterier i at agglutinere og binde til tanden vha. muc7 og IgA.

- 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.**

Spyt kan modvirke syredannelsen ved hjælp af 3 buffersystemer:

- 1) Bikarbonatbuffersystem: Virker bedst ved en pH på 6. Binder protoner  $H^+$  til bikarbonat  $HCO_3^-$  og danner kulsyre. Herefter binder kulsyre også  $H^+$  og bliver til  $H_2O$  og  $CO_2$  som kan udåndes. Bufferkapaciteten er 50% i ustimuleret spyt, hvorimod 90% i stimuleret.
- 2) Fosfatbuffersystem: Virker bedst ved en pH ved 6,8. Binder protoner  $H^+$  til  $PO_4^{3-}$  i spyt og fører til stigning i pH. Bufferkapacitet på 50% i ustimuleret spyt og falder til ubetydelig i stimuleret.
- 3) Proteinbuffersystem: Virker bedst ved en pH på 5. Består af proteiner, som forhindrer store udsving i pH.

Spyt kan også bidrage med fluorid ioner, som kan binde til  $H^+$  og diffunderer ind i bakteriernes celler som HF. Når fluorid ioner binder sig til magnesium intracellulært så vil det hæmme enolase funktionen. Enolase stimuleres af magnesium, og bidrager til kulhydrat optagelse og metaolisme hos bakterier via PTS systemet. Nedsat funktion af enolase vil medvirke nedsat optagelse af glukose og nedsat PEP omdannelse til pyruvat. Hermed vil der ske en stigning i pH, og acidogene/acidueriske bakterier vil ikke overleve.

Spyt indeholder også Urea og arginin. Nogle bakterier har ureaseaktivitet, da de udtrykker enzymet urease, bla. *S. salivarius* og *actinomyces næslundii*. De nedbryder urea til ammoniak og fører til pH stigning.

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

Spyt kan bidrage med fluorid ioner (både fra vand men også fluoridholdige tandpasta). Fluorid ioner kan sætte sig i emaljekrystallerne og medføre dannelsen af FAp krystaller i de demineraliseret områder. De udfælder da ionproduktet bliver større end  $K_{sp}$  (opløselighedsprodukt) og plakvæsken bliver overmættet mht. Hap → hvilket fører til udfældningen.

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

Blandt andet Sure prolin-rige proteiner, lysozymer, Statheriner, histatiner, laktoferin og muciner.

#### 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 bakterier udskille den intracellulære dannet syre, for at undgå celledød. Hvilke syrer der produceres og frigives som resultat af deres metabolisme afhænger af nærings tilgængelighed.

Ved lav kulhydrattilgængelighed:

Glykolysen vil ikke finde sted i ligeså høj grad, hvilket vil føre til nedsat dannelse af f-1,6-di-P. Dette vil hæmme LDH (laktat dehydrogenase: enzym 115), og produktionen af laktat vil dermed hæmmes. Desuden så vil koncentrationen af 3-P-glyceraldehyd (3-PAG) også falde, hvilket vil stimulere PFL, som vil føre til øget dannelse af svagere syrer, herunder eddikesyre, myresyre osv.

Ved høj kulhydrattilgængelighed:

Glykolysen stimuleres af høje koncentrationer af glukose. Dette vil øge koncentrationen af f-1,6-di-P, som vil stimulerer LDH og dannelsen af laktat. Desuden vil øget koncentration af 3-PAG hæmme PFL og dermed syntesen af svagere syrer.

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

For at der kan ske en demineralisering af emaljen, skal pH i plakvæsken falde til under den kritiske pH for HAP. Den kritiske pH for HAP er 5,5. pH i plakvæsken skal derfor falde til under 5,5 for at demineralisering kan påbegyndes.

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

Selvom den kritiske pH for HAP i emaljen er 5,5 så består emaljen også af FAP. Disse er tungopløselige, og har en kritisk pH som er endnu lavere end HAP. Den ligger nemlig på 4,5. pH i plakvæsken skal blot overstige den kritiske pH for FAP på 4,5, for at remineralisering påbegyndes.