



06 juni 2024

Planlagt: 14:00-18:00

Eksamensnr: 49

Plads: EH-0099

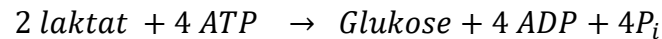
Side 1 af 11

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.

Omdannelsen af laktat til glukose ses nedenfor:

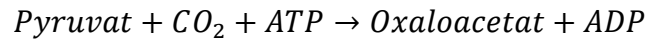


Jf. ovenstående ligning er nettoomkostningen af glukoneogenesen, ud fra 2 laktat til 1 glukose, 2 ATP.

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

De fire enzymer, som indgår i glukoneogenesen (omdannelsen af laktat til glukose) men ikke i den anaerobe glykolyse (glukose til laktat) er følgende:

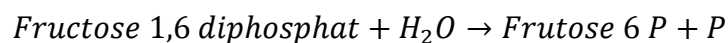
1. 169: Puryvat carboxylase (Cofaktor: Biotin)



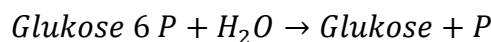
2. 148: PEP carboxykinase



3. 67: Fructose-1,6-di-fosfatase



4. 74: Glukose-6-fosfatase



(Dette enzym findes kun i leveren.)

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

Fructose-1,6-di-fosfatase katalyserer omdannelsen af fructose-1,6-di-fosfat til fructose-6-P. Dette enzym reguleres af koncentrationen af fructose-2,6-difosfat, som igen reguleres af et bifunktionelt enzym (fosfofruktokinase II). Ved høje glukagonniveauer (høj glukagon/insulin ratio) vil de bifunktionelle enzym fungere som en phosphatase, hvormed koncentrationen af fructose-2,6-difosfat opreguleres. Når koncentrationen af fructose-2,6-difosfat er højt, vil glukoneogenesen stimuleres.

Glukose-6-fosfatase, et enzym som udelukkende findes i leveren, katalyserer omdannelsen af glukose-6-fosfat til glukose. Dette enzym aktiveres allosterisk af høje glukose-6-fosfat koncentrationer.

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

Glukoneogenesen kan under faste omsætte tre forskellige metabolitter til glukose: Laktat, glycerol og alanin.

Muskelcellers og erythrocytters anaerobe glykolyse danner laktat som slutprodukt. For at forhindre ophobning af laktat i kroppen, vil denne laktat kunne omdannes til pyruvat, der videre kan omsættes til glukose i glukoneogenesen under forbrug af ATP – denne proces kaldes Cori cyklus, og forløber hele tiden.

Ligeledes vil man kunne bruge aminosyren alanin fra muskelcellers proteinnedbrydning som metabolit til omdannelse af pyruvat. Alanin som metabolit i glukoneogenesen er den *mindst* favorable energimæssigt.

Fedtvæv forsyner ligeledes leveren med glycerol, som kan bruges i glukoneogenesen. Denne glycerol stammer fra hydrolysering af TAG, der omdannes til frie fedtsyrer og glycerol, hvor glycerol transporteres tilbage til levervæv, hvor det her kan indgå som metabolit i glukoneogenesen, med glukose som slutprodukt. TAG transporteres rundt i kroppen i form af lipoproteiner, enten chylomikroner eller VLDL (Very low density lipoprotein), som bærer TAG i deres hydrofobe indre sammen med kolesterolestere og evt. fedtopløselige vitaminer (K, E, D, A). Når lipoproteinpartiklerne bærer apoprotein CII vil TAG hydrolyseres af lipoproteinlipasen (LPL) som sidder forankret i endothelet.

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

Et hormon som aktiverer glukoneogenesisen i lever er glukagon. Under faste er der netop høje glukagonkoncentrationer (høj glukagon/insulin ratio). Som også nævnt i opgave 1c) vil denne høje glukagonkoncentration medføre aktivering af fosfataser, hvorved det bisfunktionelle enzym (fosfofruktokinase II) defosforyleres og opregulerer niveauet af fructose-2,6-difosfat. Dette medfører stimulering af fructose-1,6-diphosphatase. Glukagon stimulerer altså glukoneogenesisen, og hæmmer glykolysen.

Et hormon som hæmmer glukoneogenesisen i lever er insulin, som er antagonist til glukagon. Insulin vil i velfodret tilstand (høj insulin/glukagon ratio), omvendt glukagon, aktivere kinaser, som fosforylerer det bisfunktionelle enzym – dette nedregulerer koncentrationen af fructose-2,6-difosfat, hvorved glukoneogenesisen hæmmes. Det vil sige, at insulin hæmmer glukoneogenesisen, men stimulerer glykolysen.

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.**

Hjernen omsætter 20 mol ATP dagligt, hvorfor 70% af hjernens energibehov svarer til:

$$\frac{20 \text{ ATP}}{100} * 70\% = 14 \text{ ATP}$$

Da fuldstændig oxidation af β -hydroxybutyrat til kuldioxid giver 21,5 ATP, kan vi udregne, hvor mange mol β -hydroxybutyrat, der skal til for at dække 70% af hjernens energibehov:

$$\frac{20 \text{ ATP}}{21,5 \text{ ATP}} = 0,95 \text{ mol } \beta\text{-hydroxybutyrat}$$

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

Det angives at molmassen af palmitat er 256 g/mol. Der drages derudover følgende antagelser for at løse denne opgave: *Det antages, at forholdet mellem palmitat og acetyl-CoA er 1:1, og at forholdet mellem acetyl-CoA og β -hydroxybutyrat er 2:1.*

Grundet ovenstående antagelser, må stofmængden af palmitat det dobbelte af stofmængden af β -hydroxybutyrat:

$$n_{\text{palmitat}} = n_{\text{betahydroxybutarat}} * 2 = 0,95 * 2 = 1,90 \text{ mol}$$

$$m_{\text{palmitat}} = n_{\text{palmitat}} * M_{\text{palmitat}} = 1,90 \text{ mol} * 256 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 486,40 \text{ g}$$

Der skal 1,90 mol palmitat, og 486,40 g palmitat til at danne 0,95 mol β -hydroxybutyrat.

- 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.**

Omsætning af β -hydroxybutyrat, deles op i flere trin for overskuelighedens skyld i følgende tabel:

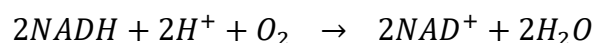
Enzymnummer	β -hydroxybutyrat			
103	↓	1 NADH	x 2,5 ATP	+2,5 ATP
	Acetoacetat			
112	↓			
	Acetoacetyl-CoA	-1 GTP		-1 ATP
2	↓			
	2 Acetyl-CoA			
	↓	6 NADH	x 2,5 ATP	
2 x TCA-cyklus	↓	2 $FADH_2$	x 1,5 ATP	+20 ATP
	↓	2 ATP		
	$CO_2 + H_2O$		I alt:	<u>21,5 ATP</u>

Af ovenstående reaktioner ses det at β -hydroxybutyrat omdannes til acetoacetat uder forbrug af 1 NADH svt. 2,5 ATP. Acetoacetat kan via acetoacetyl-CoA omdannes til 2 acetyl-CoA, som indgår i TCA-cyklus. Hver acetyl-CoA danner 3 NADH, 1 $FADH_2$ og 1 ATP pr. TCA-cyklus, hvor 2 "omgange" TCA-cyklus giver et energiudbytte på 20 ATP.

Dette giver samlet et ATP-udbytte på 21,5 ATP for omsætningen af β -hydroxybutyrat.

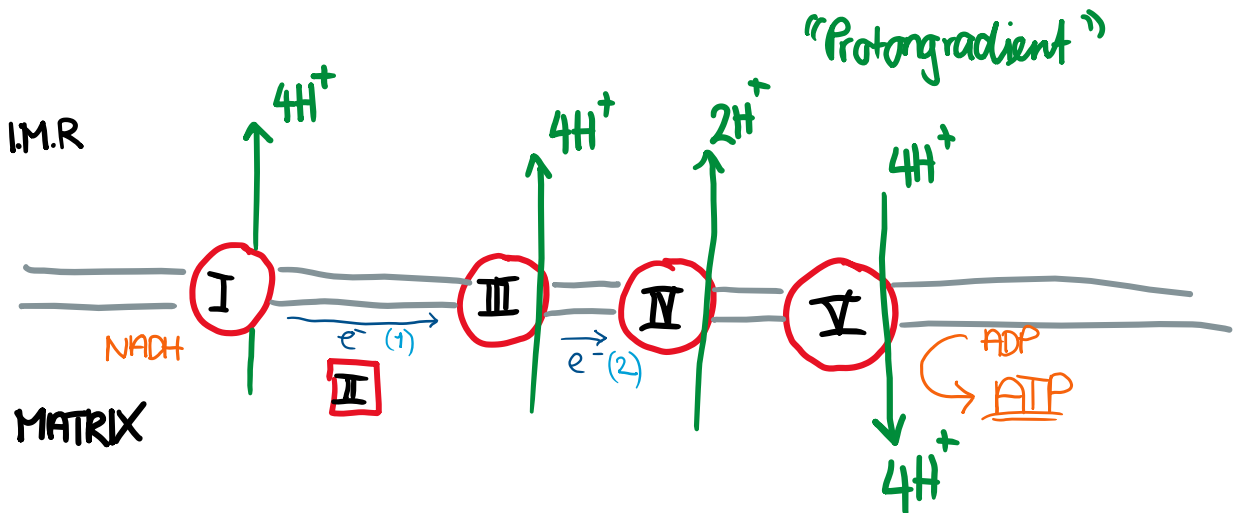
- d) **Opskriv en afstemt ligning for oxidation af NADH i respirationskæden uden at medtage ATP-dannelse. Vand og H^+ skal også afstemmes.**

Her ses en afstemt ligning for oxidation af NADH i respirationskæden, dog uden at ATP-dannelsen er medtaget:



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

NADH-oxidationen foregår i mitokondrier i elektrontransportkæden (ETK). Nedenstående tegning illustrerer elektrontransportkæden, dens fem komplekser samt deres subcellulære lokalisation.



Ovenfor ses de fem komplekser i ETK, hvoraf kompleks I, II, IV og V er transmembrane komplekser. Kompleks II derimod ligger i mitokondriematrix. Elektronerne transporteres mellem komplekserne af transportenzymene coenzym Q (1) og cytochrom C (2), markeret med lyseblå.

I elektrontransportkæden vil H^+ -ioner pumpes fra mitokondriematrix til det intramembranøse rum (I.M.R, sort) af de forskellige komplekser, hvorved der dannes en protongradient uden for mitokondriematrix. Denne protongradient udnyttes af det sidste kompleks, kompleks V, som pumper protonerne ind i mitokondriematrix igen, hvorved der dannes ATP ud fra ADP og P.

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.**

Pelliklen dannes på den rene tandoverflade. Calciumioner binder sig til tandoverfladen grundet emaljens indhold af negativladede fosfationer, hvorved pelliklen bliver positivt ladet. Denne positive ladning tiltrækker de negativt ladede glykoproteiner fra spyttet, hvoraf sure prolinrige proteiner, statheriner og histarinholdige proteiner er de først til at binde. Nu er tandoverfladens nettoladning negativ. Dette kan reducere bakteriers binding til pelliklen op til 90%, idet bakterierne ligeledes er negativt ladede på deres overflade.

Denne elektrostatiske frastødning kan dog ikke eliminere alle bakteriers binding til pelliklen. De resterende 10% godt kan danne svage, uspecifikke, reversible bindinger (fx Van der Waals bindinger) til pelliklen. Denne initiale binding skaber grobund for andre bindinger, hvor andre bakterier danner stærke, specifikke og irreversible bindinger, og herved kan tandoverfladen koloniseres yderligere. Dette gør bakterierne ved co-aggregation, hvor de gør brug af fimbriale (fimbriae, pili) og afimbraiel adhæsiner (glykocalyx). Såfremt denne binding ikke brydes kan bakterierne begynde at danne en etableret biofilm på tandoverflade, hvor de danner ekstracellulære og intracellulære polysakkarider (EPS og IPS). Secernering af EPS bidrager til dannelse og udvidelse af bakteriernes ekstracellulærematrix, hvorved biofilmen med tiden bliver mere adhærerende, tyk, impermeabel og forholdene i biofilmen bliver tiltagende anaerobiske.

De typiske kolonisatorer af tandoverfladen er i første omgang de grampositive orale streptokokker *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. oralis* og *S. gordonii*. Såfremt den initiale binding til pelliklen ikke brydes ses som forment tiltagende anaerobe forhold, hvilket favoriserer bakteriearter som *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Actinomyces* og *S. mutans* (ved cariogene forhold).

- 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).**

Hvis biofilmens pH falder til en lavere værdi end biofilmvæskens kritiske pH mht. HAp, vil der kunne ske demineralisering af emaljen.

Den kritiske pH er den pH værdi, hvor der skær lige så meget mineralopløsning, som der sker mineraludfældning. Det vil sige, at mætningsgraden mht. HAp er 1, $DS_{HAp} = 1$.

Her er opløselighedsproduktet mht. HAp lig med ionaktivitetsproduktet mht. HAp. Den kritiske pH mht. HAp kan defineres som:

$$\text{Den kritiske pH} = (Ca^{2+})_{10}(PO_4^{3-})_6(OH^-)_2 = 10^{-117} * M^{18}$$

Hvis dette forhold, eller denne ligevægt forskydes, vil der kunne ske demineralisering af emaljeområder.

Det skal yderligere noteres at den kritiske pH mht. HAp kan variere fra person til person, grundet hvert individs forskellige sammensætning af ioner, som indgår i HAp.

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

Ved demineralisering af emaljen vil ionaktivitets produktet mht. HAp falde under opløselighedsproduktet mht. HAp. Dette kan også udtrykkes ved $I_{HAp} < K_{SpHAp}$, hvorved der sker opløsning af mineral og demineralisering af emaljens hydroxylapatitkrystaller.

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.

Aerob bakteriel glykolyse fører til fuldstændig oxidation af glukose til vand og kuldioxid, som slytprodukter. Anaerob bakteriel glykolyse derimod, medfører fald i den dentale biofilm, idet der enten dannes laktat som slutprodukt, eller andre organiske lavmolekylære syrer, alt efter kulhydrattilgængeligheden.

Ved høj kulhydrattilgængelighed vil der være høje koncentrationer af både fruktose-1,6-diphosphat og 3-P-glyceraldehyd. Den høje koncentration af fruktose-1,6-diphosphat medfører aktivering af enzymet laktatdehydrogenase (LDH), som katalyserer omdannelsen af pyruvat til laktat. Den høje koncentration af 3-P-glyceraldehyd vil samtidig hæmme pyruvatformatlyasen (PFL). Denne omsætningsvej ved høj kulhydrattilgængelighed giver et nettoudbytte på 2 ATP.

Ved lav kulhydrattilgængelighed vil der omvendt være lave koncentrationer af fruktose-1,6-diphosphat og 3-P-glyceraldehyd. Den lave koncentration af fruktose-1,6-diphosphat vil hæmme laktatdehydrogenasen, hvorved der ikke dannes laktat. Den lave koncentration af 3-P-glyceraldehyd vil derimod aktivere pyruvatformatlyasen, hvorved der dannes lavmolekylære syrer som smørsyre, methansyre, propionsyre og eddikesyre. Denne omsætningsvej er favorabel og medfører dannelse af 1 ekstra ATP svt. et nettoudbytte på 3 ATP.

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

To bakterielle processer, der kan medføre en efterfølgende pH stigning i biofilmvæsken er ADI-systemet, samt urease aktivitet.

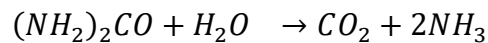
Nogle bakterier udtrykker ADI-systemet, eller *Arginin deiminase pathway*. Denne pathway udnytter nedbrydningen af aminosyren arginin til ornithin, hvor der samtidig dannes ammoniak og ATP. Nedenfor ses de væsentlige trin in ADI-pathway:

1. $Arginin + H_2O \rightarrow Citrullin + NH_3$
2. $Citrullin + P \rightarrow Carbomoyl P + ornithin$
3. $Carbomoyl P + ADP \rightarrow CO_2 + H_2O + ATP$
4. $Ornithin + H^+ \rightarrow Putrescin + CO_2$

Reaktion 3 er en ATP dannende reaktion, mens reaktion 1, 2 og 4 er basedannende reaktioner. Ammoniak er en base, som kan medføre neutralisering af biofilmsvæskens pH. Ligeledes ses en

transamineringsreaktion, hvor aminosyren ornithin danner den ildelugtende diamin, putrescin, der også er en nitrogenforbindelse, som øger pH.

Andre bakterier udnytter også nedbrydningen af urea katalyseret af enzymet urease til at øge pH i plakvæsken. Urea er en nitrogenforbindelse, som sammen med vand kan nedbrydes til kuldioxid og ammoniak. Ligesom i ADI-systemet vil dannelsen af ammoniak, som følge af ureaseaktivitet, medføre neutralisering af plakvæskens pH.



Begge disse processer medfører dermed stigning i pH, hvilket gør miljøet i biofilmen mere gunstigt for bakteriernes vækst.

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

Fluoridioner har både uorganiske og organiske funktioner. Fluorids uorganiske funktioner spiller en rolle i remineralisering af emalje, men det er fluorids organiske egenskaber, som fører til fald i pH i biofilmen.

Fluorid virker pH-reducerende idet ionen vil binde til enzymet enolase, hvorved bakteriernes glukosemetabolisme nedsættes. Enolase katalyserer omdannelsen af 2-P-glycerat til 2 PEP. Enzymet er afhængigt af binding til en magnesiumion, før det er aktivt. Fluorids binding til enolase hæmmer binding derfor af magnesiumionen, hvorfor fluorid virker allosterisk hæmmende. Den ene PEP vil i phosphotransferase systemet (PTS) blive omdannet til laktat, og den anden PEP vil bidrage til transport af endnu et glukosemolekyle ind i bakteriecellen.

Når enolase er hæmmet, vil der hverken kunne dannes laktat ud fra PEP eller transporteres mere glukose ind i cellen vha. PEP. Hæmning af enolase reducerer altså *direkte* syredannelse (laktatdannelse) men også *indirekte*, ved at eliminere yderligere glukoseoptagelse i cellen til metabolisering. Således kan fluoridioner påvirke bakterielle processer, der fører til pH fald i biofilmen.