

Eksamen i biokemi - SODB16042E



1

16 august 2021

Planlagt: 09:00 - 13:00

Eksamensnr: 1

Plads: E03-014

Side 1 af 11

Opgave 1

Fedtsyrer og triacylglycerol

- a) Redegør for hvorledes fedtsyrer transporteres i blodet som henholdsvis fire uforestrede fedtsyrer og som triacylglycerol (TAG).

Efter TAG er blevet nedbrudt i tarmen af pancreas lipase, og at bestanddelene for TAG er blevet optaget af enterocytterne i tarmene, og er blevet gendannet til TAG, så vil det transporteres rundt i blodet **via lipoproteinpartikler**, nemlig grundet TAG er amfipatisk.

Specifikt kan dette være chylomikronet, som er det største lipoproteinpartikel som vi har i kroppen. Chylomikronet er opbygget af en ydre overflade, som har phospholipider, kolesterol og specifikt ApoB48, som gør overfladen blandbar med blodet. I den indre del af chylomikronet, har vi kolesterol ester og fedtopløselige vitaminer: A, D, E og K. Vi har derudover også TAG i chylomikronet som transporteres rundt i blodet.

Når chylomikronet transporteres rundt i blodet, vil der blive påsat ApoC og ApoE af HDL, hvor ApoC vil stimulere en lipoproteinlipase til at spalte TAG til 3 frie fedtsyrer og glycerol. De 3 frie fedtsyrer sendes til fedtvævet, hvor glycerol sendes til leveren. Chylomikron-resten har ApoE bundet til sig, som vil interagere med en receptor på leverens overflade, som vil igangsætte en receptor-medieret endocytose.

TAG kan også transporteres rundt i blodet fra leveren af via VLDL. Ved VLDL vil der også blive påsat ApoC og ApoE af HDL, hvor ApoC vil stimulere en lipoproteinlipase til at spalte TAG til 3 frie fedtsyrer og glycerol. De 3 frie fedtsyrer sendes til fedtvævet, hvor glycerol sendes til leveren. VLDL bliver til IDL, hvor 50 % af IDL optages af leveren via receptor-medieret endocytose som ApoE stimulerer. Her vil de resterende 50 % omdannes til LDL, hvor hepatisk lipase spalter de resterende TAG til frie fedtsyrer og glycerol. 75 % af LDL sendes til leveren og de resterende 25 % af LDL sendes ud i til det perifere væv. De vil begge optages via receptor-medieret endocytose ved hjælp af ApoB100, som er bundet til overfladen af LDL. ApoB100 interagerer med LDL-receptorer på de pågældende væv.

Hvis vi tager i betragtning af at TAG nedbrydes i lipolysen til fedtsyrer og glycerol, så vil fedtsyrerne som transporteres rundt i blodet være bundet til **albumin**.

- b) Redegør for trinnene i omdannelsen af glycerol-3-fosfat og 3 fedtsyrer til triacylglycerol og angiv energiforbruget for denne proces i ATP-ækvivalenter.

Når lipoproteinpartikler, f.eks. chylomikronet, transporteres rundt i blodet, hvor lipoproteinlipase stimuleret af ApoC spalter TAG til 3 frie fedtsyrer (FFA) og glycerol, vil de 3 frie fedtsyrer sendes til fedtvævet.

De 3 frie fedtsyrer i fedtvævet, skal aktiveres:



Glycerol kan ikke fosforyleres i fedtvævet, og derfor anskaffes det fra glukolysen under forbrug af 1 NADH, hvor glukosen omdannes til dihydroxyacetone-P (DHAP) og herefter glycerol-3-P.

Nu kan man gendanne TAG:



Hvis man skal angive energiforbruget i denne omdannelse, kan man bestemme at angive det, hvor man enten inddrager omdannelsen af DHAP til glycerol-3-P, som koster en NADH eller ej.

Derfor vil energiforbruget i omdannelsen af 3 FFA og glycerol-3-P UDEN omdannelsen af DHAP til glycerol-3-P, koste **6 ATP**.

MED omdannelsen af DHAP til glycerol-3-P vil dette give et energiforbrug på: $6 \text{ ATP} + 1 \text{ NADH} = 6 \text{ ATP} + 2.5 \text{ ATP} = 8.5 \text{ ATP}$.

- c) Redegør for hvorledes fedtvæv kan skaffe sig fedtsyrer og glycerol-3-fosfat til TAG-syntese

Fedtsyrene anskaffes fra blodet, hvor lipoproteinlipase stimuleret af ApoC har spaltet TAG til glycerol og fedtsyrer. Fedtsyrene sendes til fedtvævet.

Glycerol-3-P, anskaffes fra glukolysen, hvor glukose omdannes til dihydroxyacetone-P og dernæst glycerol-3-P. Dette er nødvendigt, da glycerol ikke kan fosforyleres i fedtvævet.

- d) Angiv hvorledes TAG i fedtvæv frigives til blodet samt hvorledes de frigivne produkter kan anvendes af leveren under faste.

TAG nedbrydes i lipolysen af hormon sensitiv lipase, hvor de frigivne produkter er glycerol og 3 frie fedtsyrer. De 3 frie fedtsyrer kan transporteres til lever og muskel via albumin, hvor leveren benytter de frie fedtsyrer (FFA) i beta-oxidationen til at danne acetyl-CoA.

Lad os tage palmitat i betragtning:



Acyl-CoA transporteres fra cytosolen til mitokondriematrix ved hjælp af transportmolekylet carnitin.

Under antagelse af palmitat:



Det ses også at der forbruges 2 ATP, dog at der dannes 28 ATP, som giver et netto ATP-udbytte på 26 ATP:

$$7 \text{ NADH} + 7 \text{ FADH}_2 = 17.5 \text{ ATP} + 10.5 \text{ ATP} = 28 \text{ ATP} - 2 \text{ ATP} = 26 \text{ ATP}$$

- e) Også leveren og tarmepitel syntetiserer TAG. Angiv på hvilken form disse væv frigiver TAG til blodet.

Leveren frigiver TAG til blodet i form af VLDL

Tarmepitelet frigiver TAG til blodet i form af chylomikronet.

Opgave 2

Glykolyse

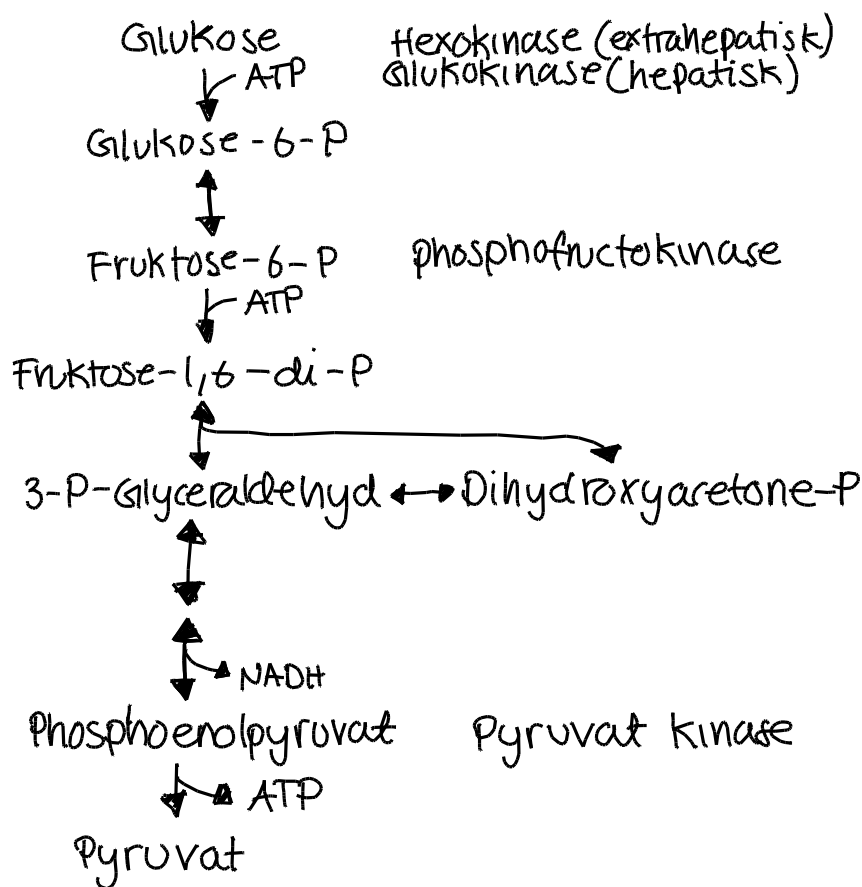
- a) Angiv afstemt reaktionsligning for omdannelse af glukose til pyruvat. Vand og H^+ behøves ikke at medtages. Beregn derudover det samlede ATP-udbytte for denne proces. Eventuelle antagelser angives.



Denne proces danner $2 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH}$.

Den overordnet glykolyse giver 4 ATP og 2 NADH. Dog vil 2 ATP benyttes i omdannelsen af glukose til glukose-6-phosphat og i omdannelsen af fructose-1-phosphat til fructose-1,6-di-phosphat.

Forsimpleret version af glukolysen opskrives:



Det ses at 3-P-Glyceraldehyd gennem flere delreaktioner omdannes til phosphoenolpyruvat (PEP).

- b) Gør rede for de 3 irreversible trin i glykolysen og forklar hvorledes energimangel vil opregulere denne proces.

Der er 3 irreversible trin i glykolysen, dette er som følgende:

- 1) $\text{Glukose} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glukose-6-phosphat} + \text{ADP}$

Denne reaktion katalyseres af hexokinase extrahepatisk og glukokinase hepatisk.

Hexokinase stimuleres af glukose/insulin, og hæmmes af glycerol-6-phosphat.

Glukosekinase stimuleres af glukose/insulin, og hæmmes af lange frie fedtsyrer.

- 2) $\text{Fruktose-6-P} + \text{ATP} \rightarrow \text{Fruktose-1,6-di-phosphat} + \text{ADP}$

Denne reaktion katalyseres af phosphofructokinase.

Phosphofructokinase stimuleres af fructose-2,6-di-phosphat og hæmmes af citrat.

Fructose-2,6-di-phosphat kan dannes og nedbrydes til fructose-1-phosphat via et bifunktionelt enzym.

Det bifunktionelle enzym stimuleres af insulin til at danne fructose-2,6-di-phosphat, og stimuleres af glukagon til at nedbryde fructose-2,6-di-phosphat til fructose-6-phosphat.

- 3) $\text{Phosphoenolpyruvat} + \text{ADP} \rightarrow \text{Pyruvat} + \text{ATP}$

Denne reaktion katalyseres af pyruvatkinase.

Pyruvat kinase stimuleres af fructose-1,6-di-phosphat og insulin, og hæmmes af alanin og glukagon. Det vil sige at enzymet reguleres både kovalent og allosterisk.

Energimangel vil opregulere denne proces, da mange væv benytter energi. Processen er til fordel for vævene, da den danner energi.

- c) Gør kort rede for energiudbyttet ved anaerob glykolyse, herunder forskellen på om udgangsstoffet er glukose eller en glykogenenhed.

Glukolyse giver overordnet et energiudbytte på $4 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH}$, dog vil der altid i den aerobe og anaerobe glukolyse, benyttes 2 ATP i starten til omdannelsen af glukose til glukose-6-phosphat og af fructose-6-phosphat til fructose-1,6-di-phosphat.

Dette ses:



Denne reaktion katalyseres af hexokinase extrahepatisk og glukokinase hepatisk.



Denne reaktion katalyseres af phosphofructokinase.

Dermed har vi nu et energiudbytte på 2 ATP + 2 NADH, dog vil vi i **den anaerobe glukolyse**, ydermere benytte de 2 NADH til at omdanne de 2 pyruvat til 2 laktat. På denne måde får vi også reoxideret vores NADH til NAD^+ . Den anaerobe glukolyse kører, når vi ikke har ilt tilstede eller mitokondrier.

Udgangsstoffet er således **glukose**. Dette er grundet at hvis udgangsstoffet var en glykogenenhed ville energiudbyttet være 3 ATP og ikke 2 ATP. Dette ses da:



Denne reaktion er katalyseret af glykogen phosphorylase



Denne reaktion er katalyseret af phosphoglucomutase

Nu kan den fosforylerede glukose-6-phosphat indgå i glukolysen. Det ses at der ikke skal bruges 1 ATP på at fosforylere glukose til glukose-6-phosphat, da den allerede er fosforyleret, og derfor vil ATP-udbyttet hvor udgangsstoffet er en glykogenenhed være lig 3 ATP.

- d) Gør rede for oxidation af pyruvat til CO_2 og angiv processens ATP-udbytte. Beregn ud fra ovenstående ATP-udbyttet for oxidation af glukose til CO_2 .

Pyruvat omdannes først til acetyl-CoA, hvor det herefter kan indgå i TCA-cyklus og blive til CO_2 .

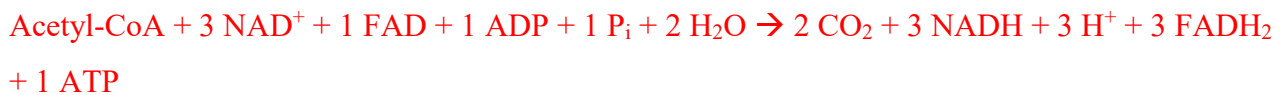
Omdannelsen af pyruvat til acetyl-CoA er således:



Denne reaktion katalyseres af pyruvat dehydrogenase

De prosthetiske grupper er TPP, lipoamid og FAD.

Nettoligningen for oxidationen af acetyl-coA til CO₂ opskrives:



Dette giver et ATP udbytte på:

$$1 \text{ NADH} + 3 \text{ NADH} + 1 \text{ FADH}_2 + 1 \text{ ATP} = 2.5 \text{ ATP} + 7.5 \text{ ATP} + 1.5 \text{ ATP} + 1 \text{ ATP} = 12.5 \text{ ATP}.$$

Den anden halvdel af spørgsmålet kan misforståes, og derfor beregnes følgende to scenarier:

- ATP udbyttet for oxidation af glukose til CO₂ (aerob glukolyse): ATP udbyttet for den aerobe glykolyse er lig 2 ATP + 2 NADH, derfor vil dette blot adderes med ovenstående ATP udbytte: 12.5 ATP + 2 ATP + 2 NADH = 12.5 ATP + 2 ATP + 5 ATP = 19.5 ATP
- ATP udbyttet for oxidation af glukose til CO₂ (anaerob glukolyse): ATP udbyttet for den anaerobe glykolyse er lig 2 ATP, dog når den anaerobe glukolyse er udført, vil vi have laktat. Laktat skal derfor omdannes til pyruvat. Omdannelsen af én laktat til én pyruvat koster 1 NADH. Dette vil derfor blot adderes med ATP-udbyttet for oxidationen af pyruvat til CO₂: 12.5 ATP + 1 NADH = 12.5 ATP + 2.5 ATP = 15 ATP

Hvis vi tager i betragtning af at to laktat omdannes til to pyruvat, vil ATP –udbyttet være lig: 12.5 ATP + 2 NADH = 12.5 ATP + 5 ATP = 17.5 ATP.

Opgave 3

- a) Beskriv hvad der menes med begrebet spyttets kritiske pH med hensyn til hydroxylapatit (HAp) og forklar herunder hvorfor der ikke er tale om en konstant værdi. Angiv endvidere en rimelig gennemsnitsværdi for spyt hos mennesker.

Den kritiske pH defineres som den pH hvorved en opløsning med hensyn til et bestemt mineral (f.eks.) HAp er mættet. Det vil sige at ionaktivitetsproduktet for HAp er lig opløselighedsproduktet for HAp

Den kritiske pH har en gennemsnitsværdi på 5.5, og denne værdi er ikke konstant. Værdien er en gennemsnitsværdi af befolkningens calcium og fosfatkoncentrationer i spyt. Jo højere disse koncentrationer er, jo lavere vil den kritiske pH være. Dette kan f.eks. ses når man sammenligner den kritiske pH i spyt til den kritiske pH i biofilmen. I biofilmen er den kritiske pH lavere (på ca. 4.5), og dette er grundet at biofilmen blandt andet består af polysaccharider og denaturerede spytproteiner, som kan virke som et gelfilter og en ionbytter. Grundet gelfiltereffekten, kan ionerne tilbageholdes i biofilmen, som derved leder til en højere koncentration af fosfat og calcium i biofilmen.

Hvis man kommer under den kritiske pH, vil dette lede til en demineralisering, da ionaktivitetsproduktet så vil blive lavere end opløselighedsproduktet. Dette kan være grundet protoner binder til de syrefølsomme komponenter i hydroxylapatit (altså fosfat og hydroxid), som danner vand og hydrogenfosfat, som derved leder til en fald i ionaktivitetsproduktet.

- b) Redegør for hvorfor der er forskel på spyttets og biofilmvæskens (plakvæskens) kritiske pH værdier med hensyn til hydroxylapatit.

Som nævnt tidligere, er forskellen baseret på koncentrationen af calcium og fosfat i henholdsvis spyt og biofilmen. Da biofilmen fungerer som et gelfilter og en ionbytter, kan den ved hjælp af gelfilter effekten tilbageholde ioner, som giver biofilmen en højere koncentration af de gældende ioner. Dette vil derfor give biofilmen en lavere kritisk pH på omkring 4.5

- c) Angiv rimelige gennemsnitsværdier for biofilmvæskens kritiske pH værdier henholdsvis med hensyn til hydroxylapatit og med hensyn til fluorapatit.

Den kritiske pH for biofilmsvæsken kan ramme helt ned til omkring 4.5, hvor det med hensyn til fluorapatit, kan medføre til at den kritiske pH falder endnu mere. Dette er grundet at fluorapatit passer bedre end i krystalgitteret, og er mere modstandsdygtigt over for syrer, da den har en lavere kritisk pH på omkring 4-4.2. Dette kan modvirke en demineralisering.

Opgave 4

- a) I en anaerob dental biofilm kan der ved lav kulhydrattilgængelighed blive dannet eddikesyre (acetat), myresyre (formiat) og ethanol. Angiv de bakterielle processer, der fører til dannelse af ovennævnte tre produkter ud fra glukose.

For at kulhydratmetabolisme er mulig, skal kulhydraterne, altså glukose transporteres ind i mikroorganismen. Dette kan gøres via 2 membrantransportsystemer, henholdsvis proton motive force (PMF) og phosphotransferasesystemet (PTS).

Proton motive force, PMF benyttes ved en lav pH-værdi, hvor man udnytter den protongradient, der er på tværs af membranen. Protongradient udnyttes således, at man vil med symport af protoner ind i mikroorganismen, transportere glukose med sig ind. Dog skal protonerne fjernes igen fra mikroorganismen, da de kan medføre til at den indre pH-værdi falder og medfører til celledysis. Derfor pumpes protonerne aktivt ud af mikroorganismen ved hjælp af en protonpumpe, som aktivt forbruger energi. Glukosen kan nu indgå i glukolysen.

Phosphotransferasesystemet, PTS benyttes ved neutrale pH-værdier og ved en lav kulhydrattilgængelighed. Ved dette system, vil phosphoenolpyruvat (PEP) fra glukolysen hjælpe til. Her vil PEP hjælpe med at transportere et glukosemolekyle ind i mikroorganismen, hvor den herefter fosforylerer glukosemolekylet til glukose-6-phosphat, ved selv at donere en fosfatgruppe. Glukose-6-phosphat videreomdannes herefter til 2 PEP, hvor den ene PEP gentager den forrige cyklus og transporterer et nyt glukose-molekyle ind, og hvor det andet PEP molekyle videreomdannes til glukose.

Vi har nu glukose i mikroorganismen, dog har vi en lav glukose/kulhydrattilgængelighed. Dette vil lede til en lav koncentration af 3-phosphat-glyceraldehyd og fructose-1,6-di-phosphat. Den lave koncentration af fructose-1,6-di-phosphat hæmmer laktat dehydrogenase, hvor 3-phosphat-glyceraldehyd stimulerer pyruvatformatlyase til at omdanne pyruvat til eddikesyre, myresyre og ethanol. Denne bakteriel proces er favorabel, da det giver et ATP-udbytte på 1 ATP.

- b) I en anaerob dental biofilm kan nogle bakterier nedbryde aminosyren arginin ved hjælp af arginin deiminase systemet (ADI-pathway). Angiv de reaktioner der ligger til grund for denne argininmetabolisme og angiv hvilken betydning den har for bakteriernes energiudbytte.

Arginin deiminase-systemet (ADI-systemet) er et system som specifikke mikroorganismer benytter sig af for at få pH-værdien til at stige. Reaktionerne er således:

Arginin $\rightarrow$ Citruline + NH_3

Ovenstående reaktion katalyseres af arginindeiminase

Citruline + P $\rightarrow$ Carbamoyl-P + orinitine

Carbamoyl-P + ADP $\rightarrow$ ATP + CO_2 + NH_3

Orinitine + H^+ $\rightarrow$ putrescin (diamin) + CO_2

Ovenstående reaktion katalyseres af en decarboxylase

Da munden ikke er et lukket system, vil CO_2 elimineres til atmosfæren.

Det ses at reaktionen danner ammoniak som er basisk, og derfor vil dette lede til at pH-værdien stiger, som kan modvirke blandt andet demineralisering.

ADI-systemet giver et ATP-udbytte på 1 ATP.

- c) Beskriv i hvilken retning pH værdien i biofilmvæsken kan ændre sig, når bakterier nedbryder arginin ved hjælp af arginin deiminase systemet.

Da ADI-systemet nedbryder arginin, vil der blive dannet baser, som medfører til at **pH-værdien stiger**. Dette kan modvirke en demineralisering.