KØBENHAVNS UNIVERSITET

06 maj 2024

Planlagt: 09:00-14:00

Eksamensnr: 2075

Plads: EH-2155

Side 1 af 26

# Medicinsk Celle- og Vævsbiologi

## Opgave I

Retinoblastom er en sjælden type kræft i øjets nethinde (retina) hos børn. Kræften opstår ofte, fordi barnet har arvet en mutation i *retinoblastom* (*Rb*) genet fra en af sine forældre.

**1.**

**a. Angiv den cellulære lokalisation, hvor Rb proteinet har sin funktion.**
*cellekernen*

**b. Angiv navnet på det cellecyklus check point, som Rb proteinet regulerer.**
*Restriktions checkpoint*

**c. Beskriv funktionen af Rb proteinet.**
*Rb regulerer cellecyklus og sørger for der ikke sker ukontrolleret celledeling. Hvis Rb er aktiv vil den stoppe cellen i at passere restriktions checkpointet, og altså forhindre den i at påbegynde S-fasen. G1-cdk G1/S cdk kan inaktivere Rb ved at fosforylere Rb.*

**2. Redegør for, hvorfor et barn, som har arvet et muteret *Rb* gen fra en af sine forældre, har forøget risiko for at få kræft.**
*Rb er en tumor supressor og hvis der er loss of funcion mutation på begge alleler vil det føre til ukontrolleret celldeling som er en af Hallmarks cancer karakteristika.*
*Et barn som har arvet en mutation vil have en mutaiton på det ene allel allerede fra fødslen. Der skal derfor kun en mutation til på det andet allel for at Rb genet ikke er funktionelt. Dermed er der større risiko for kraft, end de børn hvor begge Rb alleler er raske fra starten.*

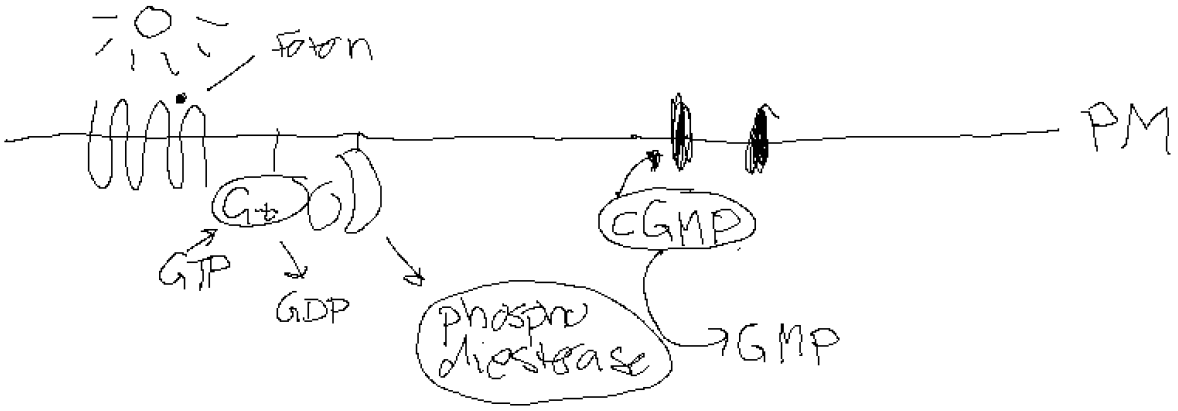
Palbociclib og Ribociclib er lægemidler, som hæmmer aktiviteten af G1-Cdk. Disse lægemidler anvendes til behandling af forskellige typer af kræft. Studier har vist, at kræftceller, der ikke udtrykker funktionelt Rb protein, responderer mindre ved behandling med G1-Cdk hæmmere, end kræftceller som udtrykker vildtype Rb protein.

3. **Redegør for en mulig forklaring på, at kræftceller, som ikke udtrykker funktionelt Rb protein, responderer mindre på G1-Cdk hæmmere, end kræftceller som udtrykker vildtype Rb protein.**
   *G1-cdk vil normalt virke ved at fosforylere og inaktiver Rb. Hvis man hæmmer CDK'en vil man sørge for at dette sker i mindre grad, og så vil Rb være aktiv og kunne stoppe cellen i at dele sig for meget.*

   *Hvis cellen ikke udtrykke funktionelt Rb vil tilsætningen af G1-cdk hæmmer ikke gøre en forskel, da Rb alligevel ikke er funktionelt og dermed ikke vil kunne regulere og stoppe cellerne i at passere forbi restriktions checkpointet.*

Retina er et tyndt cellelag i øjet, som bl.a. består af fotoreceptorer. Når fotoner aktiverer receptorer i det ydre segment af en fotoreceptor, ændres cellens membranpotential.

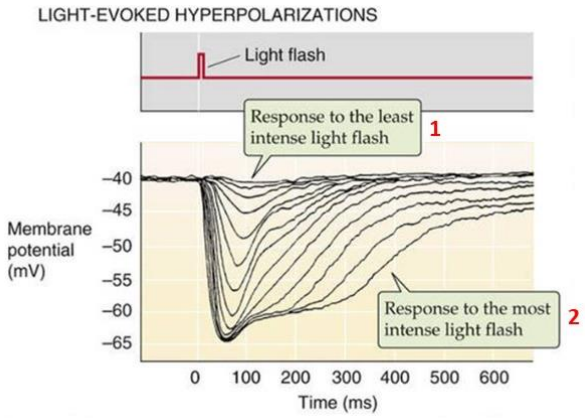
4. **Skitser denne signaleringsvej.**




   *Et foton vil binde til Rhodopsin som er en G-koblet receptor. Der sker en konformationsændring der får Gt-protein til at smide GDP og binde GTP. Alfa subunit vil adskilles fra beta-gamme subunit når G-proteinet er aktivt. G-proteinet, transducin bliver aktiv og vil ved binding aktivere phosphodiesterease. Den vil omdanne cGMP til GMP så mængden af cGMP i cellen falder. Kationkanaler i plasmamembranen har større åbningssandsynlighed når cGMP binder til.*

*Dermed vil der ved aktivering med et foton være mindre kationkanaler åbne og membranpotentialet vil blive mere negativt.*

Figur 1 viser et eksperiment, hvor man udsætter en fotoreceptor for stigende lysintensitet.




Figur 1. Hyperpolarisering af en fotoreceptor induceret af en stigende intensitet af lys (Light flash) til tiden nul. **1.** Laveste lysintensitet, færrest fotoner. **2.** Højeste lysintensitet, flest fotoner. Modificeret fra Boron and Boulpaep, Medical physiology, 2005.

Fotoreceptorens membranpotential i mørke er ca. -40 mV.

**5.**

**a. Angiv, hvad der er afgørende for størrelsen af en celles membranpotential.**

*De permeable ioners ligevægtspotentiale, og hvor permeabel membranen er for hver ion.*

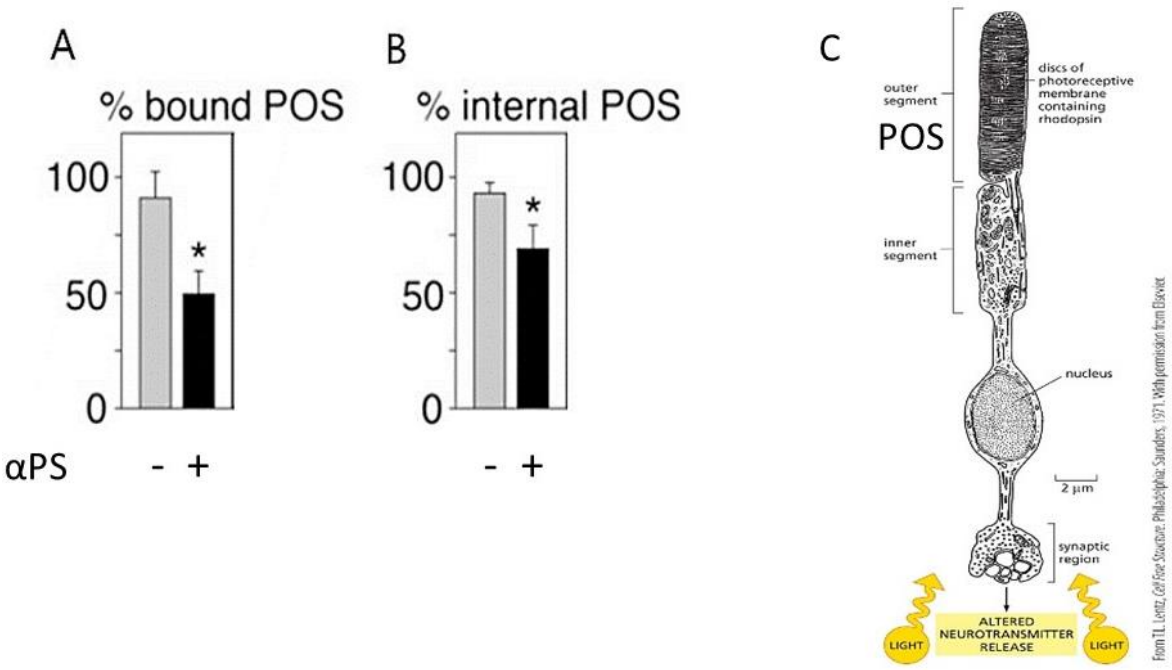
**b. Redegør for, hvad der er afgørende for fotoreceptorens membranpotential i mørke (figur 1).**

*Ved mørke vil der være meget cGMP i cellen som gør at mange kaitonkanaler er åbne. Dermed vil der være efflux af kalium og influx af natrium. Grunden til at membranpotentialet er mere positivt end i normale celler i hvile er at der her vil være højere permeabilitet for natrium, som har et positivt ligevægtspotentiale. Kalium lækkanaler og kationkanalerne vil gøre at kalium trækker membranpotentialet mod den negative ende.*

**6. Forklar resultaterne fra 0-100 ms (figur 1).**

*Det ses at nu flere fotoner den udstættes for nu mere negativ bliver membranpotentialet. Dette skyldes signaleringsveje fra spørgsmål 4 hvor cGMP niveauet falder så mindre kationkanaler vil være åbne. Natrium vil dermed have lavere permeablitet og vil vægte mindre i membranpotentialet. Derfor bliver det tættere på kaliums ligevægtspotentiale som grundet kalium læk kanaler stadig har høj permeabilitet.*

Komponenter i den lysresponderende del af fotoreceptoren kræver fornyelse en gang i døgnet. Dette sker ved, at nærtliggende retinal pigment epithelceller (RPE celler) binder til det ydre segment af fotoreceptoren, og derefter fagocyterer denne del af cellen (frem for at hele cellen undergår apoptose). I et studie undersøgte man, hvilket signal som igangsætter fagocytosen. Oprenset intakt ydre segment fra fotoreceptorer (”photoreceptor outer segment”, POS) blev behandlet med antistof mod fosfatidylserin inden tilsætning til RPE cellekulturer. Derefter blev det målt, hvor meget POS som var bundet til RPE cellerne (figur 2A), og hvor meget POS RPE cellerne havde fagocyteret (figur 2B).



Figur 2. **A.** Oprenset intakt ydre segment fra fotoreceptorer (POS) bundet til retinal pigment epithelceller (RPE celler). **B.** POS fagocyteret af RPE celler. POS var præ-inkuberet med (+) eller uden (-) et antistof rettet mod fosfatidylserin (αPS). Værdierne er relative og angivet som procent af en specifik kontrol (ikke vist). Målingerne blev foretaget i tre uafhængige forsøg og αPS behandlet POS blev analyseret i forhold til ubehandlet POS med en Student's t-test. * $P < 0,05$. Modificeret fra Ruggiero et al., PNAS, 2012. **C.** Tegning af en fotoreceptor. Modificeret fra Essential Cell Biology, 5. udgave.

7. **Forklar resultaterne i figur 2. Svaret skal indeholde, hvilket signal som igangsætter fagocytosen.**
   *I figur 2A ses at når der tilsættes et antistof mod fosfatidylserin vil der være mindre POS der er bundet til RPE-cellerne. I figur 2B ses det at fagocytosen af POS også falder når antistoffet er tilsat. Denne sammenhæng viser at RPE-cellerne fagocyterer POS ved at de binder til hinanden. Antistoffet som er tilsat vil sætte sig på foafatidylserin. Denne binding hæmmer bindingen mellem POS og RPE cellerne. Da bindingen er hæmmet vil der også ske mindre fagocytose. Dermed må fosfatidylcholin i ydre leaflet være det signal der igangsætter fagocytosen.*

## Opgave II

*FOXM1* genet i mennesker koder for Forkhead box protein M1.

```
  +1                                                  +50
5'AACGCTCCGCCGGCGCCAATTTCAAACAGCGGAACAAACTGAAAGCTCCG
                                                     +100
  GTGCCAGACCCCACCCCCGGCCCCGGCCCGGGACCCCCTCCCCTCCCGGG
                                                     +150
```

```
ATCCCCCGGGGTTCCCACCCCGCCCGCACCGCCGGGGACCCGGCCGGTCC
                                                  +200
GGCGCGAGCCCCCGTCCGGGGCCCTGGCTCGGCCCCCAGGTTGGAGGAGC
                                                  +250
CCGGAGCCCGCCTTCGGAGCTACGGCCTAACGGCGGCGGCGACTGCAGTC

TGGAGgtgagcgggatgcagca... 3’
```

Figur 1. Dele af DNA sekvensen for *FOXM1* genet (RNA lignende streng). Exon 1 er vist med store bogstaver, og en lille del af intron 1 er vist med små bogstaver. Transskriptionsstart er markeret +1.

**1.**

**a. Redegør kort for to funktioner af de generelle transskriptionsfaktorer under transskriptionsinitiering.**

*TFIIH som er en af de generelle transkriptionsfaktorer har helicase funktion og åbner og skiller de to DNA-strenge ad ved TATA-boksen. På den måde kan RNA polymerase II sætte sig på.*
*En anden funktion som TFIIH har er at fosforylerer C-terminal halen på RNA polymerase II, så den aktiveres og de proteiner der skal bruges til RNA processing binder til halen.*

**b. Redegør for om man ud fra den viste sekvens i figur 1 kan bestemme antallet af nukleotider i 5’- UTR sekvensen i FOXM1 mRNA.**

*5’UTR vil være den sekvens fra transkriptionsstart til det første start codon. Der er ikke noget start codon (ATG) i exon 1 og man kan dermed ikke bestemme hor mange nukleotider der er i 5’ UTR ud fra figuren.*

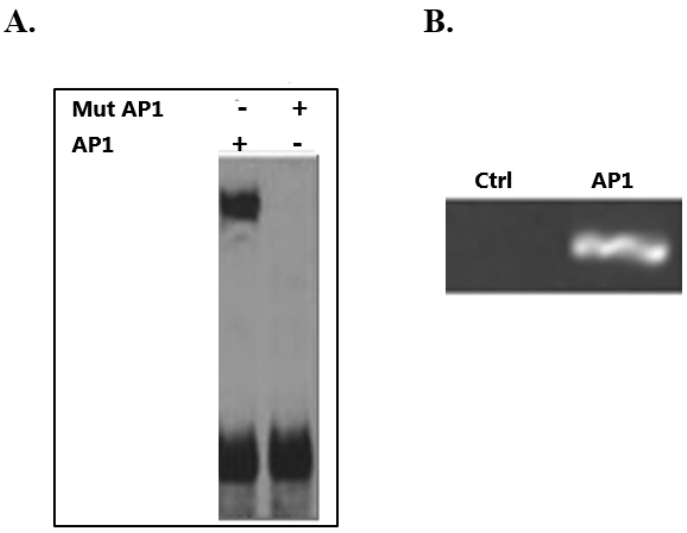
**2. Beskriv translationselongering i eukaryote celler.**

*Der vil ankomme et nyt tRNA i A-site på ribosomet, som vil sætte sig på mRNAs codon med dens anticodon. I 3’enden af tRNA sidder aminosyren. Ribosymet har enzymaktivitet og vil i P-site katalysere peptidbindingen mellem den sidst påsatte aminosyre og den nyankomne aminosyre. Ribosomet vil rykke mod 3’enden af mRNA strengen så tRNA’et uden en aminosyre rykker i E-site hvor den frisættes. tRNA der har den elongerende peptidkæde på sig rykker i P-site. Nu kan der ankomme et nyt tRNA i A-site og denne process vil fortsætte indtil ribosomet når til et stop codon.*

3. **Redegør for funktionen af snRNA'er.**
   *De danner sammen med proteiner spliceosomet, som har den funktion at splejse under RNA processing. Dette sker cotranskriptionelt og her vil alle introns splejses ud for at danne modent RNA. Den kan også splejse exons ud og dermed kan alternativ splejsning ske.*

4.
   a. **Redegør for, hvordan en "enhancer" kan regulere transskriptionen af et gen.**
      *Enhancer er en DNA sekvens, som ligger mange nukleotider upstrøms for transskriptionsstart og promoterområdet. En aktivator kan binde til enhanceren og ved DNA-looping kan den komme i kontakt med promotorområdet gennem en mediator. Her vil den starte eller øge transskription ved for eksempel at tiltrække de generelle transskriptionsfaktorer til promoterområdet.*
   b. **Redegør for, hvordan histon deacetylaser (HDAC) kan regulere transskriptionen af et gen.**
      *Acetyl på histonernes haler vil skabe eukromatin så der kan ske transskription af et gen. En HDAC vil deacetylere histonerne og dermed gøre at det er på heterokromatinform. HDAC kan dermed gøre, at et gen ikke bliver transkriberet og dermed ikke er aktivt.*

I et forsøg blev det undersøgt, om transskriptionsfaktoren AP1 var involveret i regulering af ekspressionen af *FOXM1* genet. Til dette blev der udført et elektroforetisk mobilitetsshifts assay (EMSA) og et kromatin immunoprecipiterings (ChIP) assay (figur 2).



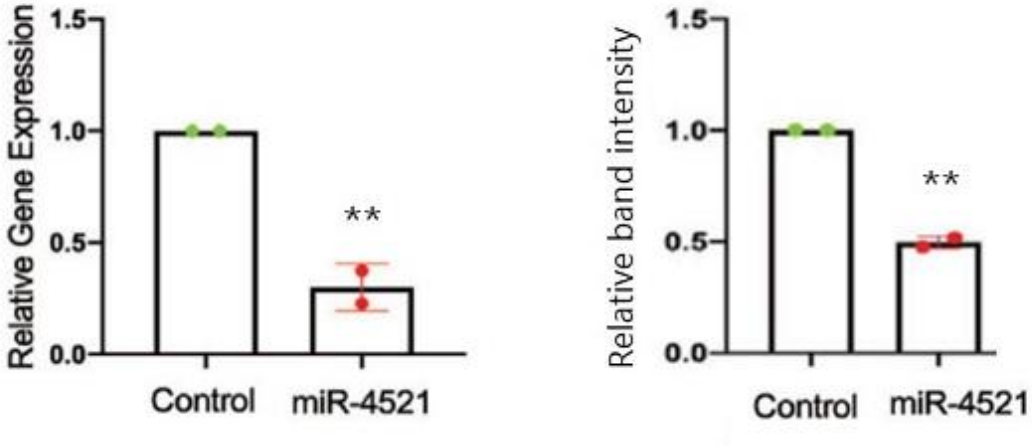

Figur 2. **A**. Elektroforetisk mobilitetsshifts assay (EMSA) analyse af et kerneekstrakt. Kerneekstraktet blev tilsat enten et $^{32}$P-mærket DNA-fragment indeholdende et AP1 bindingssted (AP1) eller et $^{32}$P-mærket DNA-fragment indeholdende et muteret AP1 bindingssted (Mut AP1). **B**. Kromatin immunoprecipiterings (ChIP) assay. Antistoffer rettet mod AP1 blev brugt til immunoprecipitering (AP1) og et kontrol antistof blev brugt som en negativ kontrol (Ctrl). Efter immunoprecipiteringen blev bindingsstedet for AP1 i *FOXM1* promotorregionen amplificeret ved hjælp af PCR. Modificeret fra Yan et al., Oncology reports, 2019.

**5. Forklar resultaterne i figur 2. Svaret skal indeholde, om ChIP assay'et tilfører yderligere information til de resultater, som er blevet opnået ved at anvende et EMSA assay.**

*I figur 2A ses der et shift i den brønd hvor der er vildtype AP1 bindingssted, og dette shift ses ikke i den muterede bindingssted for AP1. Dette viser at i vildtypen vil AP1 binde til bindingsstedet og vil gøre at der ses et bånd højere oppe, da komplekset nu er større. Båndet i bunden ses stadig da det ikke er til alle DNA sekvenser at proteinet er bundet. I den med den muterede, binder AP1 ikke. Denne brønd viser at AP1 ikke kan binde til DNA'et ved mutationen og den viser også at shiftet i brønd 1 ikke skyldes noget andet end AP1.*

*I figur 2B er der lavet CHIP med antistoffer rettet mod AP1. Efterfølgende vil man ved at fragmentere DNA-et, oprense de områder hvor AP1 er bundet og dermed antistoffet er bundet, kunne oprense den specifikke bindingssekvens for AP1 på DNAet. Ved en Sanger sekventering kan man bestemme nukeotidsekvensen på Ap1 bindingssted. Denne information kan man ikke opnå med EMSA, hvor man kun ved om den binder eller ikke gør.*

Flere miRNA'er regulerer ekspression af *FOXM1,* blandt andet miR-4521. Effekten af miR-4521 på *FOXM1* ekspression i en cellekultur blev analyseret ved brug af RT-PCR og western blot (figur 3).




Figur 3. Analyse af *FOXM1* ekspression i celler transfekteret med miR-4521 i forhold til celler, som ikke er transfekteret (Control). **A.** RT-PCR-analyse af FOXM1 mRNA ekspression. **B.** Kvantificering af western blot analyse af FOXM1 protein ved anvendelse af specifikke antistoffer. Det kan antages, at der er tilsat lige mængder protein til brøndene i SDS-PAGE gelen. **p < 0.001. Modificeret fra Kuthethur et al., Frontiers in Molecular Bioscience, 2023.

**6. Forklar resultaterne i figur 3.**

*Ved tilsætning af miR-4521 ses det i figur 3A at mængden af mRNA falder og i figur 3B ses at mængden af protein M1 også falder. Dette må skyldes at miRNA'et er specifikt for FOXM1 mRNA og vil i et RISC kompleks sætte sig på 3'enden og nedbryde mRNA'et. Dette forklarer også den reducerede mængde af protein der ekspresseres. Da der nedbrydes mere mRNA i cytosolen vil mindre også kunne translateres til protein.*

**7. Redegør for, hvordan retrovirus genomer kan blive en del af det humane genom.**

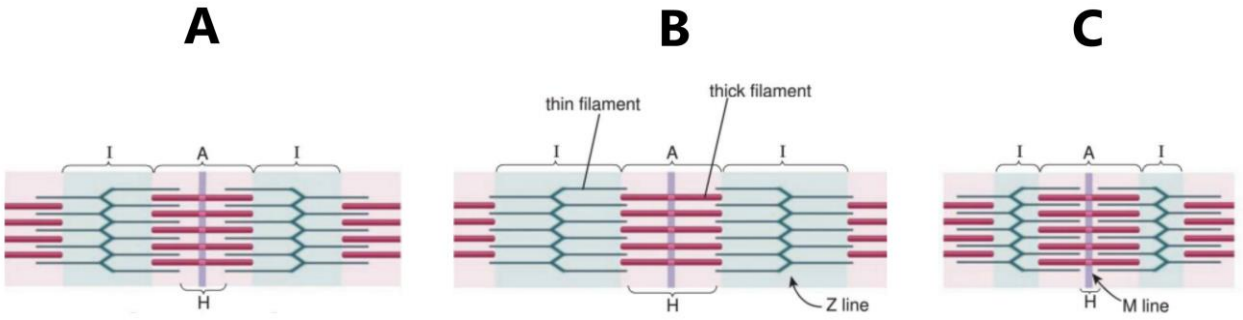
*En retrovirus vil fusionere med cellemembranen og tømme sit indhold i cellen. Den indeholder RNA og vil ved brug af revers transkriptase syntetisere dobbeltstrenget DNA ud fra dens eget RNA. Dette DNA vil indsættes i det humane genom med en integrase. Da det er indsat vil cellen begynde at ekspressere retrovirussens proteiner og det vil give ophav til flere af den slags retrovirus.*

## Opgave III

1. **Beskriv receptor-medieret endocytose.**
   *Cargo-molekylet binder til en transmembran receptor. På cytosolsiden vil adaptin være bundet til receptoren og clathrin er bundet til adaptin. De vil bøje membranen så der dannes en vesikel. Til sidst vil dynamin afsnøre vesiklen så den slipper fra plasmamembranen. Vesiklen indeholder nu cargo-molekylet og vil via. Endosomet enten sende det til et lysosom eller til et andet membrandomæne.*

2. **Beskriv, hvorledes opløselige proteiner transporteres til:**
   a. **lumen af rER.**
      *Syntese af protein vil initieres på frie ribosomer men på grund af en N-terminal ER-signalsekvens vil SRP genkende det og føre det til SRP receptor på ER membranen. Receptoren vil føre ribosomet til en translokatør. Her vil translationen fortsætte så proteinet syntetiseret igennem translokatøren og ind i ER lumen. ER-sekvensen vil være hæftet til ER membranen, men ER-sekvensen vil til sidst kløves af signalpeptidase. Når proteinet er inde i lumen vil den foldes med hjælp fra chaperoner.*
   b. **matrix i mitokondrier.**
      *Hele translationen sker på frie ribosomer i cytosolen. Et signalsekvens i N-terminal vil binde til en receptor på den ydre membran i mitokondrier. Receptoren fører proteinet til TOM. Proteinet translokateres gennem TOM og videre gennem TIM som sidder i den indre membran. I matrix vil signalsekvensen kløves af signalpeptidase og chaperoner vil hjælpe med at folde proteinet.*

Sarcomerer er skeletmuskelfibres kontraktile enheder.




Figur 1. Opbygningen af sarcomerer i skeletmuskelfibre i 3 forskellige tilstande: A, B og C. De 3 tegninger angiver placeringen af A-bånd, I-bånd og H-bånd samt af M- og Z-linje. Fra Pawlina, 8. udgave.

3. **Redegør for skeletmuskulaturens tilstand i A, B og C (figur 1).**
   *Ved C er sarkomeret så forkortet som det kan være og aktin og myosin har et meget stort overlap. Her vil musklen være meget kontraheret, da myosinhovederne har trukket aktin næsten helt hen til M-linjen.*
   *Ved A er overlappet mindre. Her kan musklen være afslappet. Ved B er der næsten ingen overlap mellem aktin og myosin. Det kan skyldes at musklen er overstrækt. Det vil her være svært at skabe kontraktion da der ikke er mange myosinhoveder der kan nå aktinfilamenterne*

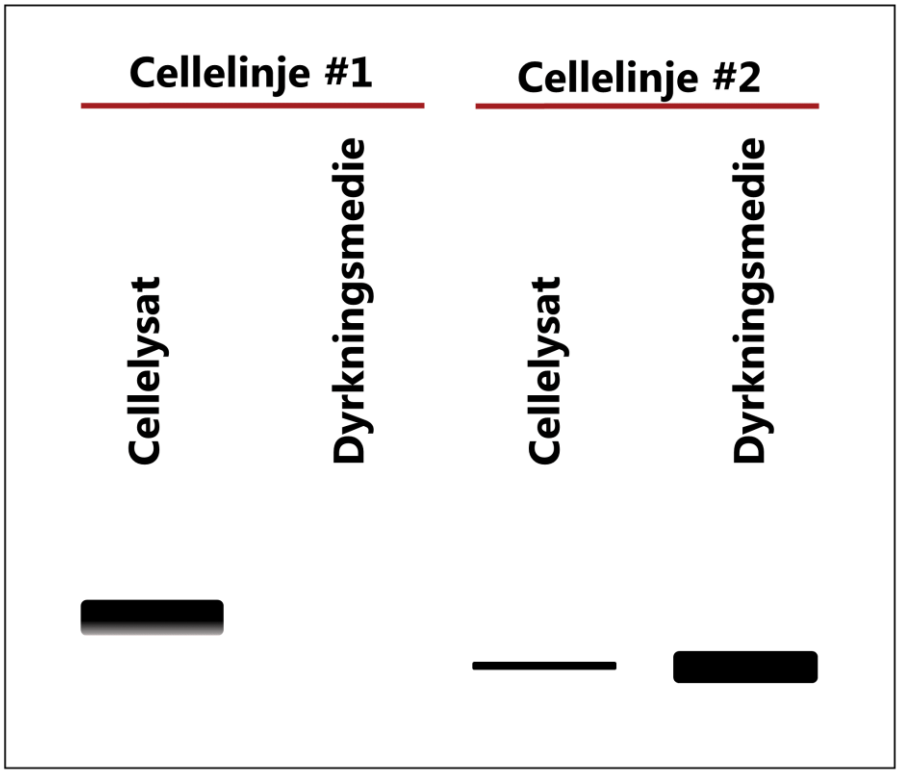
4. **Redegør for orienteringen af aktinfilamenter i forhold til Z-linjen.**
   *Myosin er et motorprotein der bevæger sig mod aktins plusende. Ved en kontraktion vil myosinhovederne trække aktin mod M-linjen. Det må betyde at myosin bevæger sig mod Z-linjen. Dermed er aktins plus-ende forankret i Z-linjen og minusenden vender væk.*

5. **Redegør for, hvorledes ATP-mangel i skeletmuskelfibre er relateret til dødsstivhed (rigor mortis).**
   *Efter et powerstroke vil binding af ATP på myosinhovedet, gøre at affinitetet for binding på aktin falder og myosinhovedet vil give slip. Hydrolyse af ATP til ADP og P vil efterfølgende gøre at myosinhovedet trækkes tilbage til udgangspunkt. Hvis der er ATP-mangel kan myosinhovederne ikke give slip og dette skaber dødsstivheden.*

Enzymet katanin kan kløve lange mikrotubuli i cellen til korte fragmenter.

**6. Beskriv, hvad der generelt sker med enzymkløvede, korte mikrotubuli-fragmenter.**

Et lysosomalt enzym blev undersøgt i en cellelinje (Cellelinje #1). Ved genmanipulation blev en ny variant af cellelinjen, som udtrykte det pågældende lysosomale enzym uden N-glykosyleringssites, etableret (Cellelinje #2). Den manglende N-glykosylering påvirkede ikke foldningen af det lysosomale enzym. Ekspressionen af det lysosomale enzym i de 2 cellelinje-varianter blev undersøgt i henholdsvis cellelysat og dyrkningsmedie ved brug af western blot.




Figur 2. SDS-PAGE efterfulgt af et western blot udført med et specifikt antistof rettet mod det undersøgte lysosomale enzym. Analyserne blev udført på cellelysat og dyrkningsmedie fra de 2 cellelinjer #1 og #2.

**7. Forklar, hvorfor der er forskel på størrelsen af det lysosomale enzym i cellelinje #1 og i cellelinje #2.**

*Det ses at i cellelinje 2 skabes der bånd der ligger længere nede. I cellelinje 2 er proteinerne altså mindre. Dette skyldes at i cellelinje 2 er N-glykosyleringssitet ikke tilstede og her vil der ikke påsættes en glykosylering i ER. Den bliver til gengæld påsat i cellelinje 1, som derfor er større og vandre kortere i gelen.*

**8.**

**a. Forklar, hvorfor det lysosomale enzym detekteres i dyrkningsmediet fra cellelinje #2, men ikke i dyrkningsmediet fra cellelinje #1.**

*For at et protein skal ende i lysosomet skal det i Golgi apparatet have påsat mannose-6-phosphat. I cellelinje 2 må den manglende N-glykosyleringssite have gjort at denne M-6-P påsættelse ikke kunne ske og proteinet er derfor blevet exocyteret i stedet.*

*I cellelinje 1 er M-6-P blevet påsat og alt protein er blevet sendt til lysosomer.*

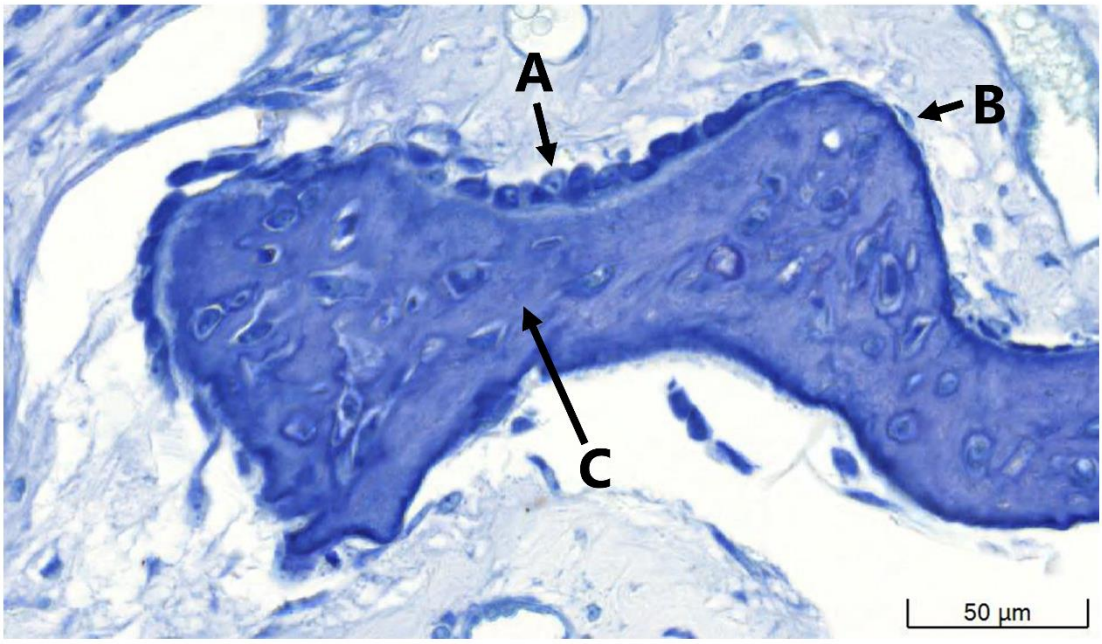
b. **Forklar, hvorfor det lysosomale enzym detekteres i cellelysatet fra cellelinje #2**.

*Det er det protein der befinder sig i sekretoriske vesikler eller i golgi og ER. Det er altså ikke blevet exocyeret endnu.*

## Opgave IV-A

Under opvæksten vil kroppens rørknogler vokse i både længde og bredde.

1. **Beskriv kort, hvorledes breddetilvæksten vil foregå midt på skaftet af en rørknogle**.
   *På ydersiden vil osteoblaster secernere osteoid der danner nyt knogle. På indersiden af knoglen vil otseoklaster nedbryde knogler. På den måde vil skaftet bliver bredere og samtidig vil marvhulen også blive større.*




Figur 1. Lysmikroskopisk billede med markeringer A, B og C. Bar, 50 µm. Fra VirMik.

**2.**

**a. Angiv navnet på de celletyper, som er markeret ved A og B (figur 1).**

*A er osteoblaster*

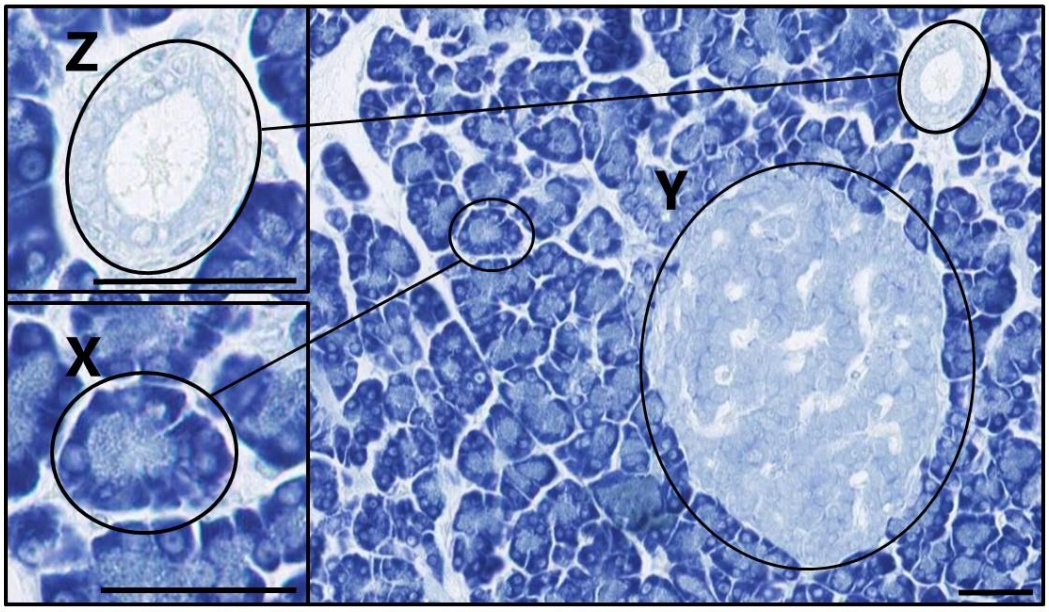
*B er lining cells*

**b. Angiv organisering af kollagen i området markeret ved C (figur 1).**

**c. Redegør for, hvilke organeller i celletypen markeret ved A (figur 1) der forventes at optræde markant på et elektronmikroskopisk billede.**

*Osteoblaster er en secernerende celle og der vil derfor ses et veludviklet proteinsynteseapparet. Det betyder at nukleulus vil have en markant farve, da der skal bruges mange ribosomer. Kromatin vil være lyst, da der skal ske meget transskription og der derfor vil være meget på eukromatinform.*
*rER vil kunne ses markant da de står for proteinsyntese til den sekretoriske pathway. Der vil også kunne golgi og nogle sekretoriske vesikler.*

3. **Redegør for, hvorfor vævet markeret ved C (figur 1) kun vokser appositionelt.**
*Det er knoglevæv der ses der dannes ved desmal forbening. Det vokser kun appositionelt hvor osteoblaster skaber vækst på overfladen. Det er kun brusk der også kan vokse interstitielt ved mitose af chondrocytter. I knolgevævet vil mesenchymale celler på ydersiden kunne differentieres til nye osteoblaster så de kan danne nyt knoglevæv på ydersiden.*




Figur 2. Lysmikroskopisk billede af væv farvet med toluidinblå. Forstørrede udsnit er vist til venstre. Bars, 50 µm. Modificeret fra Histology Guide.

4. **Forklar baggrunden for den relativt kraftige reaktion med toluidinblå i områder af cellernes cytoplasma i struktur X (figur 2).**
*Den kraftige farvning der primært ses basalt i cellernes cytoplasma skyldes et veludviklet rER der grundet ribosomer indeholder rRNA og også kernen der indeholder DNA og RNA der er*

*negativt ladet. Toluidinblå vil binde til denne negative ladning. Det er et serøst endestykke der ses og det giver mening at cellerne her vil have et veludviklet proteinsynteseapparat, da de er secernerence celler. I den apikale del af cellerne ses en mere lys farvning hvilket skyldes vesiklerne med protein i, som cellerne udskiller til endestykkets lumen.*

5. **Redegør for, hvorvidt struktur Y har en direkte funktionel sammenhæng med struktur Z (figur 2).**
   *Struktur Y er en ø med endokrint, trabekulært kirtelvæv, Struktur Z er en udførselsgang som fører sekretet fra de exokrine merokrine endestykker til en overflade.*
   *De endokrine celler udskiller til blodbanen og vil derfor ikke hav en funktionel sammenhæng med struktur Z da de ikke har brug for en udførselsgang.*

Ved inflammation kan neutrofile granulocytter passere fra cirkulerende blod til bindevæv.

6. **Redegør for, hvorfor neutrofile granulocytter kan passere karvæggen under særlige forhold, som i områder med inflammation.**

*De neutrofile granulocytter vil kunne passere karvæggen ved inflammation ved først at lave rulning på karvæggen. Det sker på grund af nogle specifikke signaler på epitelet. Den vil til sidst stoppe rulningne og lave adhæsion med integriner. Derefter sker migrationen gennem karvæggen og til bindeævet. Her skal den bruges til at fagocytere patogenerne der er til stede ved inflammationen.*

## Opgave IV-B, SPOT

| SKEMA TIL SPOTPRØVE | |
|---|---|
| **CASE 1** | |
| Spørgsmål 1 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Tæt uregelmæssig bindevæv** |
| Spørgsmål 2 | Angiv markeret epithel |
| **Svar** | **Flerlaget pladeepitel, forhornet** |
| Spørgsmål 3 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Glat muskelvæv** |
| **CASE 2** | |
| Spørgsmål 4 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Perifer nerve i PNS** |
| Spørgsmål 5 | Angiv markeret celletype |
| **Svar** | **endotelcelle** |
| Spørgsmål 6 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Exokrin apokrint kirtelvæv** |
| Spørgsmål 7 | Angiv markeret celletype |
| **Svar** | **Eosinofil granulocyt** |
| **CASE 3** | |
| Spørgsmål 8 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Hjertemuskelvæv** |
| **CASE 4** | |
| Spørgsmål 9 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Hyalin brusk** |
| Spørgsmål 10 | Angiv markeret celletype |
| **Svar** | **Osteoklast** |
| Spørgsmål 11 | Angiv markeret blodkar |
| **Svar** | **Sinusoide** |
| **CASE 5** | |
| Spørgsmål 12 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Exokrint merokrin mukoserøst kirtelvæv** |
| Spørgsmål 13 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Skeletmuskelvæv, tværskåret** |

| | |
|---|---|
| Spørgsmål 14 | Angiv markeret væv |
| **Svar** | **Exokrint holokrint kirtelvæv** |
| **CASE 6** | |
| Spørgsmål 15 | Angiv markeret struktur |
| **Svar** | **Arteriole** |

# Excitable celler

## I. Aktionspotentialet

**1) Redegør for hvilken rolle forskellige ionkanaler har i løbet af aktionspotentialet.**

*Kalium læk: åbne hele tiden og holder hvilemembranpotentiale på cirka -70 mV*

*Spændingsafhængige Natrium kanaler: åbner når membranpotentialet når tærskelværdien. De skaber depolariseringen som er et stejlt upstroke da åbning af nogle natrium kanaler skaber positiv feedback så endnu flere åbner grundet mere depolarisering. De vil inaktiveres efter cirka 0,5 ms og deinaktiveres først ved efterhyperpolariseringen.*

*Delayed spændingsafhængige kalium kanaler. De åbner også på grund af depolarisering men de gør det forsinket og åbner dermed først ved aktionspotentialets top. De skaber den hurtige repolarisering og efterhyperpolariseringen.*

*K_A kanaler kan eventuelt forlænge hyperpolariseringen.*

**2) Redegør for den absolutte og relative refraktærperiode efter et aktionspotential. Svaret skal indeholde de tilgrundliggende mekanismer.**

*Den absolutte refraktærperiode er den periode hvor det er umuligt at udløse et nyt aktionspotentiale. Dette skyldes at alle natrium kanaler er inaktiverede.*

*Den relative er den periode efter et aktionspotentiale hvor der godt kan udløses et nyt AP, men der skal et større stimulus til (end der skulle til det første). Dette skyldes at der stadig er nogle natriumkanaler der er inaktiverede. Det skyldes også at membranen er hyperpolariseret og dermed længere væk fra tærskelværdien og at K_D kanalerne er åbne så membranmostanden er mindre.*

3) **Redegør for de egenskaber ved axonet, som bestemmer udbredelseshastigheden af et aktionspotential.**

*Det bestemmes af den indre modstand og membranmodstanden. Hvis membranmodstanden er høj, som den for eksempel er når axonet er myeliniseret, så vil udbredelseshastigheden være høj. Ved lav indre modstand vil aktionspotentialet også kunne udbrede sig hurtigere og dette er for eksempel tilfældet for axoner med stor diameter.*

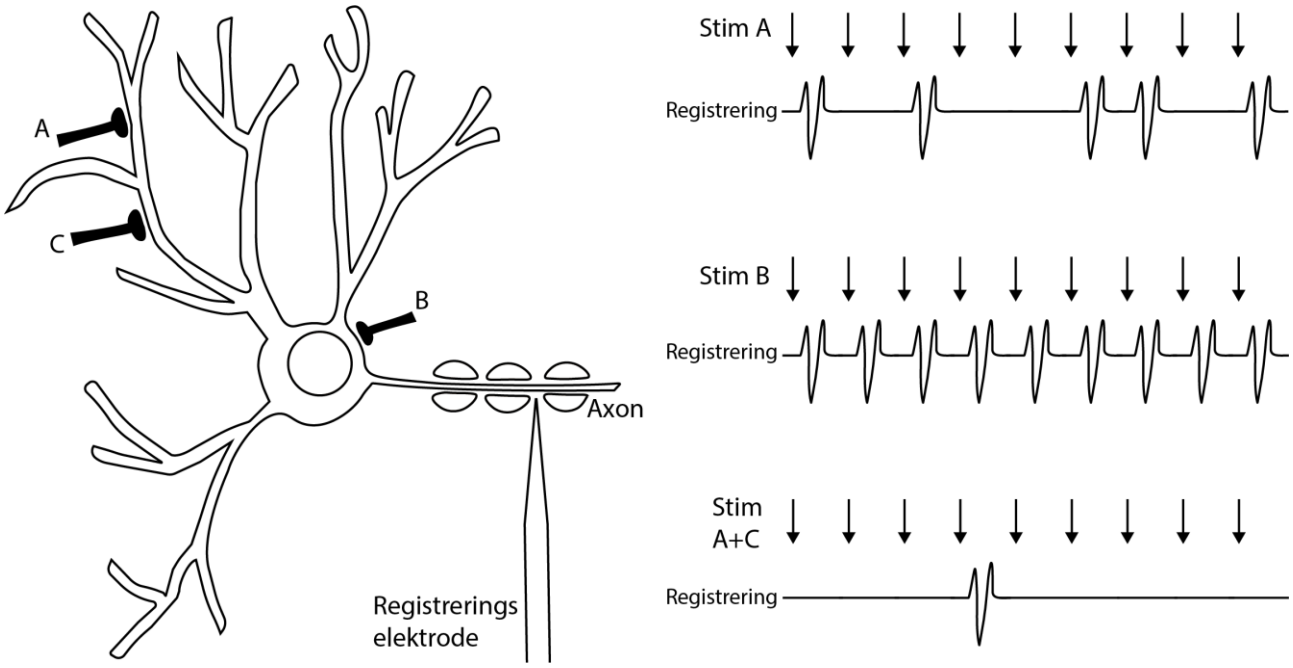
4) **Angiv en rimelig værdi for aktionspotentialets amplitude målt med en intracellulær elektrode.**

*Amplitude: cirka 100 mV*

5) **Redegør for hvilken effekt et fald i den ekstracellulære natriumkoncentration vil have på aktionspotentialets amplitude.**

*Et fald i den ekstracellulære natriumkoncentration vil gøre at der under upstroke i aktionspotentialet vil være mindre influx af natrium. Dermed bliver depolariseringen og altså amplituden mindre.*

## II. Synapser




En forsker undersøger forskellige synapsers funktion ved gentagne gange at stimulere et eller flere af de præsynaptiske neuroner (A, B eller C) til frigivelse af neurotransmitter og måle effekten på det postsynaptiske neuron ved brug af en ekstracellulær registreringselektrode placeret tæt på cellens axon (se figur). Til højre på figuren ses frekvensen af stimuli (pile) samt frekvensen af aktionspotentialer målt ved registreringselektroden under de tre forskellige stimulationsmåder der spørges til.

**1) Ved gentagen stimulation af det præsynaptiske neuron A, måles adskillige aktionspotentialer i det postsynaptiske neuron.**

**a) Angiv en neurotransmitter, der kunne frigives i synapse A.**

*Glutamat*

**b) Redegør for, hvorfor nogle, men ikke alle stimulationer af synapse A, giver anledning til måling af et aktionspotential i axonet.**

*En enkelt stimulaltion ved synapse A vil give et EPSP, men det er ikke en depolarisering der er stor nok til at nå tærskelværdien for et aktionspotentiale i axonet. Ved at synapse A stimulerer flere gange i træk vil der ske temporal summation af EPSP'erner. På den måde kan tærskelværdien nås efter 2-3 stimuleringer i dette tilfælde.*

Forskeren stimulerer nu det præsynaptiske neuron B med samme frekvens og styrke som i spørgsmål 1.

2**) Redegør for 3 mulige grunde til at gentagen stimulation af synapse B medfører en højere aktionspotentiale frekvens i det postsynaptiske neuron end stimulation af synapse A.**

*Det må betyde at Synapse B forårsager et højere EPSP i postsynapsen. Dette kan skylde:*

1) *Postsynapseneuron og præsynapseneuron er placeret tættere på hinanden så der vil binde mere neurotransmitter, selvom det er den samme mængde der frigives.*
2) *Der frigives mere neurotransmitter i synapse B end i synapse A*
3) *Ved synapse B kan der være flere receptorer på postsynapsen*

**3) Ved stimulation af det præsynaptiske neuron C samtidig med neuron A reduceres frekvensen af aktionspotentialerne i det postsynaptiske neuron betydeligt.**

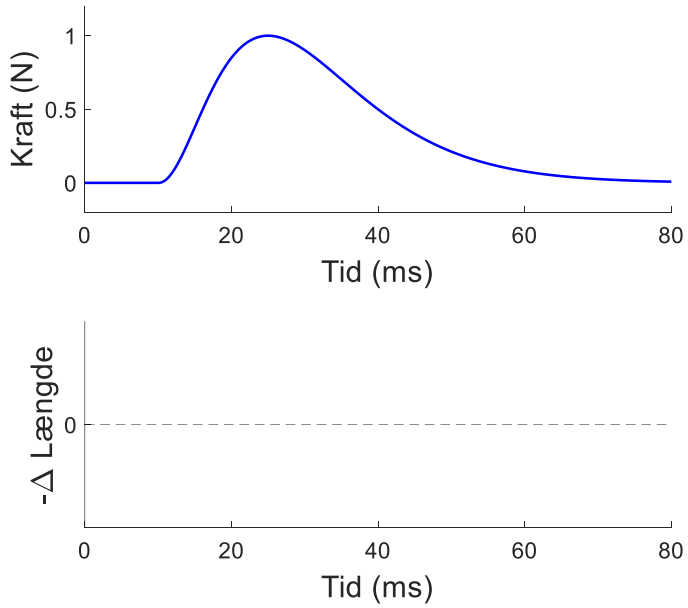
a) **Angiv en neurotransmitter der kunne frigives fra synapse C.**
   *GABA*
b) **Redegør for hvorfor aktiveringen af synapse C påvirker effekten af synapse A på aktionspotentialfyringen i det postsynaptiske neuron.**
   *Synapse C vil lave en hyperpolarisering, altså et IPSP på postsynapsen. På grund af spatial summation vil hyperpolariseringen gøre det svære at nå tærskelværdien. Så selvom synapse A laver den samme EPSP vil depolariseringen formindskes grundet IPSP fra synapse C. Derfor skal der flere stimuleringer til at når tærskelværdien og dermed bliver frekvensen af aktionspotentialer lavere.*

Forskeren tilfører nu endocannabinoider til cellens ekstracellulærvæske. Derefter stimuleres synapse B på samme måde som i spørgsmål 2.

4) **Redegør for hvordan tilsætning af endocannabinoider vil påvirke aktionspotentialfyringen i det postsynaptiske neuron.**
   *Der vil ses en mindre aktionspotentialfyring. Dette skyldes at endocannabinoider er et retrograd neurotransmitterstof, der vil binde til en CB1-receptor på det præsynaptiske neuron. CB1 er en metabotrop G-koblet receptor der fører til at de spændingsafhængige calcium kanaler i præsynapseneuronet hæmmes. Dermed bliver der frisat mindre neurotransmitterstof til synapsekløften, da calciums binding til synaptotagmin er nødvendig for aktivering af SNARE-komplekset. Ved mindre neurotransmitterstof vil der skabes en lavere EPSP i postsynapsen og fyringen af aktionspotentialer vil i synapse B falde.*

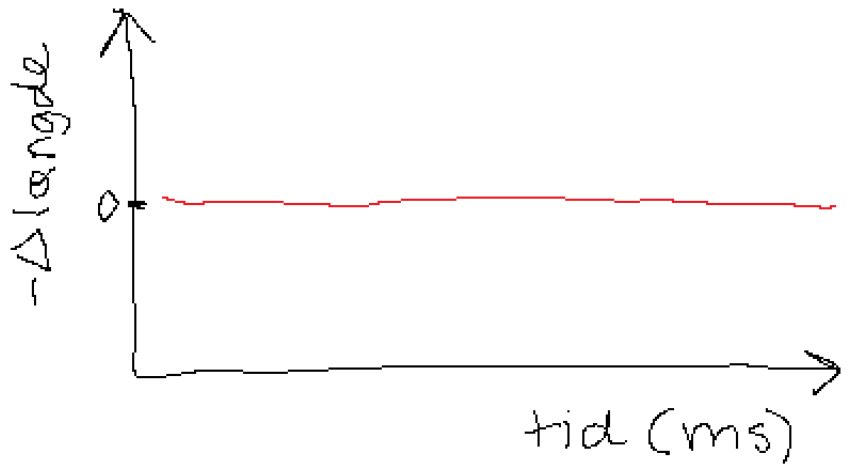
**III. Muskelfysiologi**

En skeletmuskel monteres i en myograf, hvor belastningen (afterload) kan reguleres ved hjælp af lodder. Belastningen sættes til 2 N og musklen stimuleres elektrisk med en enkelt stimulus. Der ses en enkeltkontraktion med en amplitude på 1 N som vist i den øverste graf i nedenstående figur 1.




Figur 1. Øverst: Kraftudvikling over tid, når en skeletmuskelcelle stimuleres med et enkelt stimuli, ved en belastning på 2 N. Nederst: koordinatsystem til indtegning af ændring af muskellængden over tid.

1) **Skitser en graf for ændring af muskellængden som funktion af tid i det nederste koordinatsystem i figur 1.**
   *Jeg har tegnet at der ikke sker nogen lægdeændring. Dette skyldes at belastningen var 2N og musklen opbygger kun en kraft til 1 N, som dermed ikke er nok til at løfte loddet.*




2) **Angiv, hvilken type kontraktion der er tale om.**

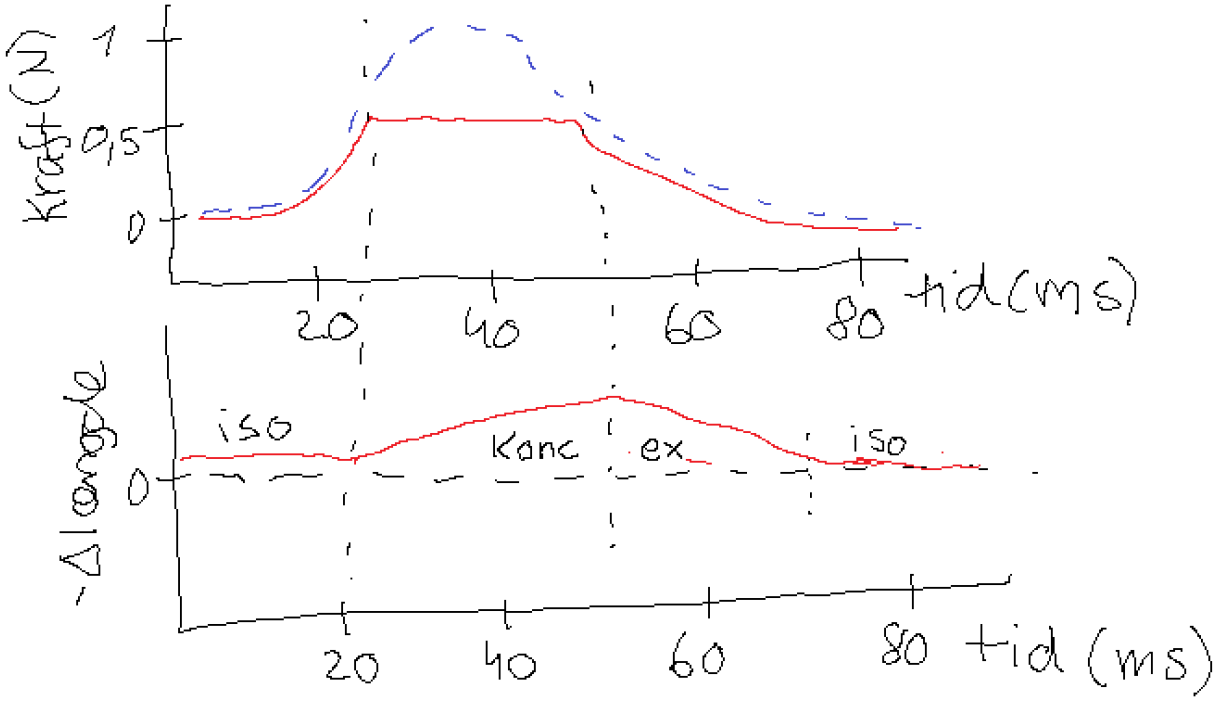
*Isometrisk kontraktion*

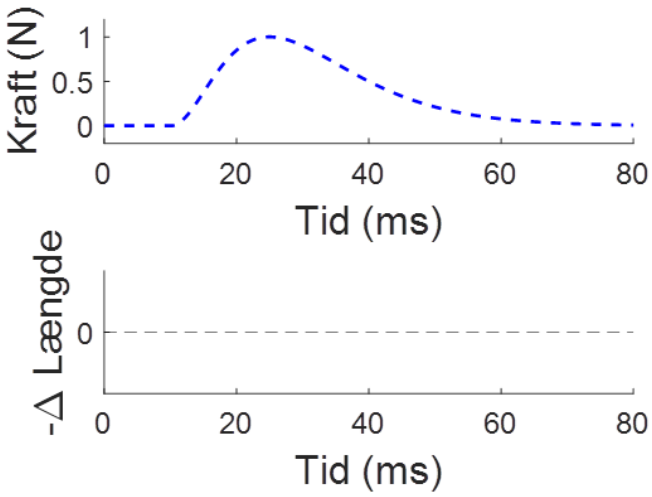
Nu ændres den ydre belastning til 0,5 N og musklen stimuleres på samme måde som før.

3) **Skitser i nedenstående koordinatsystemer (figur 2) hvordan <u>kraft og længde</u> ændrer sig over tid. Til sammenligning er ændringen af kraft over tid ved en belastning på 2 N indtegnet som en stiplet linje**.

*Kraften vil stige på samme måde som før indtil 0,5 N. Her vil der ved den nye belastning på 0,5 N, ses en isotonisk kraft. Kraften vil falde på samme måde som før.*

*Under den isotonisk periode vil der være en koncentrisk kontraktion. Når kraften aftager vil der være excentrisk kontraktion,*




Figur 2. Øverst: koordinatsystem til indtegning af kraftudvikling over tid, når en skeletmuskelcelle stimuleres med et enkelt stimuli, ved en belastning på 0,5 N. Til sammenligning er ændringen af kraft over tid ved en belastning på 2 N indtegnet som en stiplet linje. Nederst: koordinatsystem til indtegning af ændring af muskellængden over tid.

4) **Redegør for forskellene i kraftudvikling og ændring i muskellængden når belastningen reduceres fra 2 til 0,5 N.**

*Ved en ydre belastning på 2 N ville muskel opbygge kraft men aldrig nå en isotonisk fase da musklen max kom op på 1 N. Da den ydre belastning blev reduceret til 0,5 N, vil muskle i starten opbygge kraft på samme måde som før. Når den når til 0,5 N vil den dog have en isotonisk fase. Til sidst falder kraften igen på samme måde som før*

*Ved ydre belastning på 2 N ses der kun isometrisk kontraktion. Ved 0,5 N vil der også være isometrisk kontraktion i starten, men når musklen når op på 0,5 N vil den lave koncentrisk kontraktion. Når kraften igen falder vil den lave excentrisk kontraktion indtil længden er tilbage til udgangspunkt.*

Både kraftudvikling og ændring af muskellængden skyldes tværbrodannelse.

5) **Redegør for tværbrocyclus.**

*For at tværbrocyklussen kan ske skal calcium binde til troponin C, så tropinin komplekset blotter myosinhovedernes bindingssted på aktin. Myosinhovederne har ADP og P bundet. Myosinhovederne vil binde på aktin. Frisættelsen af P, gør at affinitteten bliver bedre og de laver et powerstroke, hvor aktin bliver trukket længere mod M-linjen i sarkomeret. Efter powerstroket vil GDP udbyttes med GTP som får myosinhovederne til at slippe aktin. Hydrolysen af GTP til GDP og P vil trække myosinhovederne tilbage til udgangspunkt. Her kan de igen binde til aktin hvis calcium fortsat er bundet til troponin C.*