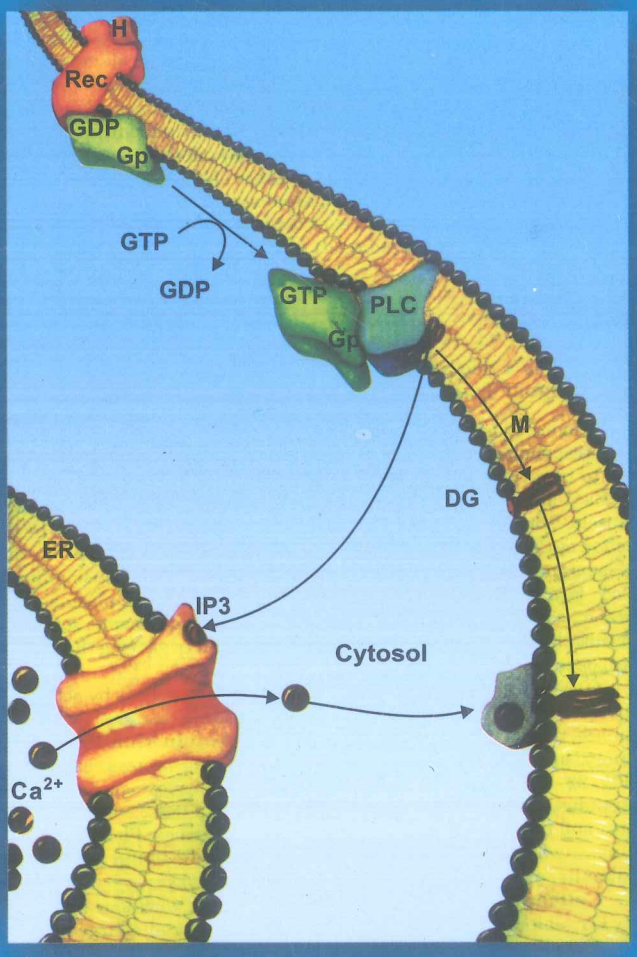
DH2.13

BỘ Y TẾ
VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO

HÓA SINH HỌC

SÁCH DÙNG ĐÀO TẠO DƯỢC SĨ ĐẠI HỌC



NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

BỘ Y TẾ
VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO

HOÁ SINH HỌC

Sách dùng đào tạo dược sỹ đại học

Mã số Đ20Y02

TRƯỜNG Đ.H KINH DOANH VÀ CÔNG NGHỆ HN
ĐH2.13|2014
THƯ VIỆN

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2007

CHỈ ĐẠO BIÊN SOẠN:

Vụ Khoa học và Đào tạo, Bộ Y tế

CHỦ BIÊN:

GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng

NHỮNG NGƯỜI BIÊN SOẠN:

GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng

PGS.TS. Đào Kim Chi

PGS.TS. Phạm Quang Tùng

TS. Nguyễn Văn Đồng

THAM GIA TỔ CHỨC BẢN THẢO:

TS. Nguyễn Mạnh pha

ThS. Phí Văn Thâm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

© Bản quyền thuộc Bộ Y tế (Vụ Khoa học và Đào tạo)

LỜI NÓI ĐẦU

Thực hiện nghị định 43/2000/ND - CP ngày 30/08/2000 của Chính phủ quy định chi tiết và hướng dẫn triển khai luật Giáo dục, Bộ Giáo dục - Đào tạo và Bộ Y tế phê duyệt, ban hành chương trình khung cho đào tạo dược sỹ đại học, Bộ Y tế tổ chức biên soạn bộ tài liệu dạy - học các môn học cơ sở và chuyên môn theo chương trình mới, nhằm từng bước xây dựng bộ sách chuẩn trong công tác đào tạo dược sỹ đại học.

Sách Hoá sinh học được biên soạn dựa trên chương trình chi tiết các môn học đào tạo dược sỹ đại học của Trường Đại học Dược Hà Nội.

Hóa sinh là công cụ của sinh học nói chung và y dược học nói riêng. Vì vậy kiến thức hoá sinh cơ bản cần được cung cấp đầy đủ cho sinh viên dược để có thể hiểu sâu sắc thành phần cấu tạo và các quá trình chuyển hoá các chất trong cơ thể sống liên quan chặt chẽ đến tác dụng của thuốc và bệnh học.

Nửa cuối thế kỷ XX, hoá sinh học là một trong những lĩnh vực phát triển mạnh nhất của sinh học. Nhiều thành tựu của hoá sinh đã góp phần tích cực cho sự hiểu biết sâu sắc bản chất của sự sống, của các quá trình sống, cơ sở phân tử của quá trình truyền thông tin di truyền, cơ sở phân tử của bệnh học, cơ sở của dược lý phân tử.

Sách Hoá sinh học bao gồm 15 chương với hai nội dung chính là:

– Hoá sinh cấu trúc: giới thiệu cấu trúc, tính chất và chức năng các thành phần cấu tạo chủ yếu của tế bào.

Hoá sinh chuyển hoá: giới thiệu chuyển hoá các chất chủ yếu trong cơ thể, hoá sinh lâm sàng.

Sách Hoá sinh học này dùng cho sinh viên dược năm thứ ba, sinh viên chuyên tu, học viên học dược sỹ bằng hai và cũng là tài liệu tham khảo cho cán bộ y dược ngành y tế. Ngoài sách Hoá sinh học, Bộ môn Hoá sinh Trường Đại học Dược Hà Nội đã biên soạn bộ câu hỏi trắc nghiệm môn hoá sinh để tự lượng giá theo chương trình đào tạo dược sỹ đại học, tài liệu này là tài liệu tham khảo nội bộ do thư viện Trường Đại học Dược Hà Nội xuất bản.

THƯ VIỆN HUBT

Năm 2005, sách Hoá sinh học đã được hội đồng chuyên môn thẩm định sách giáo khoa và tài liệu dạy - học của Bộ Y tế thẩm định. Bộ Y tế cho phép sách Hoá sinh học được làm tài liệu dạy - học chính thức của ngành dược trong giai đoạn này. Sách được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật trong quá trình sử dụng.

Vụ Khoa học và Đào tạo Bộ Y tế xin chân thành cảm ơn GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng chủ biên cuốn sách và các tác giả PGS.TS. Đào Kim Chi, PGS.TS. Phạm Quang Tùng, TS. Nguyễn Văn Đồng là những cán bộ giảng dạy nhiều năm của Bộ môn Hoá sinh Trường Đại học Dược Hà Nội đã tích cực tham gia biên soạn và hoàn chỉnh cuốn sách Hoá sinh học này.

Vì là lần đầu xuất bản nên chắc chắn còn thiếu sót, chúng tôi mong được nhận ý kiến đóng góp của sinh viên, đồng nghiệp và độc giả.

Vụ Khoa học và Đào tạo
Bộ Y tế

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

MỤC LỤC

	Trang
Lời nói đầu	3
Mở đầu	9
Biên soạn: GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng	
Chương 1. Glucid	14
Biên soạn: PGS.TS. Đào Kim Chi	
1. Đại cương	14
2. Monosaccarid	15
3. Disaccarid	23
4. Polysaccarid	25
Chương 2. Lipid	31
PGS.TS. Đào Kim Chi	
1. Đại cương	31
2. Acid béo	32
3. Alcol	35
4. Lipid đơn giản - glycerid	36
5. Lipid phức tạp	40
6. Lipid lưỡng cực (amphipathic lipid)	49
Chương 3. Acid amin và protein	51
PGS.TS. Đào Kim Chi	
1. Acid amin	51
2. Peptid	66
3. Protein	69
Chương 4. Protein liên hợp (hemoglobin và acid nucleic)	87
PGS.TS. Đào Kim Chi	
1. Hemoglobin	87
2. Acid nucleic	96
Chương 5. Enzym	130
GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng	
1. Lịch sử và định nghĩa	130

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. Cấu tạo phân tử 130
3. Danh pháp và phân loại 136
4. Những nét cơ bản của động học enzym 138
5. Tính đặc hiệu của enzym 168
6. Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt động enzym 169
7. Cơ chế hoạt động chung của enzym 172
8. Hoạt động của một số enzym 174
9. Chất cộng tác của enzym (cofactor) 177
10. Điều hoà enzym 188
11. Chiết xuất và tinh chế enzym 189
12. Enzym và tác dụng của thuốc 190

Chương 6. Hormon 192

PGS.TS. Đào Kim Chi

1. Đại cương 192
2. Hormon có bản chất protein và polypeptid 206
3. Hormon là dẫn xuất của acid amin 225
4. Hormon steoid 232

Chương 7. Trao đổi chất, oxy hoá sinh học, chu trình Krebs 253

GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng

1. Trao đổi chất 253
2. Oxy hoá sinh học (hô hấp tế bào) 255
3. Chu trình acid citric (chu trình Krebs) 275

Chương 8. Chuyển hoá glucid 285

PGS.TS. Đào Kim Chi

1. Tiêu hoá và hấp thu glucid 285
2. Thoái hoá glucid ở tế bào và mô 287
3. Tổng hợp glucid ở tế bào và mô 313
4. Điều hoà chuyển hoá glucid 325
5. Rối loạn chuyển hoá glucid 330

Chương 9. Chuyển hoá lipid 333

TS. Nguyễn Văn Đồng

1. Tiêu hoá và hấp thu lipid 333

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. Thoái hoá lipid 336
3. Tổng hợp lipid 346
4. Ảnh hưởng của các hormon lên chuyển hoá lipid 358
5. Chuyển hoá cholesterol 360
6. Lipoprotein và sự vận chuyển lipid 365
Chương 10. Chuyển hoá protid và acid nucleic 372
PGS.TS. Phạm Quang Tùng
1. Sinh tổng hợp mononucleotid 372
2. Chuyển hoá của acid nucleic 380
3. Thuỷ phân protein trong quá trình tiêu hoá protid 395
4. Chuyển hoá acid amin 397
5. Sinh tổng hợp protein đặc hiệu 426
6. Chuyển hoá hemoglobin 445
Chương 11. Liên quan chuyển hoá và điều hoà 455
GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng
1. Sự liên quan giữa các quá trình chuyển hoá trong cơ thể 455
2. Điều hoà chuyển hoá 459
Chương 12. Sự trao đổi nước và các chất vô cơ, thăng bằng acid - base 475
GS.TS. Nguyễn Xuân Thắng
1. Sự trao đổi nước và các chất vô cơ 475
2. Thăng bằng acid - base 484
Chương 13. Hoá sinh máu 499
TS. Nguyễn Văn Đồng
1. Tính chất hoá lý của máu 500
2. Quá trình đông máu và hệ thống chống đông máu 502
3. Thành phần hoá học của máu 506
Chương 14. Hoá sinh gan 519
TS. Nguyễn Văn Đồng
1. Thành phần hoá học của mô gan 520
2. Các chức phận hoá sinh của gan 520
3. Thăm dò hoá sinh hệ thống gan mật 530

THƯ VIỆN HUBT

Chương 15. Hoá sinh thận và nước tiểu 533

TS. Nguyễn Văn Đồng

1. Chức năng lọc và bài tiết của thận 533
2. Chức năng điều hoà thăng bằng acid - base 537
3. Chức năng nội tiết của thận 538
4. Chức năng chuyển hoá các chất của thận 542
5. Nước tiểu người 543
6. Thử nghiệm thăm dò chức năng thận 550

Tài liệu tham khảo 553

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

MỞ ĐẦU

1. Định nghĩa

Hoá sinh là môn học nghiên cứu về thành phần hoá học, cấu tạo, tính chất lý hoá, chức năng sinh học của các chất trong cơ thể và các quá trình chuyển hoá của chúng trên cơ thể sống.

2. Lịch sử

Môn hoá sinh được hình thành bắt nguồn từ sự phát triển mạnh mẽ của các môn hoá học và sinh học vào cuối thế kỷ XIX bước sang thế kỷ XX. Sự hình thành đó bắt nguồn từ môn học hoá hữu cơ và sinh lý, dựa vào sự tiến bộ của các ngành khoa học khác như vật lý, hoá phân tích. Sự xâm nhập của hoá học và sinh học với nhiều công trình như: tổng hợp chất hữu cơ urê (Waller 1828), bản chất của sự thở (Lavoisier 1794), vai trò diệp lục trong quang hợp (Timirazep 1843 - 1920), đặc biệt là các công trình về chất xúc tác sinh học enzym (Kirchhoff, Pasteur, Buchner), các công trình về vitamin (Lunin và Funk), các công trình về tiêu hoá (Paplov) cùng với sự phát triển của môn sinh lý học dẫn đến việc tách riêng môn hoá sinh thành môn độc lập phục vụ cho nhiều ngành, nó phát triển như vũ bão với bề dày của các công trình ngày một tăng lên.

Năm 1897 Eduard Buchner lần đầu tiên chiết được enzym thô từ tế bào nấm men có khả năng thuỷ phân đường. Trước đó không lâu Friedrich Miescher phát hiện ra ADN. Mac. Munn (1886) tìm ra được cytocrom tham gia hệ thống vận chuyển điện tử ở sinh vật.

Danh từ hoá sinh lần đầu được nhà hoá học Đức Carl Neuberg (1903) đề xuất từ hai chữ hoá và sinh (Biochemistry, Bio = sự sống) đã được nhiều người đồng tình và ủng hộ. Sang thế kỷ XX, nhiều phát minh và ứng dụng về hoá sinh được ghi nhận. Năm 1926 enzym có bản chất protein được xác định và urease được kết tinh lần đầu tiên, thời gian này ATP được chiết xuất (Fiske và Subbarow 1929), tiếp đó là phản ứng ATP - phosphocreatin cơ bởi Lohmann 1932, đến năm 1940 Lipmann mô tả vai trò của ATP trong quá trình dự trữ và vận chuyển năng lượng. Riboflavin được Kuhr tìm ra năm 1935 có trong thành phần một số enzym. Tiếp đó sau hai năm, công trình hoá sinh nổi bật của Hans Krebs (1937) tìm ra chu trình acid citric; cùng năm đó Lohmann và Shuster tìm ra vitamin B_1 là coenzym của pyruvat decarboxylase. Năm 1944 Avery, Maclesa và Mac Carty chỉ ra ADN cơ sở của sự di truyền mở đầu cho môn hoá sinh di truyền, Lipmann và Kaplan (1947 - 1948) tìm ra được coenzym A có vai trò trong nhiều phản ứng hoá học. Kennedy và Lehninger (1950) tìm ra sự phân huỷ mỡ, quá trình hô hấp tế bào, sản sinh ATP ở ty thể. Cấu trúc bậc 1 theo đề nghị của Emil Fischer đã được Sanger xác định, trong đó có insulin được xác định toàn bộ thứ tự acid amin vào năm 1953. Pauling và Grey (1952) công bố cấu trúc bậc 2 dạng xoắn của protein. Năm 1958, Ingram tìm ra được cấu trúc của hemoglobin bình thường và lưỡi liềm. Thành phần acid amin của ribonuclease được Hirs, Moore, Stein xác định năm 1960.

THƯ VIỆN HUBT

Đến năm 1961 là năm có nhiều phát minh về sinh hoá nhất: Nirenberg, Matthai tìm ra polyuridyl mã hoá phenylalanin; Jacob, Monod và Changeux tìm ra enzym dị lập thể. Chính Jacob và Monod tìm ra sự điều hoà gen tổng hợp protein. Cùng thời gian đó, nhiều quá trình tổng hợp purin, acid amin, glucid, lipid được sáng tỏ. Năm 1965 Nirenberg, Khorana, Holley nghiên cứu được chức phận riêng biệt mã hoá của acid amin trong quá trình tổng hợp.

Nhiều ngành nhỏ của hoá sinh ra đời như *hoá sinh miễn dịch, di truyền*, đặc biệt một ngành mới gần đây đã xuất hiện, đó là *công nghệ hoá sinh*. Nhiều giải thưởng Nobel đã ghi công các kết quả nghiên cứu quan trọng, mở ra nhiều cánh cửa mới cho sự phát triển của hoá sinh như: hoá sinh của hệ thống miễn dịch của Snell, Bena Cerraf và Dausset năm 1980; cùng năm ấy Paul Berg cũng được giải thưởng Nobel bởi công trình nghiên cứu gắn các mẩu AND; năm 1981 – 1982 thành tựu tổng hợp gen α - interferon gồm 514 đôi base bởi Leicester đã được thực hiện. Từ đó đến nay hàng loạt các công trình khác về nghiên cứu hoá sinh đã áp dụng trong nhiều lĩnh vực khoa học.

Gần đây, năm 1997 giải thưởng Nobel y học trao cho Staley Prusiner về công trình nghiên cứu prion, một khái niệm mới về "*nhiễm khuẩn*", gây bệnh não thể xốp ở người và động vật. Prion viết tắt là PrP là protein tồn tại hai dạng đồng phân alpha và bêta. Ở cơ thể khoẻ mạnh thì PrP có dạng alpha còn khi cơ thể bị bệnh thì dạng alpha bị duỗi ra và xếp thành các băng song song gọi là PrP bêta. Dạng này rất bền với enzym tiêu hoá và không bị phá huỷ ở nhiệt độ cao (đến 200°C). Do vậy prion như tác nhân gây bệnh hoàn toàn mới được bổ sung vào danh sách những tác nhân gây bệnh như virus, vi khuẩn, nấm. Công trình này đưa ra khái niệm bệnh lý phân tử hoàn toàn mới trong sinh học và y học. Công trình không chỉ phát hiện ra tác nhân gây bệnh xốp não và còn đặt nền móng cho sự tìm hiểu cơ chế mất trí liên quan đến bệnh già và bệnh Alzheimer, cũng như đặt nguyên tắc chặt chẽ cho việc ghép các cơ quan phủ tạng của động vật cho con người và thuốc men chế từ động vật dùng cho người.

3. Vai trò của hoá sinh

Hoá sinh có vai trò quan trọng trong toàn bộ lĩnh vực phát triển sinh học. Nhờ sự phát triển hết sức nhanh chóng của sinh học nói chung và sinh hoá nói riêng nhiều cuộc "cách mạng" trong ngành sinh học đã bùng nổ, giải quyết nhiều vấn đề lớn cho yêu cầu của con người như giải quyết bệnh tật, lương thực, thực phẩm. Hiện nay sinh học đang tiến mạnh - thời kỳ *sinh học phân tử*. Hoá sinh đã giữ vai trò là công cụ quan trọng trong sự phát triển của sinh học phân tử cùng với di truyền học và siêu vi khuẩn. Một ngành sinh học phát triển như thế nào có thể nhìn ở mức độ phát triển hoá sinh của ngành ấy và đất nước ấy mà đánh giá. Vai trò và phạm vi nghiên cứu, ứng dụng của hoá sinh rất rộng, không thể nêu chi tiết hết.

THƯ VIỆN HUBT

- Trong phạm vi y dược học, hoá sinh đã đóng góp phần lớn trong việc bảo vệ và không ngừng nâng cao sức khoẻ của con người để thanh toán bệnh tật. Công tác phòng và chữa bệnh muốn có kết quả phải chẩn đoán, theo dõi bệnh tật chính xác, kịp thời nhờ sử dụng tốt công cụ hoá sinh lâm sàng. Hoá sinh giúp cho con người hiểu biết sâu xa nguyên nhân bệnh tật như bệnh tiểu đường do thiếu

insulin, bệnh tê phù do thiếu vitamin B_1, bệnh học phân tử, bệnh chuyển hoá do thiếu enzym. Trong lâm sàng, nhiều xét nghiệm hoá sinh góp phần chẩn đoán nhanh chóng và chính xác bệnh tật như sự tăng cao aminotransferase (GOT, GPT) do bệnh viêm gan hoặc hoạt độ isoenzym creatinkinase (CK - MB) tăng cao là do tế bào tim bị huỷ hoại trong nhồi máu cơ tim. Trong nhiều trường hợp, xét nghiệm hoá sinh giúp cho người thầy thuốc không chỉ theo dõi bệnh tật mà còn điều chỉnh liều lượng thuốc sử dụng cho bệnh nhân.

- Trong di truyền học, người ta đã đề cập đến những mã di truyền do những base purin và pyrimidin trong cấu trúc ADN. Trong miễn dịch học, một trong những quá trình chống đỡ bệnh tật của cơ thể là sự tạo ra kháng thể có bản chất protein. Cấu trúc và chức năng của nó đã được xác định rõ trong những năm qua là nhờ hoá sinh.

- Trong lĩnh vực dinh dưỡng, vấn đề lớn là xây dựng khẩu phần ăn hợp lý; tăng giảm glucid, lipid, protid như thế nào cho hợp lý, cũng như nhu cầu vitamin ra sao cũng cần đến hoá sinh.

- Trong dược lý học, hoá sinh là cơ sở khoa học giúp cho con người hiểu sâu xa về cơ chế tác dụng của thuốc ở mức độ dưới tế bào thông qua tác dụng của thuốc kích thích hay kìm hãm một hay nhiều quá trình chuyển hoá nào đó trong cơ thể người hoặc súc vật gây bệnh. Từ đó có thể có khả năng hiểu chính xác cơ chế tác dụng của thuốc, chẳng hạn vitamin sở dĩ cần thiết vì chúng tham gia vào thành phần coenzym của enzym, thiếu vitamin, phản ứng bình thường do enzym xúc tác bị ngừng trệ, gây rối loạn cho cơ thể; sulfamid có tác dụng kháng khuẩn là do đã chiếm chỗ của paraaminobenzoic trong sự tổng hợp acid folic, một chất cần thiết cho sự phát triển của vi khuẩn. Đối với các kháng sinh thông dụng hiện nay như penicillin, streptomicin người ta đã biết chúng tham gia ngăn chặn một khâu nào đó, một phản ứng nào đó, ở một bộ phân nào đó của sự phát triển vi khuẩn. Nghiên cứu hoá sinh nội tiết, hoá sinh thần kinh, nhiều cơ chế tác dụng của thuốc đã được biết. Từ đó nhiều loại thuốc mới được phát hiện có tác dụng hết sức công hiệu trong điều trị. Hoá sinh có thể cho phép hiểu sâu xa cơ chế tác dụng của thuốc chống virus, ung thư, kháng chuyển hoá, kháng hormon, kháng vitamin.

Hiện nay và tương lai, y học phải tiếp tục giải quyết nhiều vấn đề lớn:

- Tìm hiểu quy luật của sự sống, của di truyền để ứng dụng có lợi cho mục đích con người.
- Kéo dài tuổi thọ của con người
- Kế hoạch hoá vấn đề sinh đẻ
- Thanh toán bệnh ung thư, bệnh do virus và nhiều bệnh hiểm nghèo khác như SIDA

THƯ VIỆN HUBT

Những vấn đề trên cũng đặt một vị trí xứng đáng cho ngành hoá sinh; đặc biệt là hoá sinh về protein và acid nucleic.

Trong thời kỳ hiện nay, sự phát triển nhanh chóng trên toàn cầu về công nghệ sinh học, trong đó có công nghệ sinh học dược, đã tạo ra các loại thuốc, chế phẩm sinh học có hoạt tính cao bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật hoá sinh và vi

sinh hiện đại để tạo ra sản phẩm thuốc có chất lượng cao mà giá thành lại hạ. Đây cũng là phương hướng mà ngành dược, trong đó có hoá sinh cần nghiên cứu và phát triển. Phương hướng này cũng đã được Đảng và Chính phủ nước ta đề ra trong chương trình công nghệ sinh học cần phát triển ở thế kỷ này.

4. Vị trí môn hoá sinh trong chương trình đào tạo dược sĩ

Chương trình hoá sinh này sẽ cung cấp cho sinh viên dược những kiến thức cơ bản sau đây:

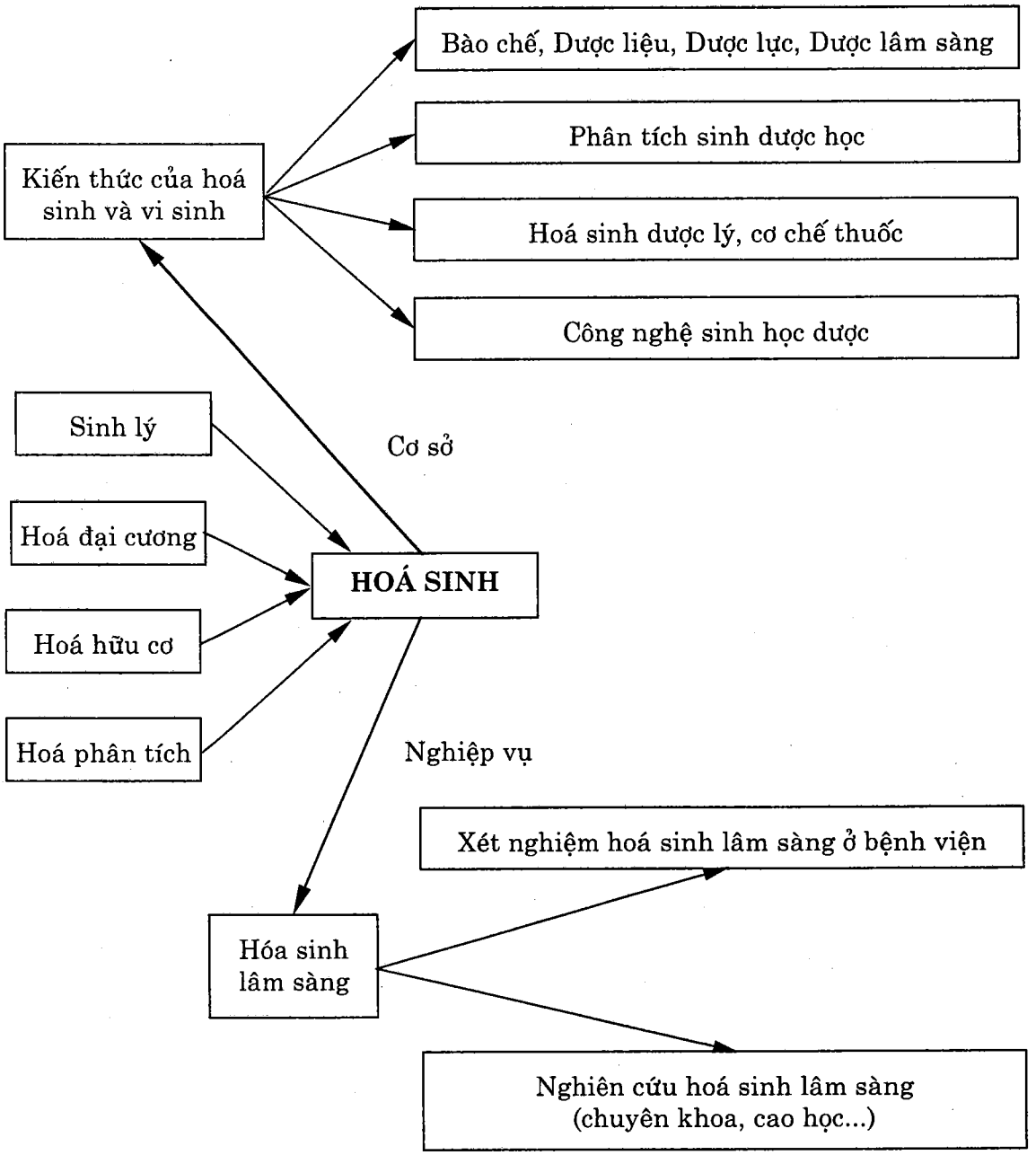
- Vai trò cấu trúc và tính chất của các phân tử sinh học.
- Nồng độ các chất đó trong mỗi tế bào, mỗi dịch sinh vật.
- Cơ chế tạo thành và quá trình vận chuyển các chất.
- Quá trình thoái hoá và tổng hợp các chất.
- Sự trao đổi năng lượng để duy trì sự sống.

Trong công tác đào tạo dược sĩ đa khoa, hoá sinh là môn cơ sở phục vụ cho các môn nghiệp vụ: bào chế, dược lực, hoá dược, dược liệu, kiểm nghiệm, dược lâm sàng... để sinh viên có đủ kiến thức hiểu sâu và nghiên cứu sâu hơn các lĩnh vực trên. Ngoài ra hoá sinh còn là môn nghiệp vụ để nghiên cứu và phục vụ cho khoa xét nghiệm hoá sinh lâm sàng ở bệnh viện.

Chương trình hoá sinh của dược chủ yếu là hoá sinh trên cơ thể người; một phần động vật, thực vật và vi sinh vật có tính kết hợp thêm. Các nguyên liệu làm thuốc một phần có nguồn gốc động, thực vật như: phủ tạng, dược liệu. Một số phương pháp chế tạo thuốc có liên quan đến quá trình hoá sinh. Những kiến thức cơ bản này nếu được bổ túc thêm và sâu hơn các chuyên đề hoá sinh, vi sinh sẽ có khả năng hiểu được nhiều hơn về công nghệ sinh học dược.

Trong thời gian trước đây, hoá sinh còn tham gia đào tạo dược sĩ làm xét nghiệm ở bệnh viện, đào tạo cán bộ hoá sinh cho tuyến trung ương, tỉnh và huyện làm xét nghiệm hoá sinh lâm sàng. Tuy hiện tại nhà trường không đào tạo chuyên khoa về hoá sinh nữa nhưng người dược sĩ tốt nghiệp đại học vẫn sẵn sàng khi có yêu cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Sơ đồ vị trí và nhiệm vụ đào tạo của môn Hoá sinh dược

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 1

GLUCID

MỤC TIÊU

1. *Định nghĩa, phân loại được 3 nhóm của glucid và vẽ được cấu tạo của chúng*
2. *Nêu được tính chất và vai trò của các mono -, oligo - và poly - saccarid quan trọng trong cấu tạo tế bào ở người và vi khuẩn liên quan đến chuyển hoá năng lượng và cơ chế thuốc men.*

1. Đại cương

1.1. Định nghĩa và vai trò

Glucid hay carbohydrat là những polyhydroxy aldehyd hay ceton (có 2 nhóm -OH trở lên) và các dẫn xuất của chúng, có công thức tổng quát là $(CH_2O)n$.

Trong cơ thể, glucid vừa đóng vai trò cấu tạo, vừa đóng vai trò chuyển hoá năng lượng. Nó có thể được tổng hợp một lượng nhỏ từ lipid và protein, song phần lớn được cung cấp từ thực vật. Glucid từ thức ăn được cơ thể hấp thu dưới dạng glucose là nguồn nhiên liệu chính cung cấp năng lượng cho cơ thể, đồng thời được biến đổi thành những thành phần glucid khác có nhiều chức năng đặc biệt như glycogen (vai trò dự trữ), ribose (trong thành phần của acid nucleic), galactose (trong thành phần lactose của sữa), peptidoglycan, glycoprotein và glycolipid (trong thành phần màng tế bào), glycosaminoglycan và proteoglycan (trong thành phần matrix ngoài tế bào)...

Có nhiều bệnh liên quan đến glucid như: bệnh đái đường, bệnh galactose huyết, bệnh ứ đọng glycogen, bệnh không dung nạp sữa...

1.2. Phân loại

Glucid được phân loại thành 3 nhóm:

– *Monosaccarid* (ose, đường đơn): là đơn vị cấu tạo của glucid không bị thuỷ phân thành những chất đơn giản hơn. Tùy theo số carbon trong mạch hydrocarbon mà có thể gọi tên các đường đơn là: các triose, tetrose, pentose, hexose, heptose, octose... Cũng có thể chia monosaccarid thành 2 phân nhóm là aldose và cetose dựa vào nhóm chức aldehyd hay ceton trong phân tử.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ví dụ:

		Aldose	Cetose
Triose	$(C_3H_6O_3)$	Glycérose	Dihydroxyceton
Tetrose	$(C_4H_8O_4)$	Erytrose	Erytrulose

Pentose	($C_5H_{10}O_5$)	Ribose	Ribulose
Hexose	($C_6H_{12}O_6$)	Glucose	Fructose

– *Oligosaccarid:* là những chuỗi ngắn monosaccarid nối với nhau bằng các liên kết glycosid.

Ví dụ:

Saccarose, lactose, maltose (disaccarid)

Maltosetriose, rafinose (trisaccarid)

Oligosaccarid trong glycoprotein có thể chứa tới 14 monosaccarid.

– *Polysaccarid:* là những glucid khi thuỷ phân cho nhiều đơn vị monosaccarid.

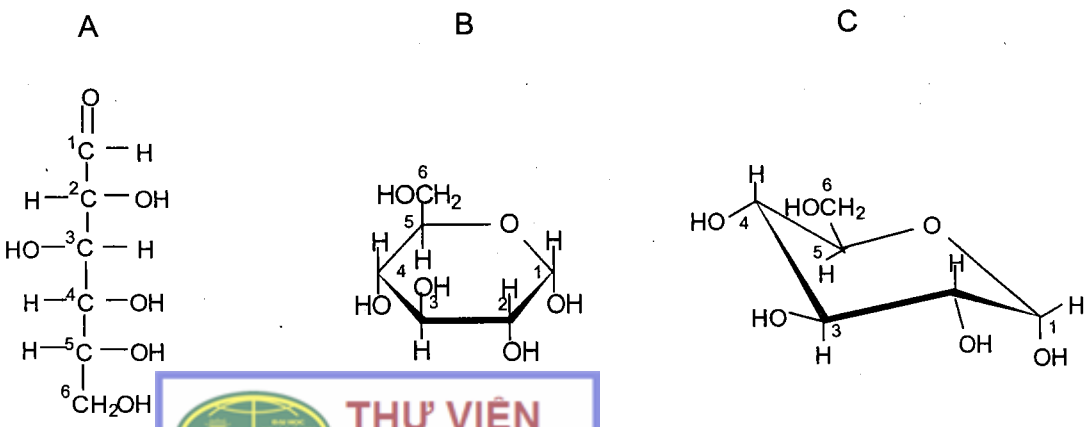
Tuỳ theo bản chất của các thành phần tạo ra khi thuỷ phân có thể gọi tên là: glycan, holosid, homopolysaccarid (polysaccarid thuần) hay heterosid, heteropolysaccarid (polysaccarid tạp).

2. Monosaccarid

2.1. Cấu trúc của glucose

Có 2 dạng cấu trúc: mạch thẳng và mạch vòng (hình 1.1).

Phần lớn glucose được biểu thị dưới dạng công thức mặt phẳng chiếu của Haworth (hình 1.1B). Bằng nhiễu xạ tia X người ta đã chứng minh vòng 6 cạnh chứa 1 nguyên tử oxy có trong tự nhiên dưới dạng ghế (hình 1.1C).



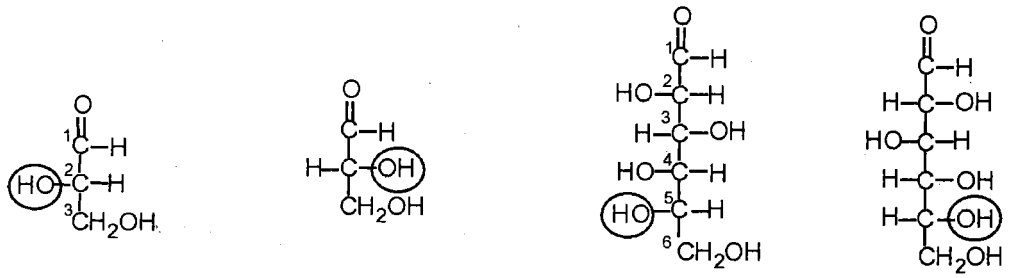
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 1.1 α - D - glucose

2.2. Các dạng đồng phân

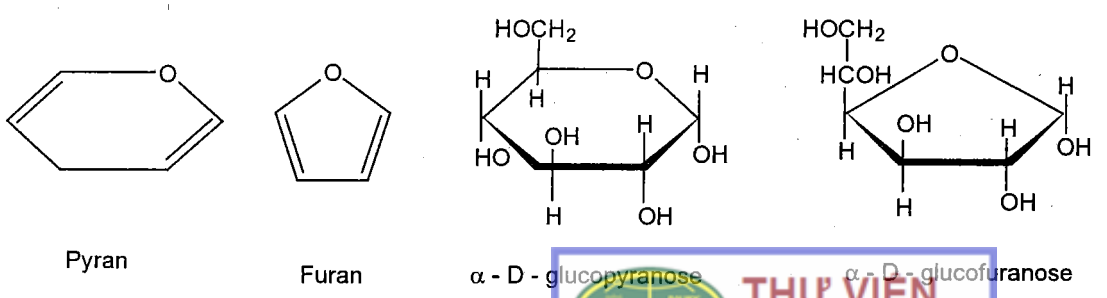
Đồng phân dị lập thể (stereoisomer) là những chất có cùng công thức cấu tạo nhưng có cấu hình không gian khác nhau. Số đồng phân phụ thuộc vào số nguyên tử carbon bất đối (^{n}) có trong phân tử đường và bằng 2^n. Glucose có 4 nguyên tử carbon bất đối, vì vậy có 16 đồng phân, các dạng quan trọng nhất là:

Dạng D và L biểu thị 2 đồng phân qua gương căn cứ vào mối liên hệ không gian với glycerose là đường có 3C (hình 1.2). Nếu nhóm - OH nằm bên phải nguyên tử C cạnh C tận mang nhóm chức alcol bậc nhất (ví dụ nguyên tử C5 của glucose), đường đó sẽ thuộc dãy D; còn nếu nhóm - OH nằm bên trái thì thuộc dãy L. Đa số các monosaccarid trong cơ thể đều có cấu hình D và các enzym chuyển hoá chúng cũng đặc hiệu cho cấu hình này.



Hình 1.2. Đồng phân D và L của glycerose và glucose

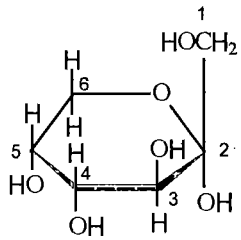
Sự có mặt của các nguyên tử carbon bất đối làm cho phân tử đường có khả năng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực sang phải (ký hiệu +) đối với chất dextrogyre (D) hay sang trái (ký hiệu –) đối với hợp chất levogyre (L). Hỗn hợp bằng nhau của các đồng phân D và L là triệt tiêu hoạt tính quang học, được gọi là hỗn hợp racemic (thường gặp trong các sản phẩm tổng hợp).



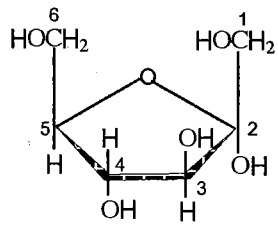
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 1.3. Các dạng pyranose và furanose của glucose

– *Dạng cấu trúc vòng pyranose và furanose:* sở dĩ gọi như vậy là vì cấu trúc vòng bền vững của các monosaccarid tương tự với cấu trúc vòng của pyran hay furan (hình 1.3). Các cetose cũng có thể có cấu trúc vòng (ví dụ D - fructofuranose hay D - fructopyranose) (hình 1.4). Trong dung dịch, trên 99% glucose ở dưới dạng pyranose và chỉ có dưới 1% ở dưới dạng furanose.



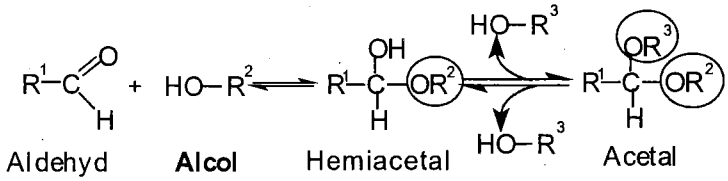
α - D - fructopyranose



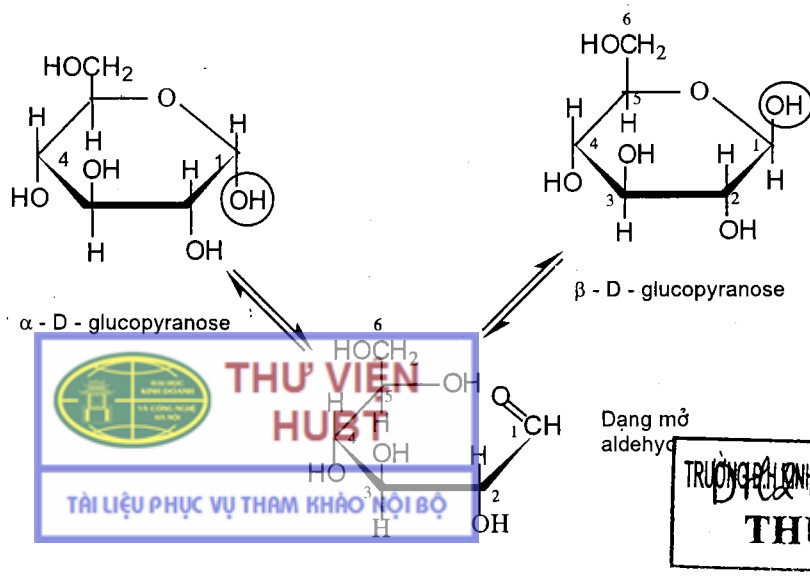
α - D - fructofuranose

Hình 1.4. Các dạng pyranose và furanose của fructose

– *Dạng anomer α và β*: cấu trúc vòng của một aldose là do cấu tạo bán acetal (hemiacetal) vì được tạo thành bởi sự kết hợp của một chức aldehyd với một nhóm alcol (hình 1.5 và 1.6).



Hình 1.5. Các phản ứng tạo bán acetal và bán cetal từ aldehyd và ceton

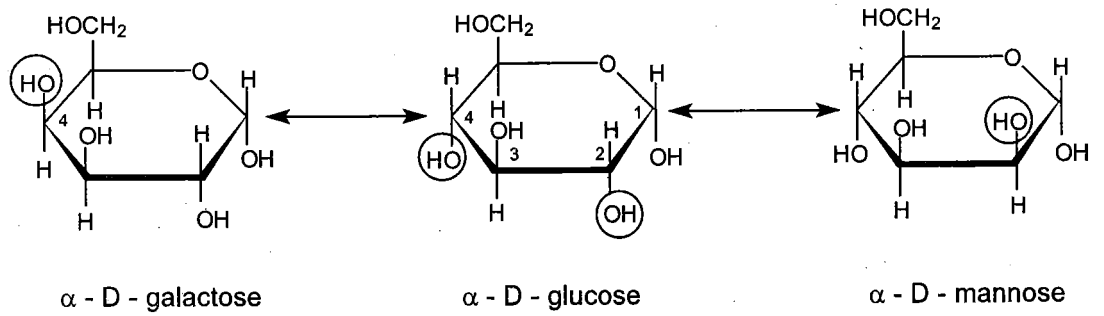


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ
THƯ VIỆN

Hình 1.6. Hiện tượng chuyển quay của glucose

Cũng như vậy, cấu trúc vòng của một cetose là do cấu tạo bán cetal (hemicetal). Glucose dưới dạng kết tinh là α - D - gluco - pyranose; trong dung dịch, glucose tồn tại dưới dạng vòng, nhưng là hỗn hợp đồng phân ở vị trí C1 của nhóm carboxyl hay nguyên tử carbon anomer: α - glucopyranose (36%) và β - glucopyranose (63%); còn lại 1% chủ yếu là các anomer α và β glucofuranose. Sự cân bằng này đi kèm với hiện tượng chuyển quay quang học (mutarotation) khi mở vòng bán acetal và trả lại các nhóm - H và - OH trên C_1. Độ quay quang học của glucose trong dung dịch là quay phải (dextrogyre), vì vậy có tên khác là dextrose thường dùng ở bệnh viện.

Dạng epimer là những đồng phân khác nhau ở các nhóm - OH và - H tại các nguyên tử carbon 2, 3 và 4 của glucose. Các epimer quan trọng nhất của glucose về mặt sinh học là mannose (epimer hoá tại C2) và galactose (epimer hoá ở C4) (hình 1.7).



α - D - galactose α - D - glucose α - D - mannose

Hình 1.7. Hiện tượng epimer hoá của glucose

– *Đồng phân aldose - cetose:* fructose và glucose có cùng công thức phân tử nhưng có công thức cấu tạo khác nhau vì fructose có nhóm ceton ở C2 trong khi glucose có nhóm aldehyd ở C1 (hình 1.3 và 1.4).

2.3. Các monosaccarid có vai trò sinh lý quan trọng

Trong quá trình thoái hoá glucose theo con đường Đường phân chỉ tạo các dẫn xuất của triose; nhưng bằng con đường oxy hoá trực tiếp, một loạt đường được tạo thành gồm các triose, tetrose, pentose và sedoheptulose. Pentose là thành phần quan trọng của nucleotid, acid nucleic và nhiều coenzym (bảng 1.1). Các hexose đóng vai trò sinh lý quan trọng nhất là glucose, galactose, fructose và mannose (bảng 1.2).

Hình 1.8 và 1.9 là cấu tạo hoá học các aldose và cetose đóng vai trò quan trọng trong chuyển hoá trung gian của tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 1.1. Các pentose có vai trò sinh lý quan trọng

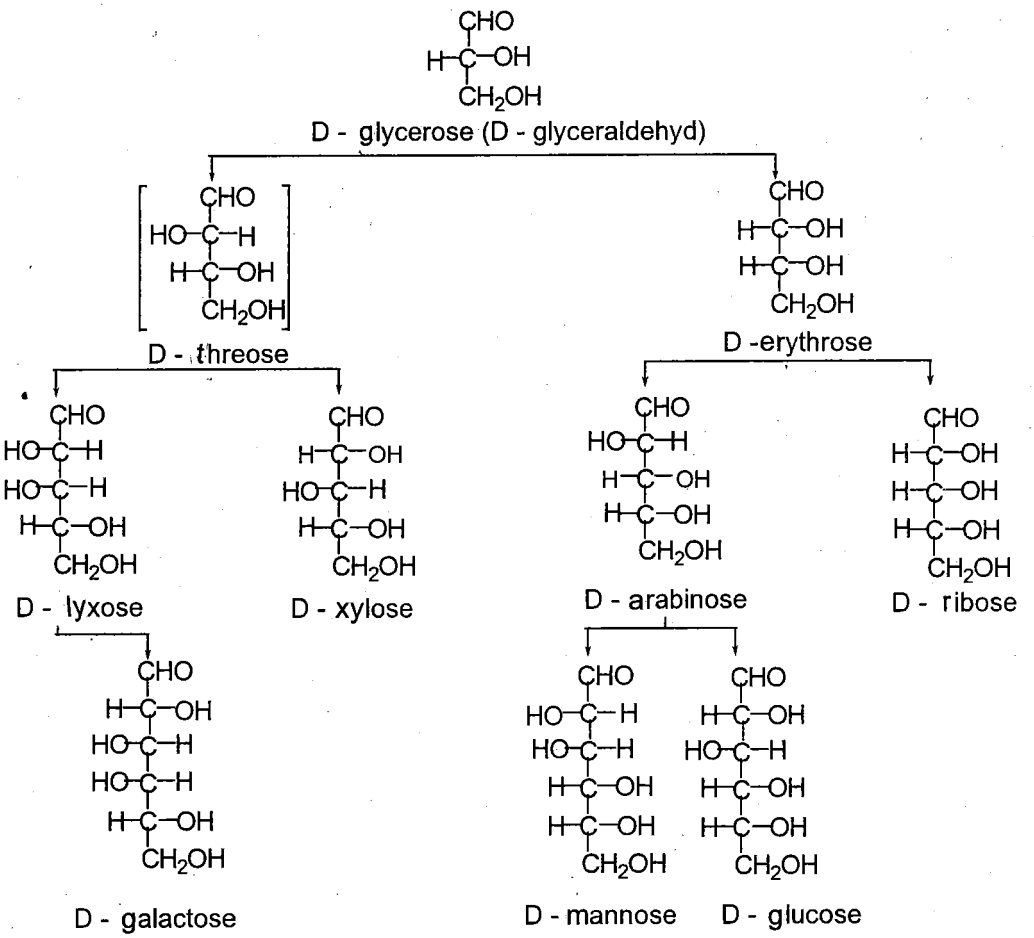
Đường	Nguồn	Tầm quan trọng/ hoá sinh	Dấu hiệu lâm sàng
D - Ribose	Acid nucleic	Tham gia vào cấu tạo của acid nucleic và coenzym (ATP, NAD, NADP và các flavoprotein), chất trung gian trong quá trình thoái hoá glucose theo con đường oxy hoá trực tiếp	
D - Ribulose	Tạo ra trong các phản ứng chuyển hoá	Chất trung gian trong quá trình thoái hoá glucose theo con đường oxy hoá trực tiếp	
D - Arabinose	Gôm arabic, gôm của mận và anh đào	Thành phần của glycoprotein	
D - Xylose	Gôm gỗ, proteoglycan và glycoamino - glycan	Thành phần của glycoprotein	
D - Lyxose	Cơ tim	Thành phần của lyxoflavin được phân lập từ tim người	
D - Xylulose	Chất trung gian trong con đường thoái hoá acid uronic		Xuất hiện trong nước tiểu của những người bị mắc bệnh pentose niệu

Các dẫn xuất acid carboxylic của glucose như D - glucuronat (tham gia vào các phản ứng liên hợp, có trong glycosaminoglycan) và dẫn xuất chuyển hoá của nó là L - iduronat (có trong glycosaminoglycan) (hình 1.10) và L - gulonat (một chất trong con đường thoái hoá acid uronic) đều là những chất có vai trò quan trọng trong cơ thể.

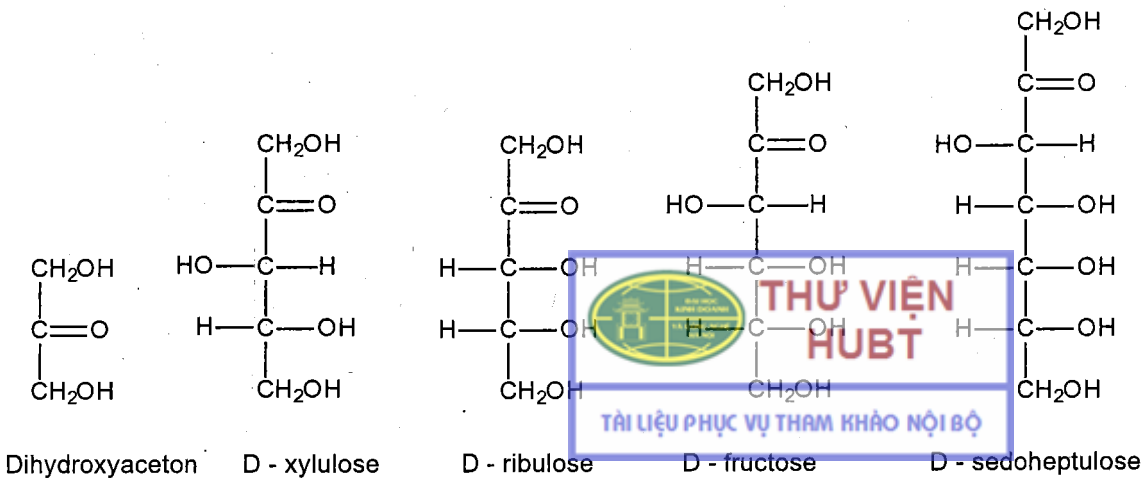
Bảng 1.2. Các hexose có vai trò sinh lý quan trọng

Đường	Nguồn	Tầm quan trọng	Dấu hiệu lâm sàng
D - Glucose	Các dịch, thuỷ phân tinh bột, đường mía, maltose và lactose	Đường vận chuyển qua máu và là dạng sử dụng chính của các tổ chức	Có trong nước tiểu của người bị bệnh tiểu đường kèm theo tăng glucose/máu
D - Fructose	Các dịch, mật ong, thuỷ phân đường mía và inulin (chứa trong artichauts)	Có thể biến đổi thành glucose ở gan và ruột, do đó có thể được cơ thể sử dụng	Do không dung nạp fructose bẩm sinh gây tích luỹ fructose và hạ đường huyết
D - Galactose	Thuỷ phân lactose	Có thể biến đổi thành glucose ở gan và được chuyển hoá, được tổng hợp ở tuyến vú để tạo lactose/ sữa mẹ, là thành phần của glycolipid và glycoprotein	Không có khả năng chuyển hoá, gây galactose huyết và bệnh đục thuỷ tinh thể
D - Mannose	Thuỷ phân một số gôm và nhựa cây	Là thành phần của nhiều glycoprotein	

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

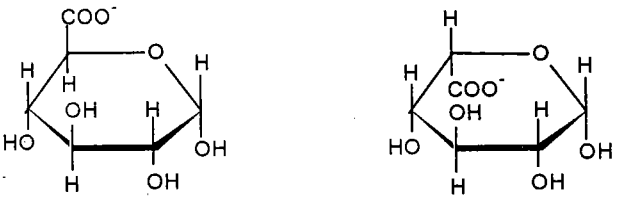


Hình 1.8. Các aldose (C3, C4, C5 và C6)



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

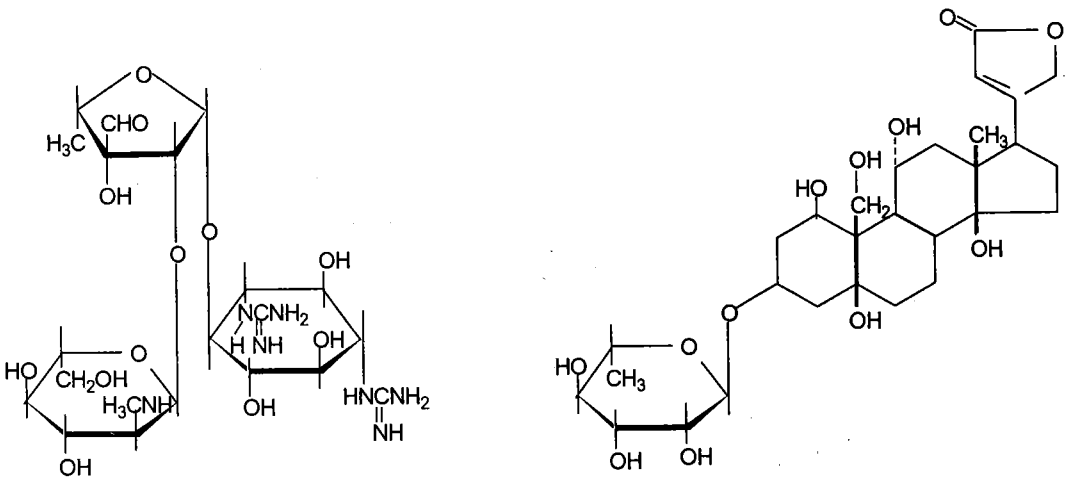
Hình 1.9. Các cetose (C3, C5, C6 và C7)



Hình 1.10. α - D - glucuronat (bên trái) và α - L - iduronat (bên phải)

– *Glycosid:* là những chất được tạo thành do ngưng tụ một monosaccarid hay một gốc monosaccarid với một nhóm hydroxyl của một chất thứ hai có thể là một monosaccarid khác hay cũng có thể không phải monosaccarid (trường hợp một aglycon). Liên kết glycosid là một liên kết acetal. Tuỳ theo phần bán acetal là một glucose hay galactose mà có tên glucosid hay galactosid...

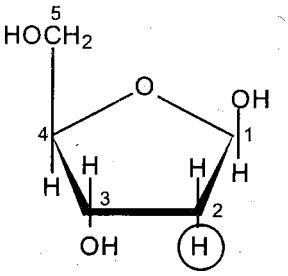
Glycosid có trong gia vị, trong nhiều thuốc men và trong thành phần các tổ chức động vật; phần aglycon có thể là một phân tử metanol, glycerol, sterol hay phenol. Glycosid trợ tim đều là steroid aglycon. Ví dụ: các dẫn xuất của digital và strophantus như ouabain, một chất ức chế Na^+/K^+ - ATPase của màng tế bào. Trong số các glycosid khác cần chú ý đến các kháng sinh như streptomycin (hình 1.11).



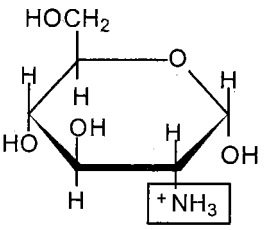
Hình 1.11. Streptomycin (bên trái) và ouabain (bên phải)

Các đường khử oxy: là những đường trong đó một nhóm - OH trong cấu trúc vòng được thay thế bằng một nguyên tử H. Nhiều quá trình sinh học xảy ra do thuỷ phân một số chất quan trọng để cho các đường khử oxy. Ví dụ 2-deoxyribose (hình 1.12) tìm thấy trong thành phần của acid nucleic (ADN); L-fucose (6-deoxy-galactose) và 2-deoxyglucose (một chất ức chế quan trọng trong chuyển hoá glucose) được tìm thấy trong thành phần của các glycoprotein.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 1.12. 2 - deoxy - D - ribofuranose



Hình 1.13. Glucosamin
(2 - amino - D - glucopyranose)

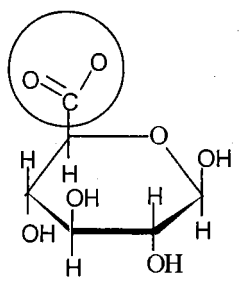
Đường amin: D-glucosamin (hình 1.13), D-galactosamin và D-mannosamin đều là những đường amin có trong tự nhiên. Glucosamin là thành phần cấu tạo của acid hyaluronic; galactosamin tham gia cấu tạo của chondroitin (xem phần polysaccarid tạp).

Nhiều kháng sinh có chứa trong phân tử các đường amin (ví dụ erythromycin và carbomycin), chứng tỏ có thể có mối liên quan giữa hoạt tính kháng sinh với đường amin trong phân tử.

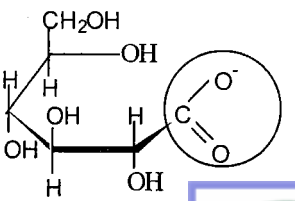
2.4. Tính chất

Trong số những tính chất của monosaccarid đã học, ở đây chỉ tóm tắt lại một số phản ứng quan trọng:

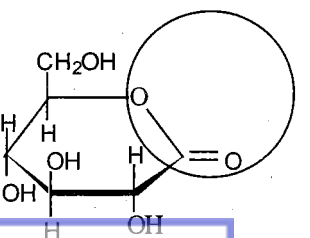
- Phản ứng oxy hoá C1 của carbonyl trong phân tử aldose tạo acid aldonic (gluconat) (hình 1.14).
- Phản ứng oxy hoá C6 của glucose tạo acid uronic (glucuronat) (hình 1.14).
- Phản ứng tạo este một phân tử lacton (glucono-lacton) (hình 1.14).



β - D - glucuronat



D - gluconat



D - glucono - δ - lacton

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 1.14.

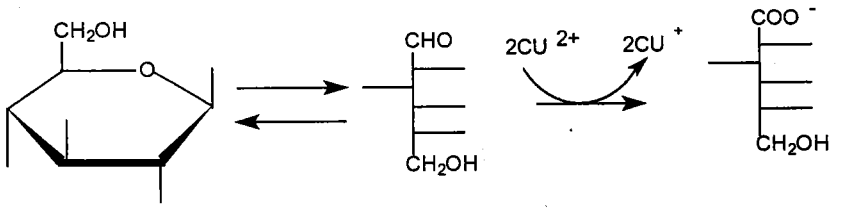
- Phản ứng khử hoá các ose cho polyalcol:

Glucose → Sorbitol Mannose → Mannitol

Fructose → Sorbitol Ribose → Ribitol

– Các phản ứng định tính và định lượng glucose trong máu và nước tiểu dùng trong chẩn đoán và theo dõi bệnh tiểu đường (diabète mellitus):

+ Phản ứng Fehling



β - D - glucose

D - gluconnat

Phản ứng FEHLING

+ Phản ứng enzym (glucose oxydase và hexokinase):

$$\beta\text{-D-glucose} + H_2O_2 + O_2 \xrightarrow{\text{Glucose oxydase}} \text{D-gluconat} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{Chromogen (dạng khử)} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Chromogen (dạng oxy hoá)} + 2H_2O$$

(không mầu) (có mầu)

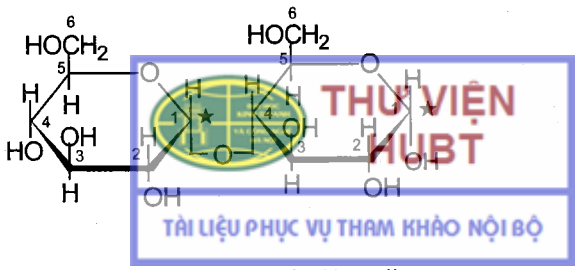
$$\text{D-glucose} + \text{ATP} \xrightarrow[Mg^{2+}]{\text{Hexokinase}} \text{D-glucose-6-phosphat} + \text{ADP}$$

$$\text{D-glucose-6-phosphat} + NADP^+ \xrightarrow{\text{G-6-PD}} \text{6-phosphogluconat} + NADPH + H^+$$

3. Disaccarid

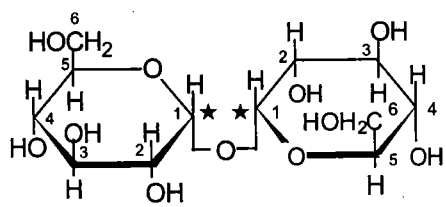
Là những đường gồm 2 đơn vị monosaccarid nối với nhau bằng một liên kết glycosid (hình 1.15). Các disaccarid có vai trò sinh lý quan trọng là maltose, saccarose, lactose và trehalose (bảng 1.3).

Maltose



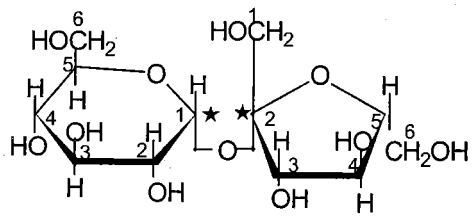
O - α - D - glucopyranosyl - (1 → 4) - α - D - glucopyranose

Trehalose



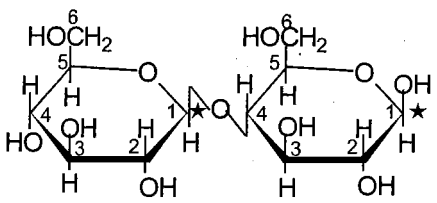
O - α - D - glucopyranosyl - (1 → 1) - α - D - glucopyranosid

Saccarose



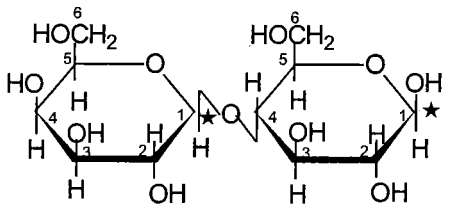
O - α - D - glucopyranosyl - (1 → 2)
- β - D - fructofuranosid

Cellobiose



O - β - D - glucopyranosyl - (1 → 4)
- β - D -glucopyranose

Lactose



O - β - D - galactopyranosyl - (1 → 4)
- β - D -glucopyranose

Hình 1.15. Cấu tạo của các disaccarid điển hình. Các ký hiệu α và β tương ứng với cấu hình của carbon anomer (*)

Bảng 1.3. *Các disaccarid*

Đường	Nguồn gốc	ý nghĩa
Maltose	Do tiêu hoá bởi amylase hay thuỷ phân tinh bột, có trong mạch nha và ngũ cốc đang nẩy mầm	
Lactose	Từ sữa, đôi khi bài xuất ra nước tiểu trong quá trình thai nghén	Khi thiếu hụt lactase, hấp thu kém do ỉa chảy và đầy hơi
Saccarose	Có trong đường mía, củ cải đỏ và rễ cà rốt	Khi thiếu hụt sucrase, hấp thu kém do ỉa chảy và đầy hơi
Trehalose	Có trong nấm và men bia, là đường chủ yếu của hạch bạch huyết ở côn trùng	

Khi thuỷ phân saccarose sẽ cho một hỗn hợp thô gồm 2 đường có tên là "đường biến" ("sucre inverti") vì một trong các sản phẩm thuỷ phân là fructose có tính chất tả tuyền (L - quay trái) và làm thay đổi hoàn toàn tính chất hữu tuyền (D - quay phải) vốn có của saccarose trong dung dịch. Enzym thuỷ phân là invertase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. Polysaccarid

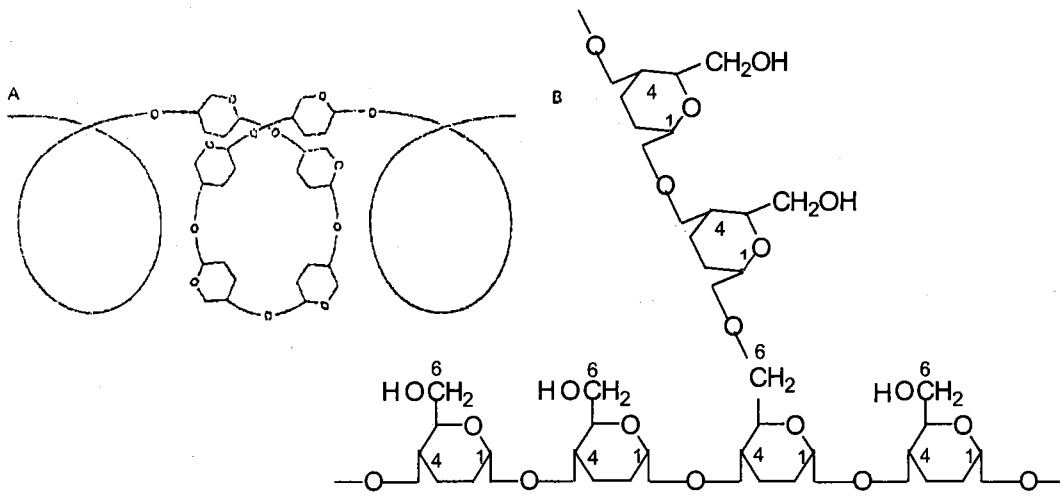
4.1. Polysaccarid thuần (homopolysaccarid = glycan)

Là những đường khi thuỷ phân cho cùng một loại monosaccarid. Ví dụ: tinh bột, glycogen là polymer của α - glucose; cellulose là polymer của β - glucose; mannan là polymer của mannose, galactan là polymer của galactose, inulin là polymer của fructose.

– *Tinh bột* (glucan): là thức ăn glucid chính của người, gồm nhiều phân tử glucose nối với nhau bằng các liên kết glucosid.

Tinh bột cấu tạo bởi 2 thành phần chính:

- Amylose (15-20%): có cấu trúc mạch thẳng xoắn vòng (hình 1.16), gồm nhiều gốc α - D - glucopyranose nối với nhau bằng liên kết α 1 → 4 glucosid.
- Amylopectin (80-85%): có nhiều mạch nhánh, mỗi mạch chứa 24-30 gốc glucose nối với nhau bằng liên kết glucosid 1 → 4 trong mạch thẳng và liên kết glucosid 1 → 6 tại điểm nhánh.

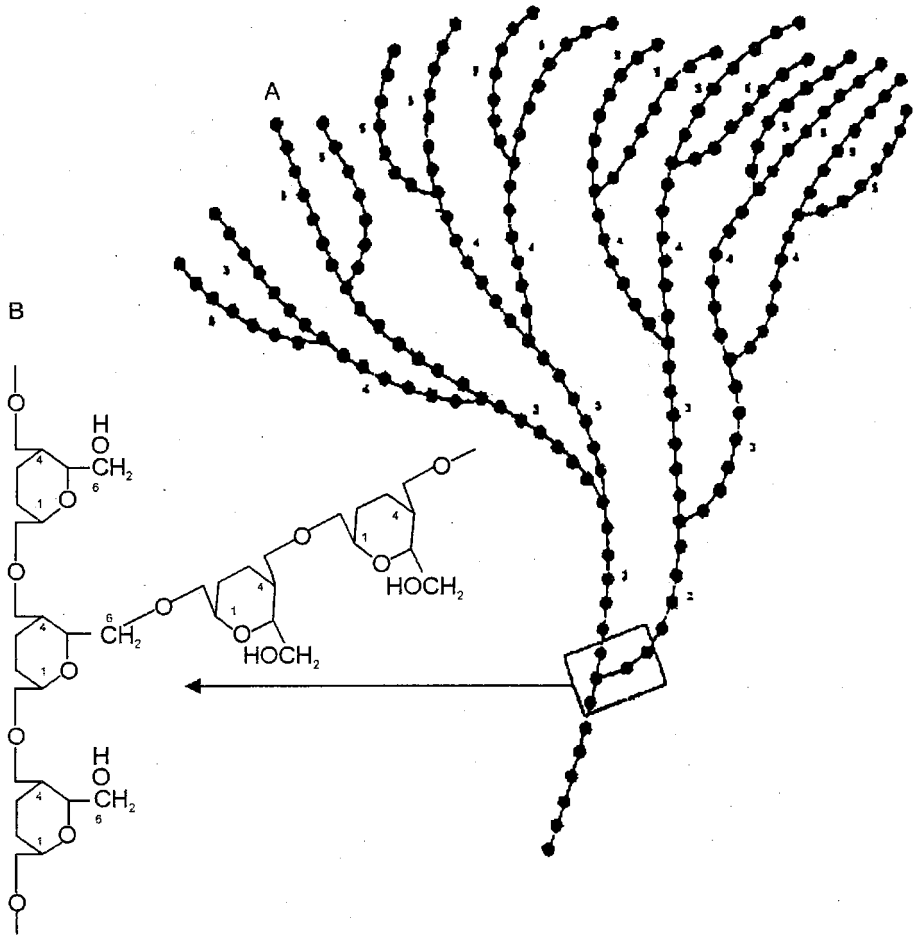


Hình 1.16. Cấu trúc của tinh bột

A. Cấu trúc vòng của amylose B. Liên kết nhánh 1→ 6 của amylopectin

– *Glycogen* là dạng glucid dự trữ của các mô động vật, cũng có cấu trúc giống amylopectin của tinh bột nhưng có nhiều nhánh hơn. Mỗi nhánh chỉ gồm 11-18 gốc α-D-glucopyranose liên kết với nhau bằng liên kết α-(1→4) (hình 1.17).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 1.17. Phân tử glycogen

– *Inulin* có nhiều trong củ và rễ cây Dahlias (thược dược), Artichaut và Pissenlit. Nó còn có tên là fructosan vì khi thủy phân cho toàn fructose. Trái với tinh bột của khoai tây, inulin dễ tan trong nước nóng. Người ta đã sử dụng nó trong thử nghiệm đo tốc độ lọc của cầu thận.

– *Dextrin* được tạo ra trong quá trình thủy phân từng phần tinh bột. Đó là những sản phẩm đầu tiên khi thủy phân cắt một số mạch nhánh của tinh bột.

– *Cellulose* là thành phần chủ yếu của các mô nâng đỡ đóng vai trò cấu tạo nên thành tế bào gồm nhiều mạch thẳng chứa các đơn vị β - D - glucopyranose nối với nhau bằng liên kết (1→4). Các liên kết hydro giữa các chuỗi làm cho cấu trúc của cellulose thêm chặt chẽ.

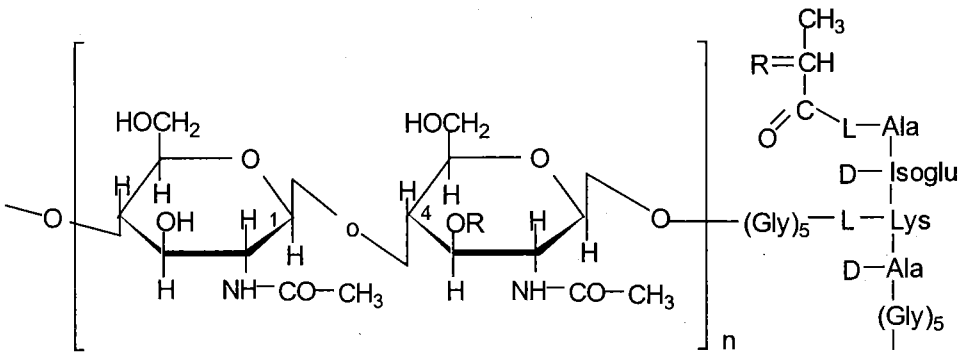
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cellulose là thức ăn của người; nhưng có thể người không có enzym để thủy phân liên kết β - 1 → 4 glucosid nên nó không có giá trị về mặt dinh dưỡng.

– *Chitin* là polysaccarid cấu tạo nên bộ xương ngoài của côn trùng, là polymer mạch thẳng của N - acetyl - glucosamin nối với nhau bằng các liên kết β - 1 → 4.

4.2. Polysaccarid tạp (heteropolysaccarid)

4.2.1. Peptidoglycan: là những polysaccarid mạch thẳng cấu tạo nên thành tế bào vi khuẩn, gồm các chuỗi disaccarid lặp lại: acid N - acetyl muramic và N - acetyl glucosamin - Mur NAc (β-1→4) Glc NAc đan chéo nhau bằng những chuỗi peptid ngắn (hình 1.18).



Hình 1.18. Peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn Gram (+) Staphylococcus aureus

4.2.2. Glycosaminoglycan và proteoglycan: là hai thành phần của matrix ngoài tế bào (matrix là chất cơ bản bao quanh tế bào có tác dụng làm bền vững liên kết giữa các tế bào, đồng thời tạo ra những con đường nhỏ, lỗ hay kẽ hở giúp khuếch tán các chất dinh dưỡng và oxy cho từng loại tế bào riêng biệt).

– Glycosaminoglycan (mucopolysaccarid): là những glucid phức tạp đặc trưng bởi các chuỗi disaccarid lặp lại gồm có đường amin và acid uronic.

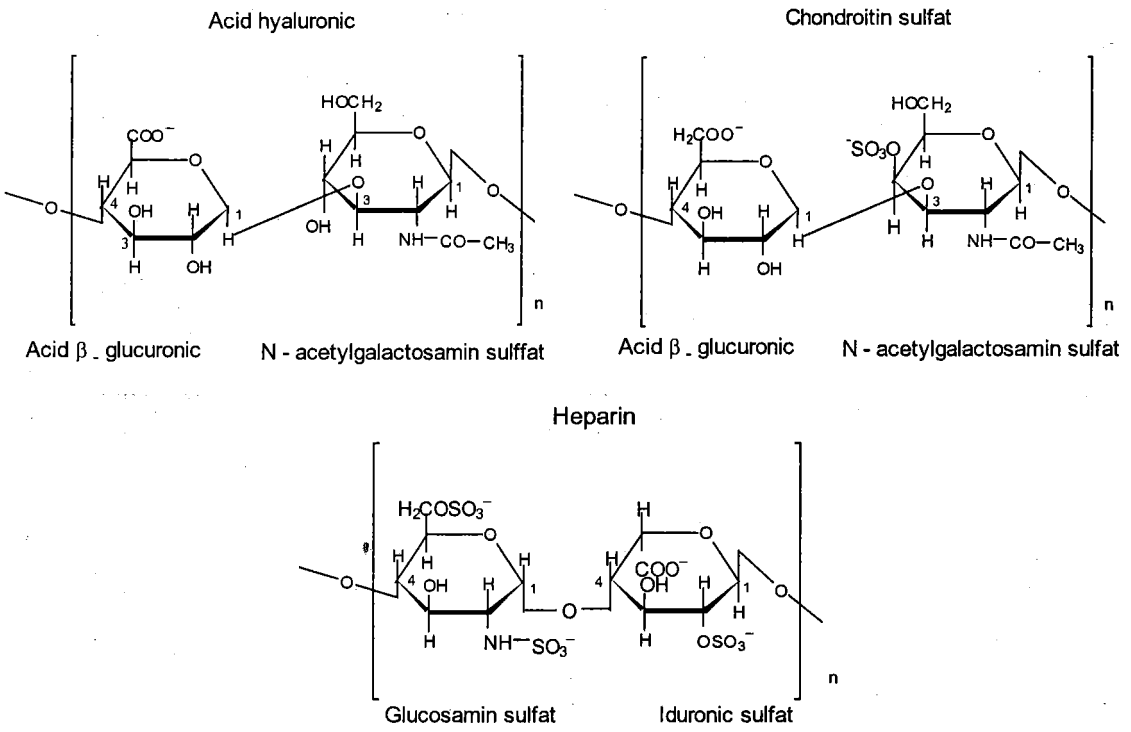
Các glycosaminoglycan quan trọng là:

+ Acid hyaluronic: cấu tạo bởi các chuỗi disaccarid lặp lại gồm acid D-glucuronic và N-acetylglucosamin [Glc UA (β1→3) Glc NAc]$_n$ (hình 1.18). Nó có trọng lượng phân tử trên 1 triệu, tạo thành dung dịch trong nhớt có tác dụng làm trơn hoạt dịch của các khớp và thuỷ tinh dịch của mắt, giúp cho sự vận động và ngăn chặn sự xâm nhập của nhiều chất độc đối với cơ thể. Acid hyaluronic còn là thành phần chính của matrix ngoài tế bào, của sụn và gân làm tăng tính co giãn của các tổ chức này. Enzym hyaluronidase xúc tác sự thuỷ phân liên kết glycosid của hyaluronat và có hoạt tính mạnh trong tinh dịch, nọc rắn và một số vi khuẩn.

+ Condroitin sulfat: là một glycosaminoglycan acid gồm acid β - glucuronic và N-acetylgalactosamin sulfat [-Glc UA (β1→3) Gl NAc SO_4]$_n$ (hình 1.19). Nó có nhiều trong tổ chức sụn, tổ chức liên kết (gân, da, van tim và thành động mạch).

+ Heparin: là glycosaminoglycan acid gồm acid iduronic và glucosamin gắn sulfat [-Glc UA – SO^{2-}_4 (α 4→) Glc N – SO^{2-}_4]$_n$.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 1.19. Cấu tạo của một số polysaccarid tạp

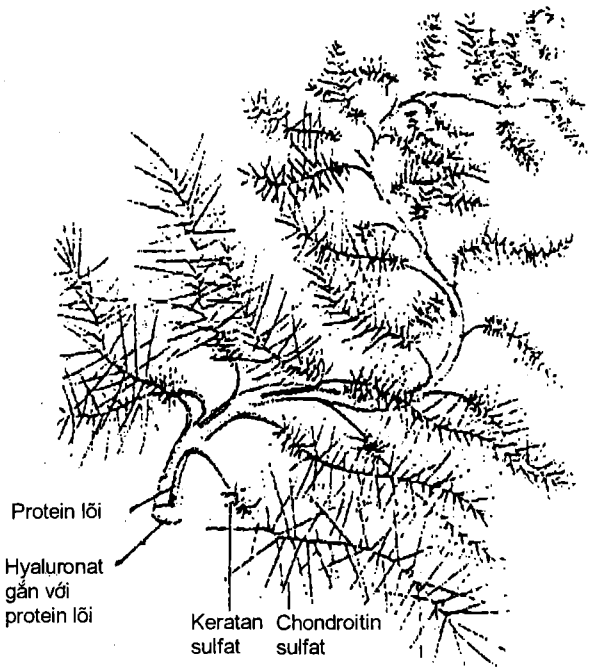
Nó ngăn chặn chuyển hoá prothrombin thành thrombin, do đó có tác dụng chống đông máu.

Heparin còn có tác dụng giải phóng lipoproteinase từ tổ chức vào huyết tương. Enzym này xúc tác sự phân huỷ các phức hợp lipoprotein trong quá trình vận chuyển và chuyển hoá lipid.

– Proteoglycan: là polysaccarid tạp gồm một chuỗi hyaluronat rất dài liên kết không cộng trị với nhiều phân tử protein lõi (hình 1.20). Mỗi phân tử protein lõi lại gắn liên kết cộng trị với nhiều phân tử glycosaminoglycan ngắn hơn (condroitin sulfat, keratan sulfat, heparin sulfat..) bằng các cầu glycosid nối các gốc đường với nhóm OH của serin hay threonin trong phân tử protein (liên kết O - glycosid).

Các proteoglycan cũng đóng vai trò cấu tạo đối với cơ thể (tạo tính co giãn, tính nhớt, độ trơn tại các khớp, tổ chức liên kết, mô nâng đỡ và các dịch che phủ các cơ quan).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 1.20. Một tập hợp proteoglycan

4.2.3. Glycoprotein và glycolipid

Màng tế bào động vật chứa khoảng 5% glucid ở dưới dạng glycoprotein và glycolipid. Đó là những hợp chất trong đó nhiều protein và một số lipid của màng tế bào gắn với các oligosaccarid bằng liên kết cộng trị.

- *Glycoprotein* (mucoprotein): tìm thấy trong các dịch và tổ chức chứa từ 1 đến 15 gốc đường mạch thẳng hay có nhánh thông thường là những chuỗi oligosaccarid (chiếm từ 1 - 70% trong glycoprotein và không bao giờ đạt tới 99% như trong proteoglycan). Ví dụ: muxin

Thành phần đường trong glycoprotein gồm có:

Hexose: mannose (Man), galactose (Gal); nói chung không chứa glucose trừ collagen.

Acetylhexosamin: N-acetyl glucosamin (Glc-NAc)

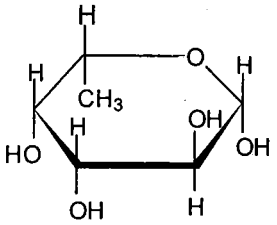
N-acetyl galactosamin (Gal-NAc)

Pentose: arabinose (Ara), xylose (Xyl)

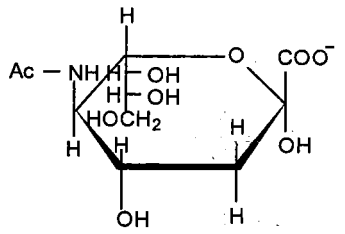
Metyl pentose: fucose (Fuc) (hình 1.21)

Acid sialic: các dẫn xuất N-acyl của acid neuramic (hình 1.22) (Neu-NAc).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 1.21. α - L- fucose
(6 - deoxy - βL - galactose)



Hình 1.22. N - Acetyl neuraminic
(một acid sialic)

Acid neuramic là một đường có 9 carbon dẫn xuất từ mannosamin (epimer của glucosamin) và pyruvat.

Acid sialic là thành phần cấu tạo của glycoprotein và cả gangliosid, có nhiều tác dụng quan trọng. Các gốc Neu - NAc thường có ở đoạn cuối của các chuỗi oligosaccarid của nhiều glycoprotein hoà tan, là thông tin báo hiệu một protein sẽ tiếp tục lưu thông ở trong máu hay là bị gan đào thải.

Ví dụ:

- Ceruloplasmin là glycoprotein vận chuyển đồng trong máu, nếu mất sialic nó sẽ bị biến nhanh chóng khỏi máu. Đó là vì màng plasma của tế bào gan có receptor đặc hiệu với ceruloplasmin đã bị mất sialic, do đó nó bị gan lấy đi và chuyển hoá ở lysosom.
- Cơ thể loại bỏ hồng cầu già ra khỏi máu cũng theo cơ chế trên.

• *Glycophorin:* là một glycoprotein màng quan trọng của hồng cầu người gồm 130 aa. Các chuỗi glucid chỉ gắn vào phần N-tận của protein ở mặt ngoài màng. Khác với protein tự do, glycophorin có thể đi qua được màng lipid.

Đa số các protein tiết và nhiều protein của màng plasma cũng là những glycoprotein có phần oligosaccarid khác nhau nằm ở mặt ngoài của màng làm thay đổi cấu trúc của protein. Vì vậy người ta thường dùng oligosaccarid làm chất đánh dấu sinh học đối với nhiều con đường chuyển hoá khác nhau. Ví dụ: một số oligosaccarid trong glycoprotein có khả năng bài tiết hay gia nhập vào màng plasma, một số khác lại có tác dụng chuyển tín hiệu tới lysosom.

• *Glycolipid và lipopolysaccarid*: đều là những thành phần cấu tạo của màng tế bào. Một số glycolipid (gangliosid hay sphingolipid) có nhóm đầu phân cực là một oligosaccarid phức tạp chứa acid sialic và các monosaccarid khác.

Lipopolysaccarid là thành phần chính của màng ngoài của vi khuẩn Gram(–) như E.coli và Salmonella typhimurium. Phần lipid A của lipopolysaccarid của một số vi khuẩn có độc tính cao đối với người và các động vật khác; khi nhiễm khuẩn Gram(–) có thể gây hội chứng shock do giảm huyết áp đột ngột.

THƯ VIỆN HUBT

Chương 2

LIPID

MỤC TIÊU

1. *Vẽ được cấu tạo hoá học và phân loại được 3 nhóm của lipid trong cơ thể.*
2. *Nêu được tính chất và vai trò quan trọng của lipid trong cấu tạo tế bào liên quan đến chuyển hoá năng lượng và cơ chế thuốc men.*

1. Đại cương

1.1. Vai trò của lipid

Lipid là thành phần quan trọng trong thức ăn không chỉ vì nó có giá trị năng lượng cao nhất (9,3Kcal/g) so với glucid (4,1 Kcal/g) và protein (4,2 Kcal/g) mà còn vì nó chứa các vitamin tan trong dầu cũng như các acid béo cần thiết là những chất không thể thay thế được.

Trong cơ thể, lipid dự trữ ở mô mỡ đóng vai trò ngăn nhiệt ở những tổ chức dưới da và xung quanh một số cơ quan, còn các lipid không phân cực lại có tác dụng cách điện cho phép truyền nhanh các sóng khử cực theo trục sợi thần kinh. Tổ chức thần kinh có hàm lượng lipid rất cao. Phức hợp lipoprotein là thành phần quan trọng của màng tế bào và ty thể ở bào tương, đồng thời cũng là phương tiện vận chuyển lipid trong máu.

Kiến thức hoá sinh về lipid giúp ta hiểu rõ hơn nhiều vấn đề quan trọng trong lĩnh vực y dược học như hội chứng béo phì, vữa xơ động mạch cũng như vai trò của acid béo có nhiều liên kết đôi trong vấn đề dinh dưỡng và chữa bệnh.

1.2. Phân loại lipid

Theo phân loại của Bloor, lipid được chia thành 3 loại.

1.2.1. Lipid đơn giản: là este của acid béo với các alcol khác nhau. Ví dụ:

- Glycerid: este của acid béo với glycerol.
- Sáp ong (wax) cerid: este của acid béo với alcol có trọng lượng phân tử cao hơn.
- Sterid: este của acid béo với alcol vòng (cholesterol).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.2.2. Lipid phức tạp: là este khi thuỷ phân giải phóng ngoài alcol và acid béo còn có các thành phần khác (acid phosphoric, các ose...). Ví dụ:

- Phospholipid: có chứa thêm một gốc acid phosphoric, thông thường kèm theo các base có nitơ và các nhóm thế khác:

+ Glycerophospholipid: alcol là glycerol.

+ Sphingophospholipid: alcol là sphingosin.

– Glycolipid (glycosphingolipid): có chứa một acid béo, sphingosin và carbohydrat.

– Các lipid phức tạp khác: sulfolipid và aminolipid. Lipoprotein cũng có thể xếp trong nhóm này.

1.2.3. Tiền chất của lipid và dẫn xuất của lipid

Loại này bao gồm các acid béo, glycerol và các alcol khác, steroid, sterol, aldehyd của chất béo và các thể ceton, hydrocarbon, vitamin tan trong lipid và hormon.

Vì không tích điện nên các acylglycerol (glycerid) và các este của cholesterol còn được gọi là lipid trung tính.

2. Acid béo

2.1. Định nghĩa

Acid béo (AB) là những acid mono carboxylic có số carbon chẵn và chúng được sinh tổng hợp từ những mẩu 2 carbon. Hầu hết AB trong tự nhiên đều là sản phẩm thuỷ phân của lipid. Trong máu AB được gắn chủ yếu vào albumin huyết thanh.

Chuỗi hydrocarbon của AB có từ 4 - 36C, có thể bão hoà hay không bão hoà, có cấu tạo vòng hoặc có chứa alcol.

Danh pháp đơn giản của mỗi AB biểu thị độ dài của chuỗi và số liên kết đôi cách nhau bởi dấu ":". Vị trí của liên kết đôi được biểu hiện bằng số mũ của Δ (delta). Những AB thường gặp nhất được nêu trong bảng 2.1. Vị trí của liên kết đôi cách đều nhau, thông thường ở Δ^9 đối với các AB có một liên kết đôi và thêm Δ^{12}, Δ^{15} đối với các AB có nhiều liên kết đôi. Các liên kết đôi này hầu như không bao giờ liên hợp (–CH=CH–CH=CH–) mà cách nhau bởi một nhóm metylen (–CH=CH–CH_2–CH=CH–). Trong tự nhiên, các liên kết đôi của hầu hết AB không bão hoà đều có cấu hình cis.

***Bảng 2.1.** Một số acid béo tự nhiên*

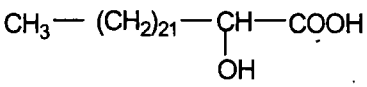
Khung carbon	Cấu trúc	Tên hệ thống	Tên thông thường
(1)	(2)	(3)	(4)
12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	n-Dodecanoic acid	Lauric acid (latin laurus laurel plant)
14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	n-Tetradecanoic acid	Myristic acid (latin myristica nutmeg genus)
16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	n-Hexadecanoic acid	Palmitic acid (greek palma palm tree)
18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	n-Octadecanoic acid	Stearic acid (greek stear hard fat)
20:0	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	n-Eicosanoic acid	Arachidic acid (latin Arachis legume genus)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)	(4)
24:0	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	n-Tetracosanoic acid	Lignoceric acid (latin lignum woood + cera, wax)
16:1 (Δ^9)	$CH_3(CH_2)_5CH = CH(CH_2)_7COOH$		Palmitoleic acid
18:1(Δ^9)	$CH_3(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7COOH$		Oleic acid (greek oleum oil)
18:2 ($\Delta^{9,12}$)	$CH_3(CH_2)_4CH = CHCH_2CH = CH(CH_2)_7$ □□COOH		α-Linoleic acid (greek linon flax)
18:3 ($\Delta^{9,12,15}$)	$CH_3CH_2CH = CHCH_2CH = CHCH_2CH = CH(CH_2)_7COOH$		Linolenic acid
20:4 ($\Delta^{5,8,11,14}$)	$CH_3(CH_2)_4CH = CHCH_2CH = CHCH_2CH = CHCH_2CH = CH(CH_2)_3COOH$		Arachidonic acid

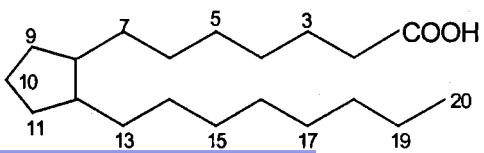
Tính chất lý học của lipid ở người phụ thuộc vào độ dài của chuỗi carbon và mức độ không bão hoà của AB cấu tạo nên lipid. Ví dụ: điểm chảy của AB có số carbon chẵn tăng theo độ dài của chuỗi và giảm theo số liên kết đôi. Một triglycerid chứa các AB bão hoà 12C hoặc hơn thì có dưới dạng rắn ở nhiệt độ của cơ thể; trong khi nếu cả 3 gốc AB đều là 18:2 sẽ có dưới dạng lỏng ở dưới 0°C. Trên thực tế, các triglycerid bao giờ cũng chứa một hỗn hợp AB phù hợp với chức năng của chúng. Ví dụ: các lipid màng tế bào phải ở dạng lỏng có nhiều liên kết đôi hơn so với lipid dự trữ. Lipid ở những tổ chức phải tiếp xúc lạnh nhiều như ở các động vật ngủ đông hay các chi của động vật cũng phải có nhiều AB không bão hoà hơn.

AB mang nhóm chức alcol được gọi là acid cerebronic (hình 2.1) có trong thành phần lipid phức tạp của não.



Hình 2.1. Acid cerebronic

Acid prostanoic là acid vòng 5 cạnh gồm 20 carbon và 2 chuỗi mạch thẳng (hình 2.2).



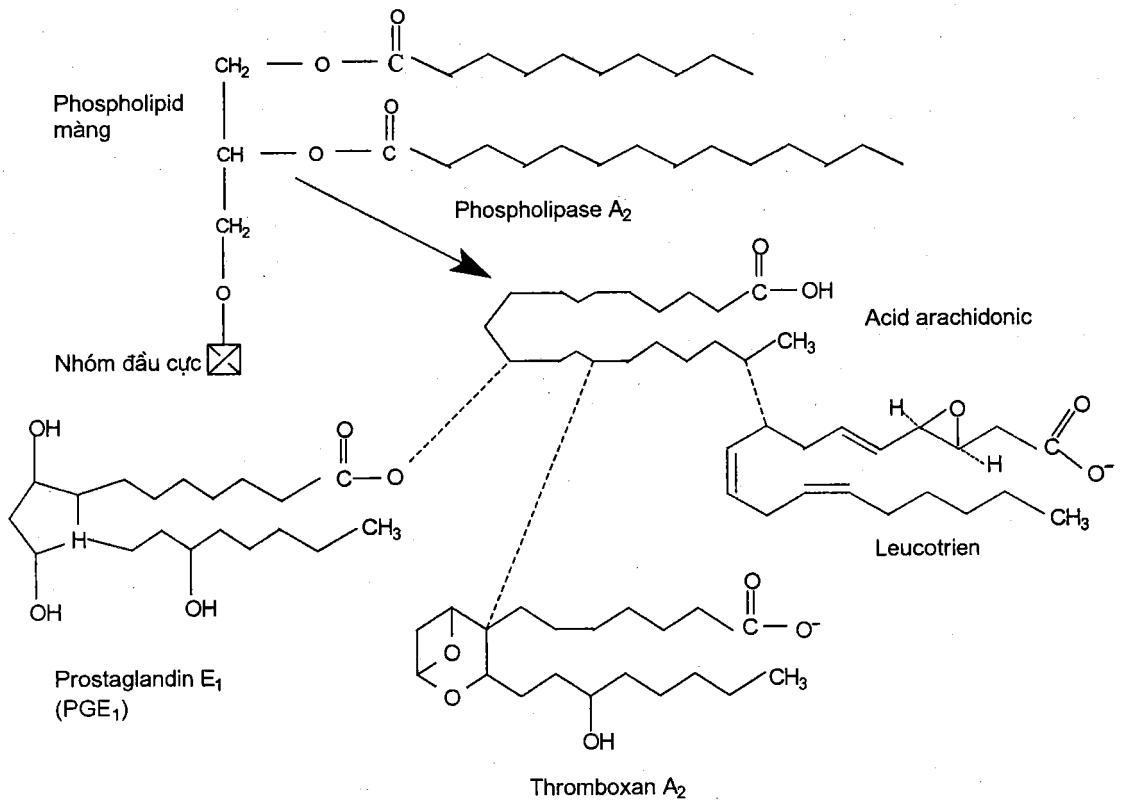
Hình 2.2. Acid prostanoic

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Eicosanoid

Là những dẫn xuất của acid arachidonic 20:4 ($\Delta^{5,8,11,14}$) (hình 2.3). Có thể chia thành 3 nhóm: prostaglandin, thromboxan và leukotrien được sản xuất từ nhiều loại tế bào và có tác dụng sinh học rất mạnh kiểu hormon, song khác với hormon, những chất này không vận chuyển vào máu mà tác động lên chính các tổ chức sản xuất ra chúng.

– *Prostaglandin* (PG) có tác dụng điều hoà tổng hợp AMP vòng (phân tử thông tin nội tế bào) là chất trung gian hoạt động của nhiều hormon (epinephrin, glucagon) do đó có ảnh hưởng đến chức năng của các tổ chức khác nhau. Một số PG có khả năng kích thích co cơ trơn tử cung khi đẻ hay khi có kinh; một số khác gây sốt, viêm và đau.



Hình 2.3. Acid arachidonic (Ara) và một số dẫn xuất eicosanoid

– *Thromboxan* được phân lập đầu tiên từ tiểu cầu, có tác dụng tạo cục máu đông và giảm lưu lượng máu tới vị trí cục máu đông.

– *Leukotrien* được tìm thấy đầu tiên trong bạch cầu, có vai trò kích thích sự co của cơ nằm giữa khí quản và phổi. Sản xuất quá thừa leukotrien là nguyên nhân gây ra những cơn hen phế quản. Hiện tượng co mạch cơ trơn của phổi xảy ra trong shock phản vệ là do dị ứng quá mẫn, nhất là ở người già đối với nọc ong, penicillin và nhiều tác nhân khác.

Do ảnh hưởng của những tín hiệu hormon, phospholipase A_2 giải phóng acid arachidonic từ màng phospholipid, là tiền chất của các eicosanoid. Aspirin và ibuprofen có tác dụng ngăn chặn các phản ứng tạo PG và thromboxan từ Ara.

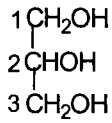
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRÌNH KHÁO NỘI BỘ

3. Alcol

Alcol trong thành phần của lipid được phân thành hai nhóm:

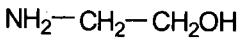
3.1. Alcol thẳng

- Alcol không có nitơ: glycerol

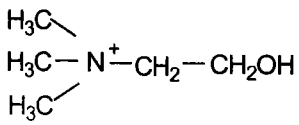


Hình 2.4. Glycerol

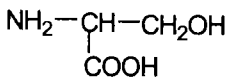
- Alcol có nitơ (aminoalcol) kết hợp với AB bằng liên kết amid:



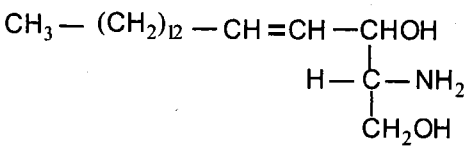
Hình 2.5. Colamin (ethanolamin)



Hình 2.6. Cholin (colamin trimetylamin)



Hình 2.7. Serin (acid amin có – OH)

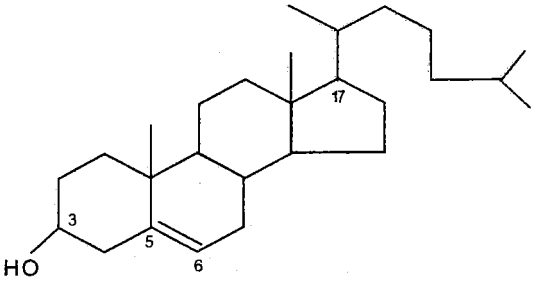


Hình 2.8. Sphingosin (amino dialcol)

3.2. Alcol vòng (sterol)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong số các sterol, thường gặp và quan trọng nhất là cholesterol có trong mọi tế bào của cơ thể, đặc biệt là tổ chức thần kinh. Đó là thành phần chính của màng huyết tương và lipoprotein huyết tương; có dưới dạng kết hợp với AB tạo cholesteryl este và là chất gốc tổng hợp nên các steroid trong cơ thể. Cholesterol chỉ có trong lipid động vật, không có trong thực vật. Công thức hoá học được biểu hiện trong hình 2.9.



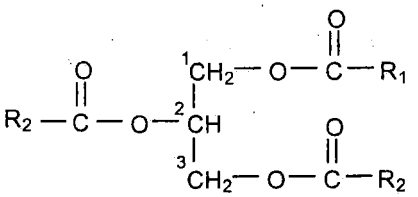
Hình 2.9. Cholesterol (3 - hydroxy - 5,6 - cholesterin)

Các sterol và steroid quan trọng khác là coprosterol (có trong phân - là sản phẩm khử liên kết đôi của cholesterol bởi vi khuẩn đường ruột); acid mật, hormon vỏ thượng thận và sinh dục; vitamin D.

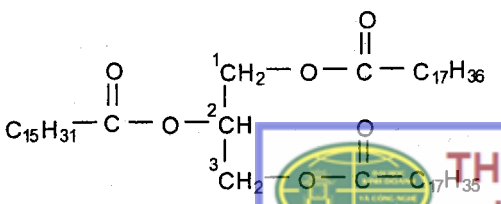
4. Lipid đơn giản - glycerid

4.1. Cấu tạo hoá học

Triglycerid (triacylglycerol), còn được gọi là lipid trung tính, là este của glycerol và AB. Trong tự nhiên có rất ít triglycerid thuần nhất (có chứa 3 gốc AB giống nhau), hầu hết đều là triglycerid hỗn hợp. Các ví dụ được nêu trong hình 2.10, 2.11 và 2.12.

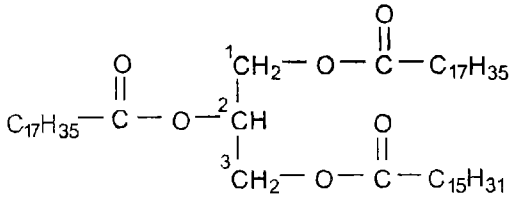


Hình 2.10. Triacylglycerol



Hình 2.11. 1,3. Distearopalmitin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



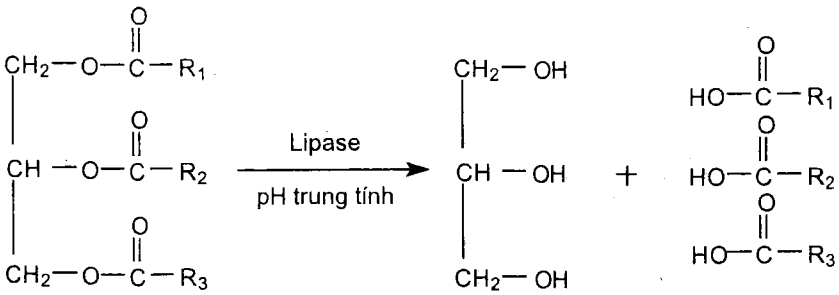
Hình 2.12. 1,2. Distearopalmitin

4.2. Tính chất lý học

Glycerid không tan trong nước, tan trong dung môi hữu cơ. Điểm nóng chảy giảm khi số lượng AB không bão hoà tăng.

4.3. Tính chất hoá học

+ Phản ứng thuỷ phân glycerid: dưới tác dụng của lipase tụy tạng, glycerid có trong protein của huyết tương được thuỷ phân qua nhiều giai đoạn tạo các sản phẩm trung gian di - và mono - glycerid giống như quá trình tiêu hoá lipid ở người.



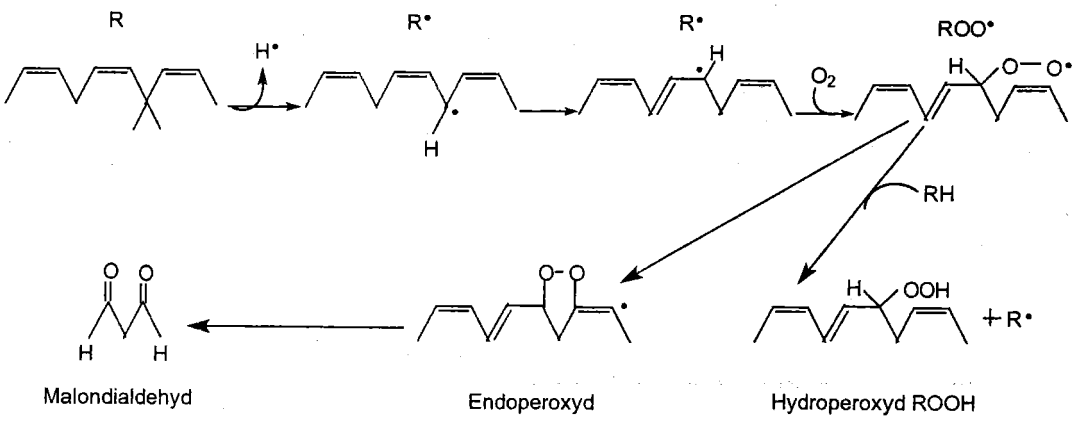
Hình 2.13. Phản ứng thuỷ phân glycerid

Các chỉ số của acid béo: chỉ số xà phòng hoá, chỉ số acid, chỉ số iod
(xem lại giáo trình hoá hữu cơ)

+ Phản ứng tự oxy hoá (peroxy hoá lipid): peroxy hoá lipid (POL) với sự có mặt của oxy không chỉ gây hiện tượng ôi thiu thực phẩm mà còn gây phá hủy các tổ chức invivo và có thể là một trong những nguyên nhân gây ung thư. Hậu quả bị phá huỷ đầu tiên là do các gốc tự do ($RCOO^{\bullet}$, $RO^{\bullet\bullet}$, $OH^{\bullet}$...) tạo ra trong quá trình sinh peroxid từ AB không bão hoà có nhiều liên kết đôi (hình 2.14). Phản ứng được khơi mào bởi ánh sáng và ion kim loại.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Malondialdehyd (MDA) được dùng để xác định quá trình POL. Nó chỉ được tạo thành từ các AB có ≥ 3 liên kết đôi.



Hình 2.14. Peroxy hoá lipid
Phản ứng tạo peroxid từ acid béo không bão hoà có nhiều liên kết đôi

POL là một chuỗi phản ứng tạo peroxid và cho liên tục các gốc tự do, bao gồm 3 giai đoạn:

(1) Giai đoạn khơi mào

Tạo $R^{\bullet}$ từ một tiền chất hydroperoxyd

$ROOH + \text{kim loại}^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + \text{kim loại}^{(n-1)} + H^{+}$

(2) Giai đoạn lan truyền

$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$

$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$ v.v...

(3) Giai đoạn kết thúc

$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$

$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$

$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$

POL được xúc tác invivo bởi các hợp chất có Hem và các lipoxygenase có trong tiểu cầu và bạch cầu. Trong cơ thể quá trình chuyển hoá của oxy cũng tạo ra các gốc tự do tham gia vào các giai đoạn của POL (hình 2.15). Các gốc tự do này gây phá hủy tế bào (thoái hoá oxy hoá các thành phần hoà tan trong tế bào như: protein, ADN). Để kiểm soát và làm giảm quá trình POL invivo, thường xuyên cơ thể sản xuất ra những enzym đóng vai trò là những tác nhân chống oxy hoá (antioxidant); đó là:

- Superoxid - dismutase (SOD) có tác dụng bẫy các gốc superoxid ($O_2^{\bullet}$):

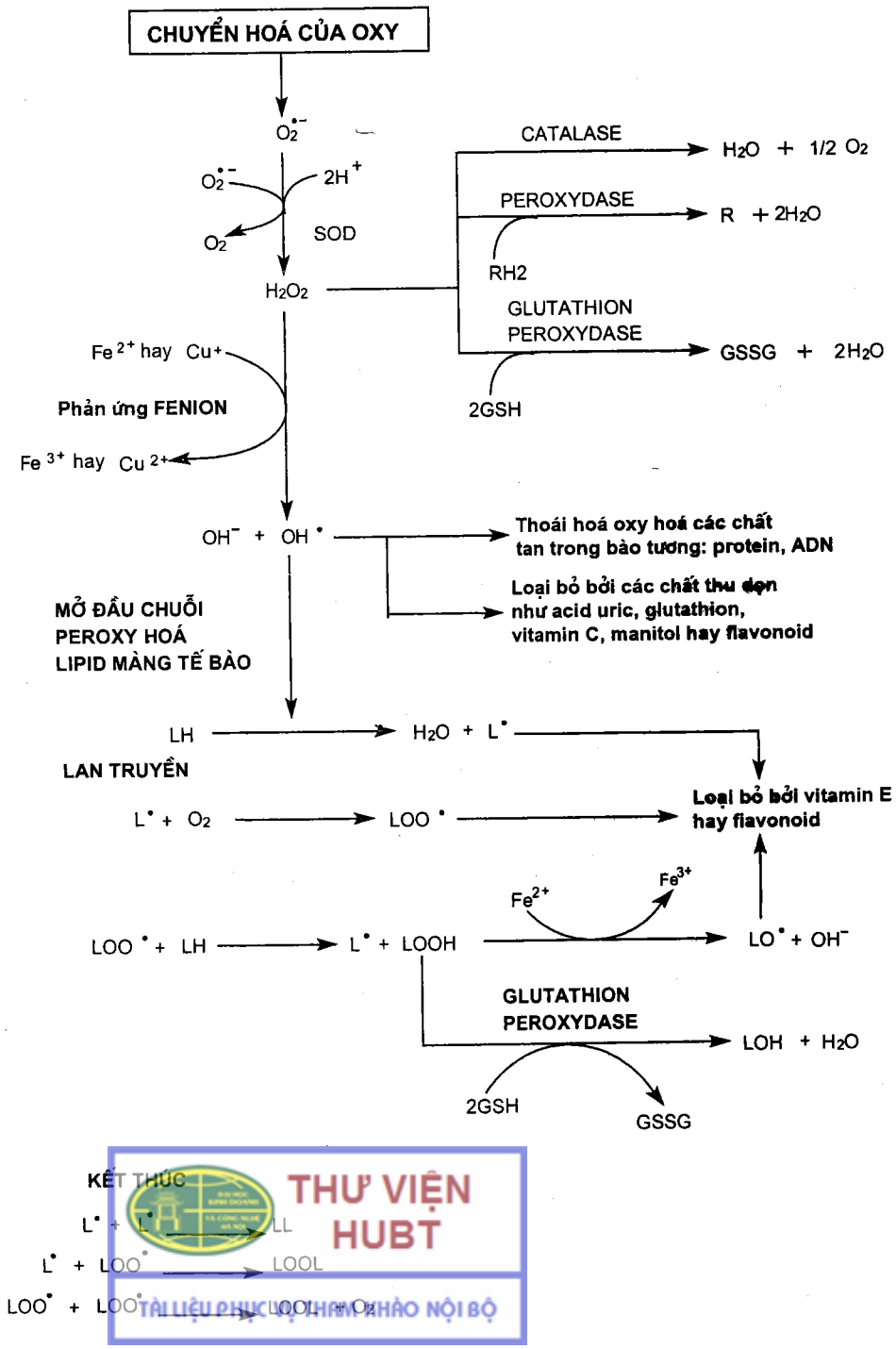
  $SOD + O_2^{\bullet} \rightarrow SOD^{\bullet} + O_2$

  $SOD^{\bullet} + O_2^{\bullet} + 2H \rightarrow H_2O_2 + SOD$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- Catalase: có tác dụng ngăn cản phản ứng tạo gốc $OH^{\bullet}$
- Peroxydase, đặc biệt là glutathion peroxydase: đóng vai trò chính trong phản ứng giải độc H_2O_2 và ngăn chặn giai đoạn lan truyền.

Ngoài ra acid uric, glutathion, mannitol, viatminC, vitamin E và các flavonoid cũng đã được chứng minh là những chất đóng vai trò "chất thu dọn" (scavenger) gốc tự do sinh ra từ quá trình POL (hình 2.15).



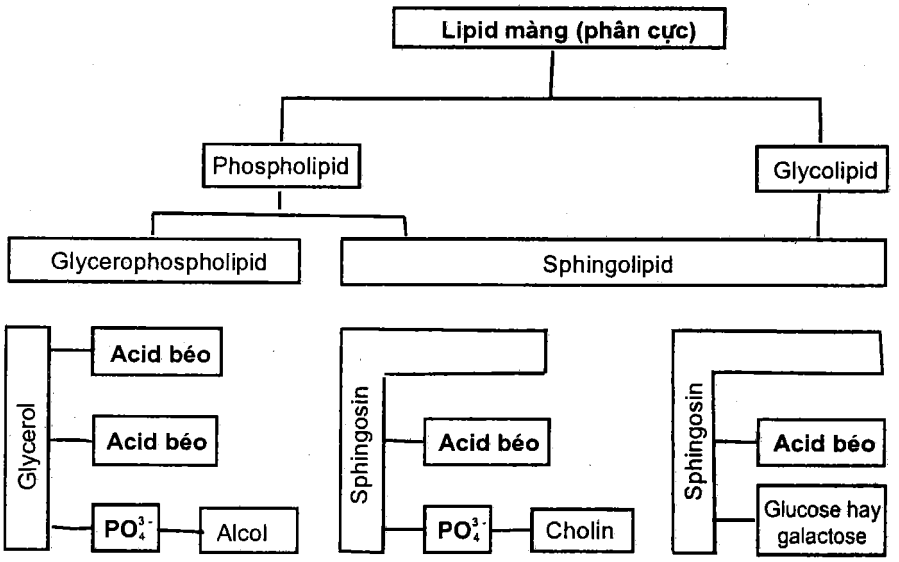
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ HỌC TẬP NỘI BỘ

Hình 2.15. Sự tạo thành gốc tự do và vai trò của các antioxydant

5. Lipid phức tạp

Lipid phức tạp có vị trí quan trọng trong cơ thể không phải ở vai trò dự trữ mà chủ yếu ở vai trò chuyển hoá trung gian. Nó có trong tế bào của não, gan.

Trong số các nhóm thuộc lipid màng có hai nhóm phức tạp (hình 2.16), đó là: phospholipid và glycolipid, bao gồm hai phân nhóm tùy thuộc vào thành phần alcol trong cấu tạo của lipid: glycerophospholipid có alcol là glycerol và sphingolipid có alcol là sphingosin.

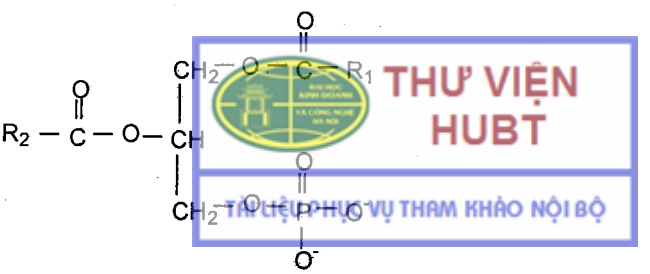


Hình 2.16. Các nhóm chính của lipid màng

5.1. Phospholipid

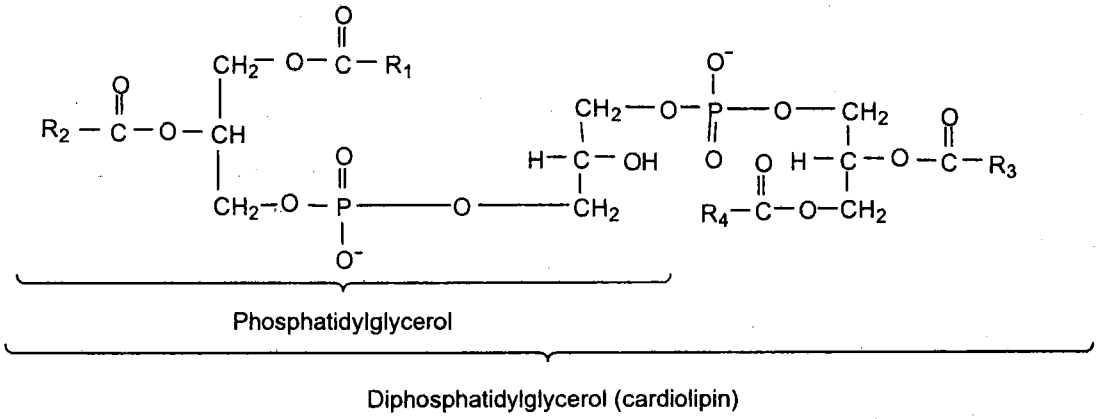
Những chất sau đây được gọi là phospholipid: (1) acid phosphatidic và phosphatidylglycerol, (2) phosphatidylcholin, (3) phosphatidylethanolamin, (4) phosphatidylinositol, (5) phosphatidyl serin, (6) lysophospholipid, (7) plasmalogen, (8) yếu tố hoạt hoá tiểu cầu và (9) sphingomyelin.

5.1.1. Acid phosphatidic và phosphatidyl glycerol (glycerophospholipid): acid phosphatidic là chất trung gian quan trọng dùng để tổng hợp triglycerid và phospholipid, nhưng không có nhiều trong các tổ chức (hình 2.17).



Hình 2.17. Acid phosphatidic

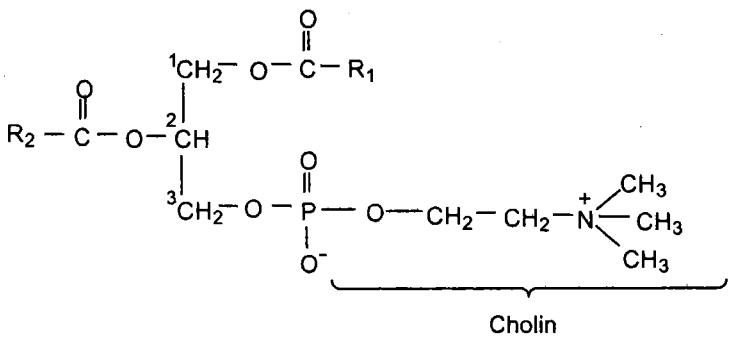
+ Cardiolipin là phospholipid có trong màng ty thể, được tạo thành từ phosphatidylglycerol (hình 2.18).



Hình 2.18. Diphosphatidylglycerol (cardiolipin)

5.1.2. Phosphatidylcholin (lecithin)

Lecithin chứa glycerol, AB, acid phosphoric và cholin. Nó được phân bố nhiều trong các tế bào của cơ thể và vừa đóng vai trò chuyển hoá, vừa đóng vai trò cấu tạo màng tế bào. Dipalmityl lecithin là một chất có tác dụng bề mặt rất mạnh ở mặt trong của phổi, giúp tránh được hiện tượng kết dính do áp lực bề mặt. Nếu thiếu chất này ở phổi sẽ gây cho trẻ nhỏ hội chứng suy hô hấp. Tuy nhiên phần lớn phospholipid đều có gốc acyl bão hoà ở C1, nhưng lại có một gốc acyl không bão hoà ở C2 (hình 2.19).



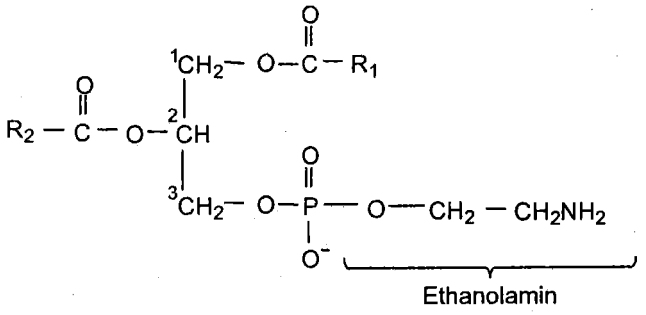
α - 3 - phosphatidylcholin

Hình 2.19. Lecithin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.1.3. Phosphatidylethanolamin (cephalin)

Cephalin chỉ khác lecithin ở chỗ thay thế cholin bằng ethanolamin (hình 2.20).

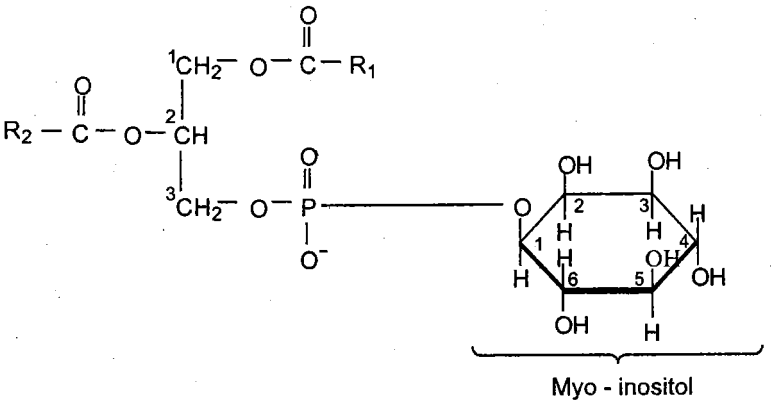


3 - phosphatidylethanolamin

Hình 2.20. Cephalin

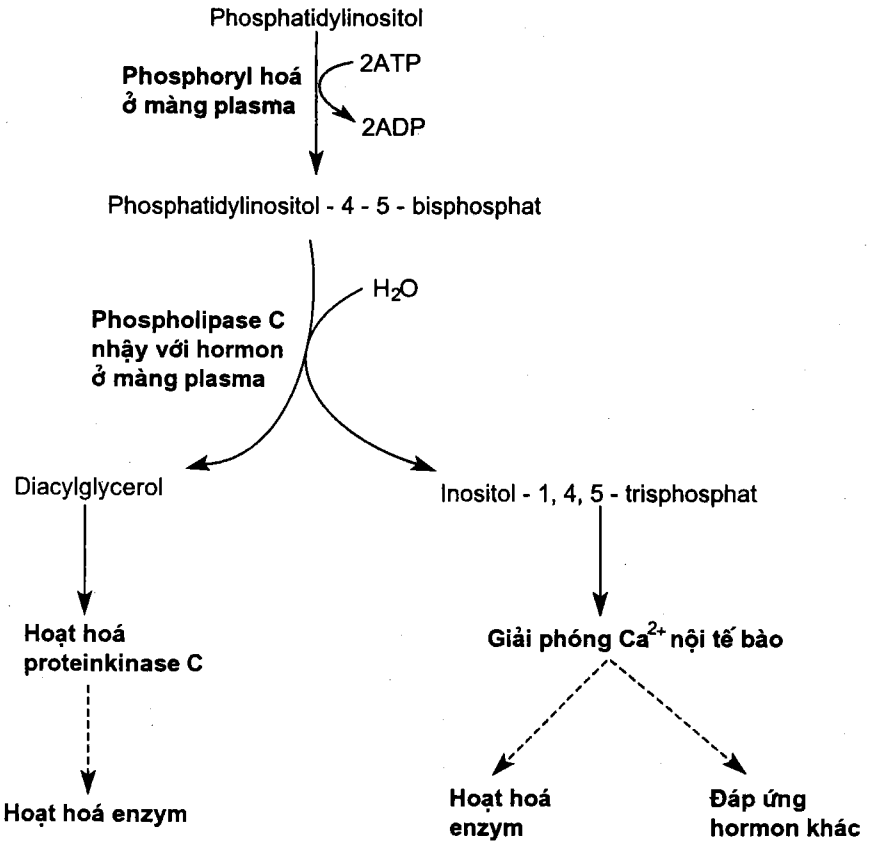
5.1.4. Phosphatidylinositol

Inositol là đồng phân dị lập thể của myoinositol (hình 2.21). Phosphatidyl inositol 4,5 - diphosphat là thành phần quan trọng của phospholipid màng tế bào; dưới tác dụng kích thích của một chất hiệp đồng hormon, nó sẽ được cắt thành diacylglycerol và inositol triphosphat, cả hai chất này đều hoạt động như là những tín hiệu nội tế bào hay còn gọi là chất truyền tin thứ hai (hình 2.22).



Hình 2.21. 3 - phosphatidyl inositol

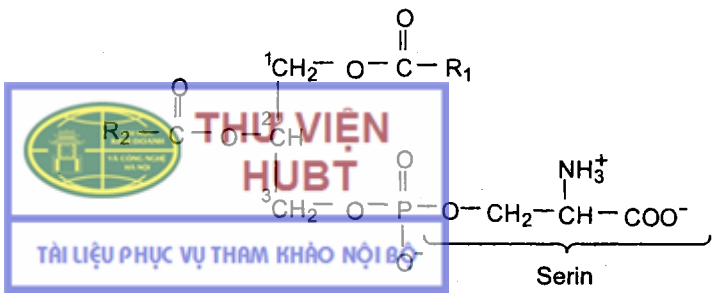
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 2.22. Tác dụng của các thông tin nội tế bào từ phosphatidylinositol

5.1.5. Phosphatidyl serin

Phosphatidyl serin là một phospholipid tương tự cephalin, có chứa acid amin serin thay cho ethanolamin, được tìm thấy ở các tổ chức (hình 2.23). Người ta cũng đã phân lập được các phospholipid chứa threonin.

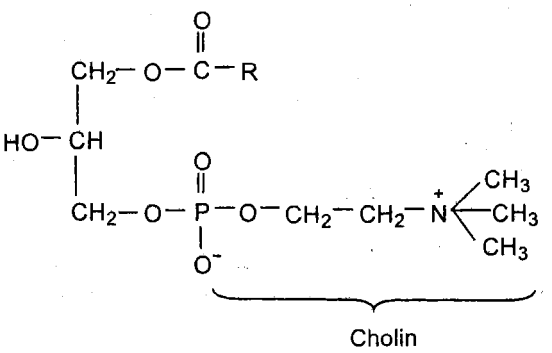


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 2.23. 3-phosphatidyl serin

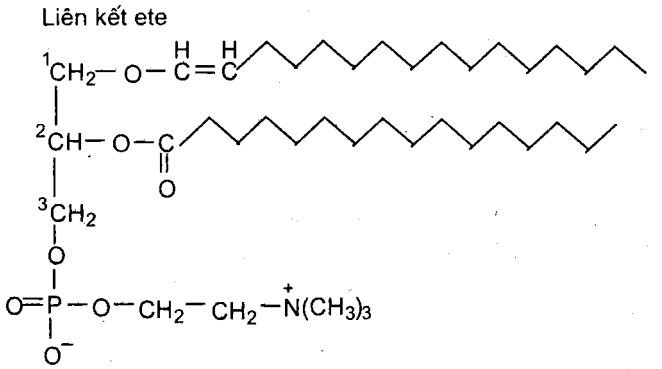
5.1.6. Lysophospholipid

Các lysophospholipid chỉ chứa một gốc acyl. Ví dụ lysolecithin đóng vai trò quan trọng trong chuyển hoá của phospholipid (hình 2.24).



Hình 2.24. Lysolecithin

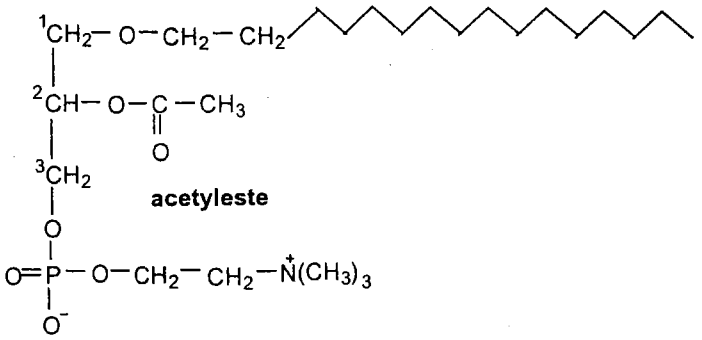
5.1.7. Plasmalogen: ở não và cơ; những hợp chất này chiếm 10% tổng số phospholipid. Plasmalogen có cấu trúc gần giống với phosphatidyl ethanolamin nhưng có một liên kết ete ở phần lớn các acyl glycerol. Đặc trưng của gốc alkyl là một alcol không bão hoà (hình 2.25).



Hình 2.25. Plasmalogen

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

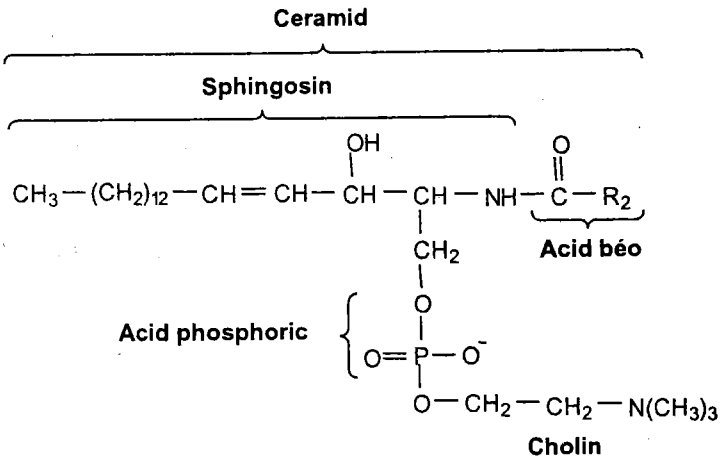
5.1.8. Yếu tố hoạt hoá tiểu cầu: chất này cũng là một phospholipid có chuỗi liên kết ete (hình 2.26).



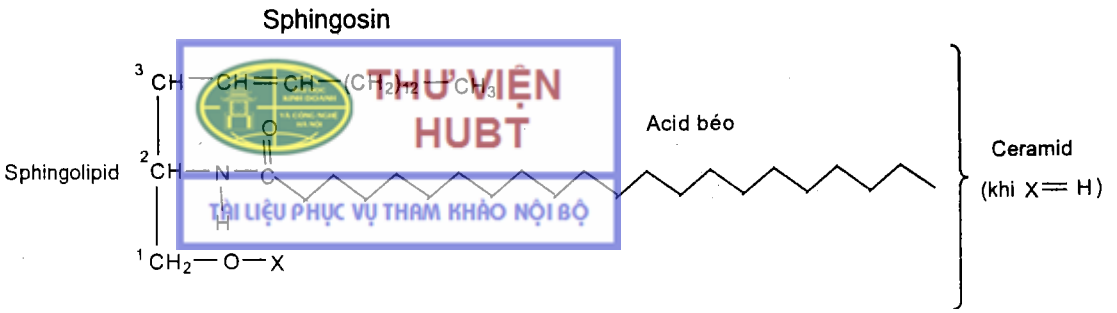
Hình 2.26. Yếu tố hoạt hoá tiểu cầu

5.1.9. Sphingomyelin (hình 2.27): có nhiều trong tổ chức não và thần kinh, khi thuỷ phân cho một AB, acid phosphoric, cholin và một aminoalcol là sphingosin.

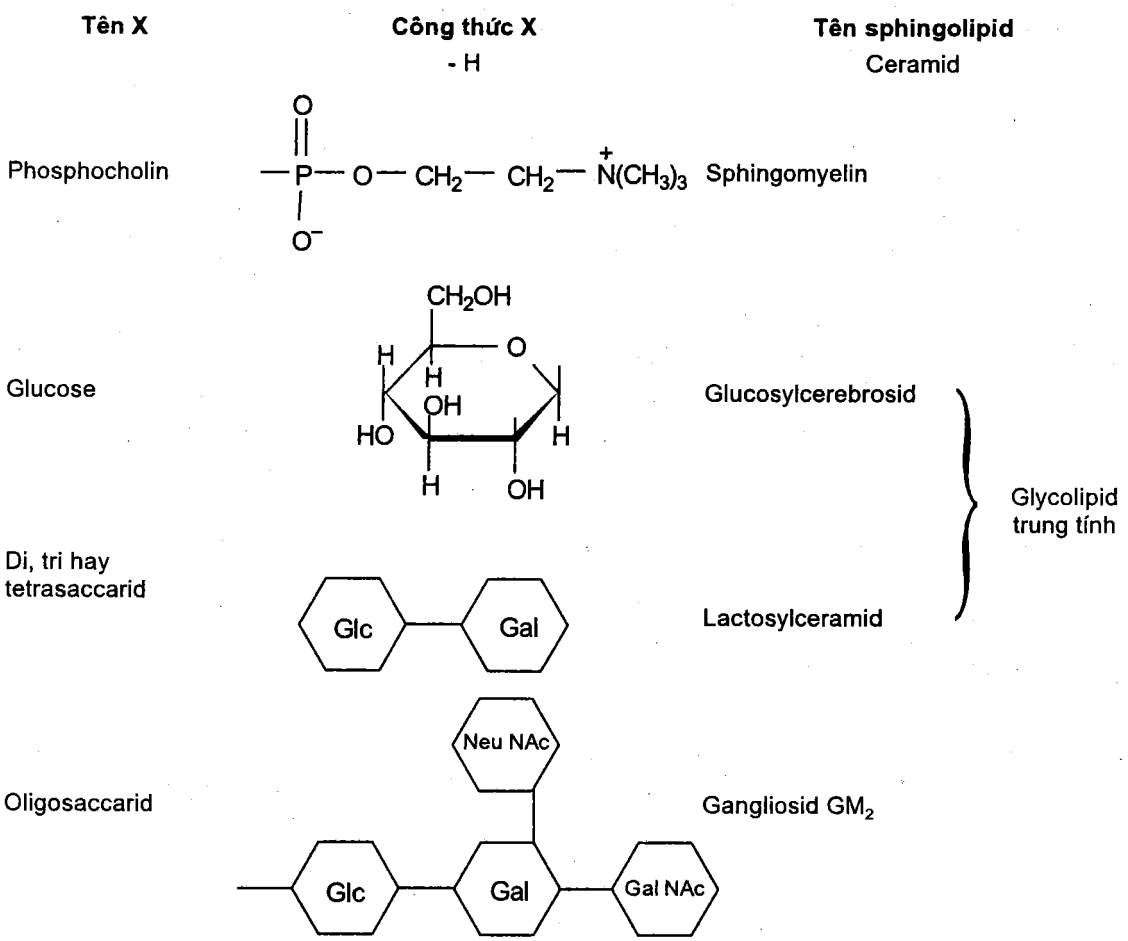
Ceramid là sự kết hợp của sphingosin với AB, cũng có mặt trong cấu trúc của glycolipid.



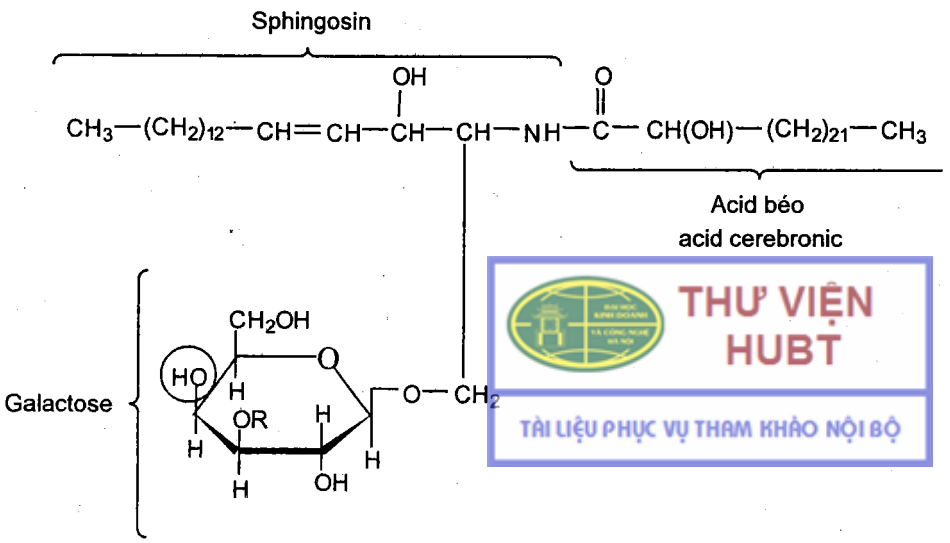
Hình 2.27. Sphingomyelin



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

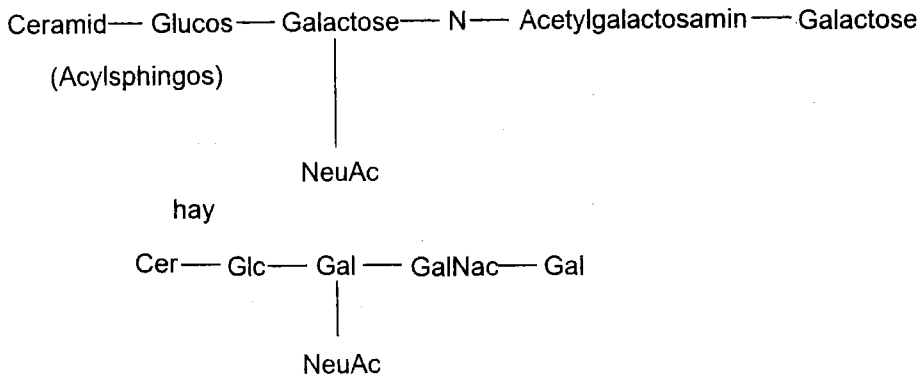


Hình 2.28. Sphingolipid (3 C đầu của sphingosin gần giống 3C của glycerol trong glycerophospholipid



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 2.29. Galactosylceramid



Hình 2.30. Gangliosid GM_1

5.2. Glycolipid

Glycolipid được phân bố rộng rãi trong mọi tổ chức của cơ thể, đặc biệt là tổ chức thần kinh như não. Chúng tập trung nhiều ở mặt ngoài của màng plasma tham gia vào cấu trúc carbohydrat bề mặt của tế bào.

Glycosphingolipid thuộc phân nhóm sphingolipid (hình 2.16) là những glycolipid chính được tìm thấy ở các tổ chức của động vật nói chung. Các chất này được gọi là glycolipid trung tính chứa ceramid và một hay nhiều phân tử đường (D-glucose, D-galactose, N-acetyl-D- galactose, galactosamin) (hình 2.28 và 2.29).

Galactosyl ceramid và glucosyl ceramid là 2 chất đơn giản nhất được gọi chung là cerebrosid.

Galactosyl cerebrosid là một glycosphingolipid quan trọng của não và tổ chức thần kinh khác. Nó chứa một lượng AB C24 đặc trưng và có thể biến đổi thành sulfogalactosyl ceramid (sulfatid) có nhiều trong tuỷ xương.

Glucosyl cerebrosid có chủ yếu trong màng plasma của tế bào ở các tổ chức ngoài thần kinh.

Gangliosid là những glycosphingolipid phức tạp hơn có nguồn gốc từ glucosyl ceramid. Chúng chứa nhiều đầu phân cực tạo bởi các phân tử đường có các gốc tận là acid sialic (Neu - NAc). Gangliosid tham gia cấu tạo 6% lipid màng trong chất xám của não người và có ít hơn ở các tổ chức ngoài thần kinh. Màng tế bào thần kinh của người chứa ít nhất 15 gangliosid khác nhau. Gangliosid GM_1 (hình 2.30) là nơi gắn độc tố cholera khi độc tố này tấn công vào một tế bào.

Quá trình tổng hợp và thoái hoá các chất nói trên được điều hoà một cách chặt chẽ. Những rối loạn về chuyển hoá của cerebrosid và gangliosid có ảnh hưởng đến một số bệnh di truyền ở người (các bệnh Taysachs và Niemann-Pick).

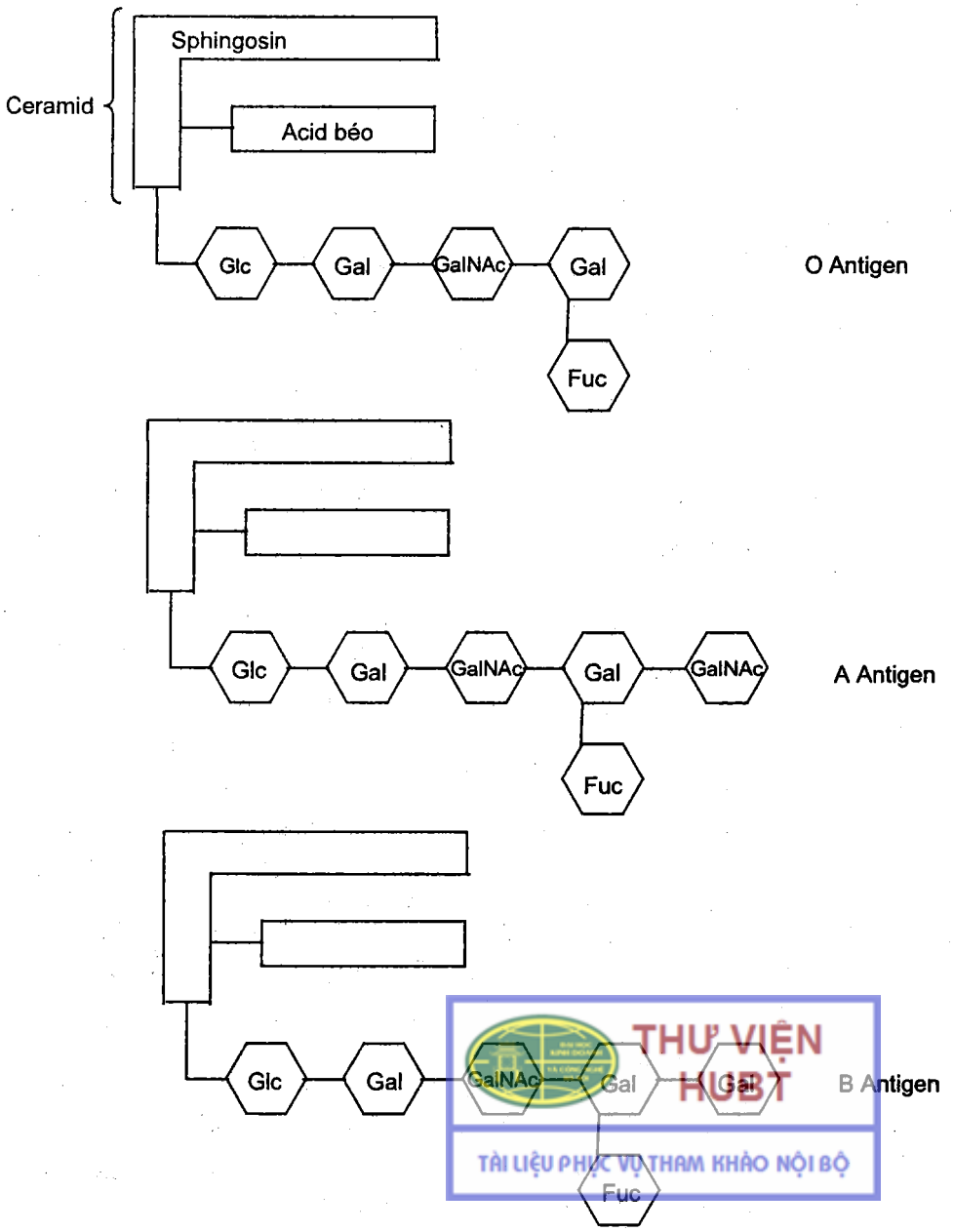
Ngày nay người ta còn phát hiện thấy các sphingolipid tham gia vào nhiều quá trình nhận diện ở bề mặt tế bào (hình 2.31).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ví dụ:

+ Gangliosid GM_1 (đã nói ở trên)

+ Các nhóm máu ở người (nhóm O, A, B) có thể được xác định bởi các gốc đường khác nhau nằm ở đầu của các phân tử glycosphingolipid. Các gốc này gắn vào protein máu ở những người có các nhóm máu O, A và B tương ứng (hình 2.31).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

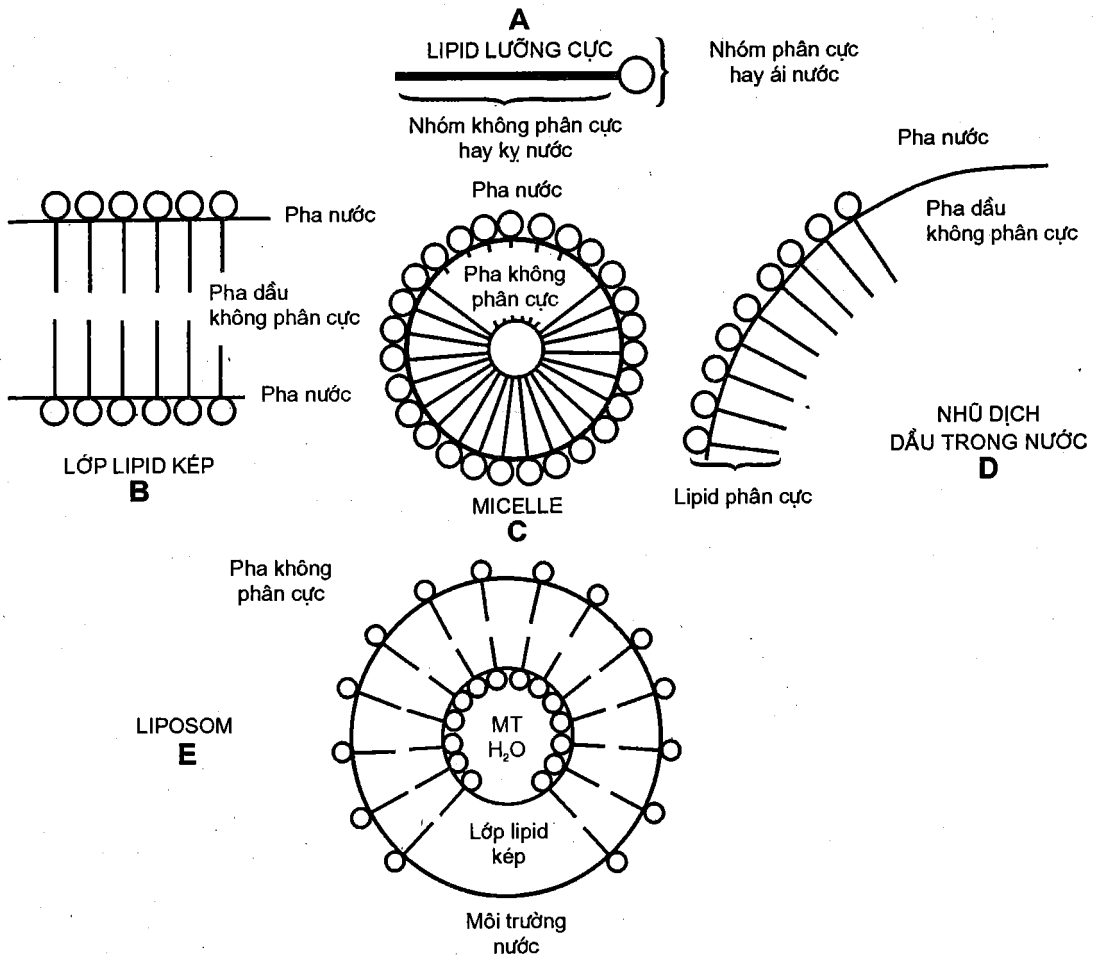
Hình 2.31. Các glycosphingolipid xác định các nhóm máu O, A, B ở người. (Glc: glucose, Gal: galactose, Fuc: Fucose, N-Ac: N-Acetyl)

6. Lipid lưỡng cực (amphipathic lipid)

Các lipid này bao gồm màng lipid micelle, lyposome và nhũ dịch (emulsion).

- Lipid nói chung thường không tan trong nước vì chứa chủ yếu các nhóm không phân cực (hydrocarbon). Tuy nhiên các AB, phospholipid, sphingolipid, muối mật, và thậm chí cholesterol lại chứa những nhóm phân cực. Nếu có phân tử vừa chứa một phần có tính kỵ nước (hydrophobe) và một phần có tính ưa nước (hydrophile) thì được gọi là lipid lưỡng cực (hình 2.32A).
- Chúng được định hướng trong môi trường "dầu - nước": nhóm phân cực quay vào pha nước và nhóm không phân cực quay vào pha dầu. Một lớp kép (double couchelipidique) của các lipid phân cực có cấu trúc như vậy được gọi là *cấu trúc cơ bản của màng sinh học* (hình 2.32B).
- Khi có một nồng độ lớn lipid phân cực nằm trong môi trường nước thì chúng sẽ tạo thành các micelle (hình 2.32C). Sự tiếp nhận muối mật vào micelle cũng như sự tạo thành micelle kết hợp với các sản phẩm tiêu hoá của lipid là cần thiết vì nó giúp cho quá trình hấp thu lipid ở ruột được dễ dàng.
- *Liposom* được tạo ra bằng cách gây "sóng âm" (sonicating) một lipid lưỡng cực trong môi trường nước. Chúng bao gồm các lớp kép lipid bao bọc xung quanh một phần môi trường nước (hình 2.32E). Liposom được sử dụng rất nhiều trong lâm sàng đặc biệt là khi kết hợp với những kháng thể đặc hiệu của tổ chức đóng vai trò vận chuyển thuốc vào máu để đi đến các cơ quan đặc hiệu.
- *Emulsion* là những tiểu phân tử lớn hơn nhiều, thường được tạo bởi các lipid không phân cực trong môi trường nước (hình 2.32D). Những phân tử nhũ tương này được ổn định bởi các tác nhân nhũ tương hoá (lecithin) có tác dụng tạo ra một lớp bề mặt ngăn cách giữa phần không phân cực với pha nước. Hiện tượng này cũng có ý nghĩa lớn trong chuyển hoá.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 2.32. Sự tạo thành màng lipid, micelle, nhũ dịch dầu trong nước và liposom từ lipid lưỡng cực (phospholipid)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 3

ACID AMIN VÀ PROTEIN

MỤC TIÊU

1. *Nêu được vai trò then chốt của protein trong hầu hết các quá trình sinh học.*
2. *Vẽ được cấu tạo và phân loại được 20 acid amin chuẩn là đơn vị cơ bản cấu tạo nên protein.*
3. *Trình bày được mối liên quan chặt chẽ giữa 4 bậc cấu trúc với chức năng và tính đặc hiệu của protein.*
4. *Nêu được những tính chất và ứng dụng quan trọng của acid amin, peptid và protein trong chẩn đoán và điều trị.*

Protein là những chất có phân tử lớn đóng vai trò chủ yếu trong sự hình thành, duy trì cấu trúc và chức năng của cơ thể sống. Ví dụ: protein, enzym, hormon xúc tác và điều hoà chuyển hoá các chất; collagen, keratin, glycoprotein, elastin tham gia cấu tạo cơ thể; actin, myosin là những protein co cơ; albumin, globulin, lipoprotein, hemoglobin là những protein vận chuyển các chất trong máu hay qua màng tế bào; ferritin lă protein dự trữ; immunoglobulin (Ig) là protein miễn dịch; rhodopsin là protein cảm nhận ánh sáng có trong tế bào hình gậy của võng mạc... Mỗi tế bào có thể có tới hàng nghìn protein cấu tạo từ 20 acid amin khác nhau được gọi là đơn vị cấu tạo của protein.

1. Acid amin

Acid amin (aa) là sản phẩm thuỷ ngân cuối cùng của peptid và protein, đồng thời là đơn vị cấu tạo xây dựng nên các phân tử peptid và protein.

Ngoài vai trò cấu tạo, một số aa còn có những chức năng quan trọng khác (ví dụ glycin và acid glutamic trong quá trình dẫn truyền thần kinh).

Trong khẩu phần thức ăn vẫn cần phải cung cấp những aa cần thiết vì cơ thể không thể tổng hợp đủ để duy trì sự phát triển cũng như sức khoẻ ở trẻ em hay người lớn.

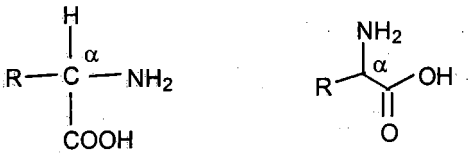
Chuyển hoá của aa tạo ra nhiều hợp chất có tác dụng sinh lý quan trọng (histamin, γ - aminobutyrat...) (xem phần Hoá sinh chuyển hoá).

Sự xuất hiện một hay nhiều aa với một lượng lớn trong nước tiểu đặc trưng cho nhiều trạng thái bệnh lý liên quan đến những biến đổi bất thường của aa trong tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.1. Cấu tạo hoá học và danh pháp

Acid amin là những dẫn xuất của acid hữu cơ mạch thẳng, trong đó một hay hai nguyên tử hydro được thay thế bằng nhóm amin. Các aa trong tự nhiên đều là acid L - α - amin trong đó cả 2 nhóm chức đều gắn vào carbon α (hình 3.1).



Hình 3.1. Acid α amin

Tất cả các aa trừ glycin (có R = H) đều có carbon α bất đối mang hoạt tính quang học làm quay mặt phẳng của ánh sáng phân cực.

Mặc dù trong tự nhiên có khoảng 300 aa nhưng cũng chỉ có 20 aa được tìm thấy trong protein (bảng 3.1.). Người ta gọi đó là những aa chuẩn (hay aa thường gặp). Tên của từng aa được ký hiệu tắt theo quy ước bằng 3 chữ cái hay một chữ in hoa (bảng 3.2).

1.2. Phân loại acid amin chuẩn (standard)

Theo độ phân cực của nhóm R có thể chia các acid L - α - amin thành hai nhóm lớn: aa phân cực và aa không phân cực (bảng 3.1), trong đó loại không phân cực gồm những acid amin ít hay không có sự khác nhau về điện tích giữa các vùng, còn loại phân cực thì có sự khác nhau lớn.

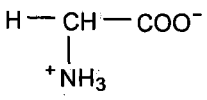
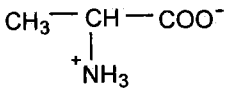
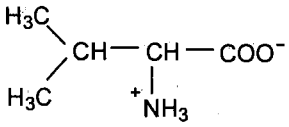
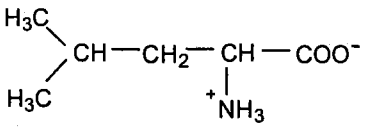
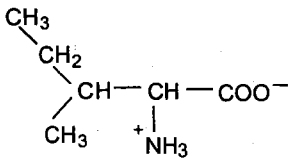
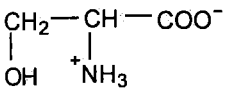
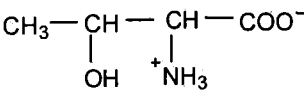
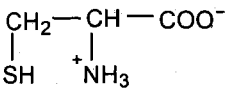
***Bảng 3.1.** Phân loại acid amin theo độ phân cực của gốc R*

Không phân cực	Phân cực
Alanin	Acid aspartic
Isoleucin	Acid glutamic
Leucin	Arginin
Methionin	Asparagin
Phenylalanin	Cystein
Prolin	Glutamin
Tryptophan	Histidin
Valin	Lysin
	Serin
	Threonin
	Tyrosin

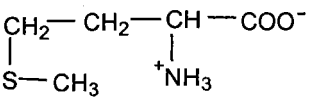
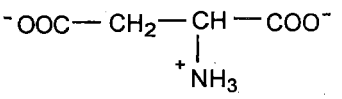
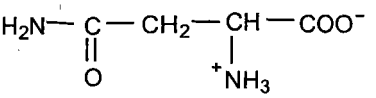
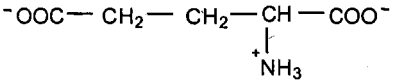
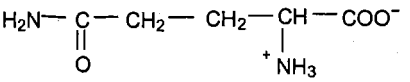
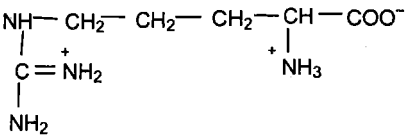
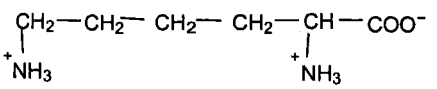
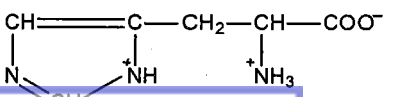
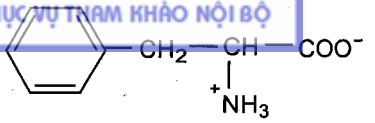
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Theo cấu tạo hoá học của nhóm R: các acid L - α - amin được phân loại thành 7 nhóm (bảng 3.2) hoặc có thể phân loại thành 2 nhóm: aa mạch thẳng và aa mạch vòng.

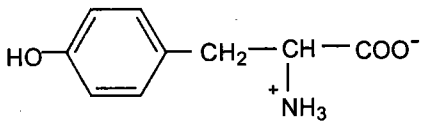
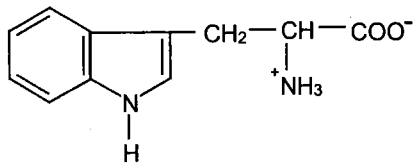
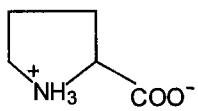
***Bảng 3.2.** Phân loại acid amin theo cấu tạo của gốc R*

Tên acid amin	Ký hiệu	Công thức cấu tạo
(1)	(2)	(3)
1. Nhóm aa mạch thẳng		
Glycin	Gly (G)	
Alanin	Ala (A)	
Valin	Val (V)	
Leucin	Leu (L)	
Isoleucin	Ile (I)	
2. Nhóm aa chứa hydroxyl (OH)		
Serin	Ser (S)	
Threonin	Thn (T)	
Tyrosin	Tyr (Y)	
3. Nhóm aa chứa lưu huỳnh		
Cystein	Cys (C)	

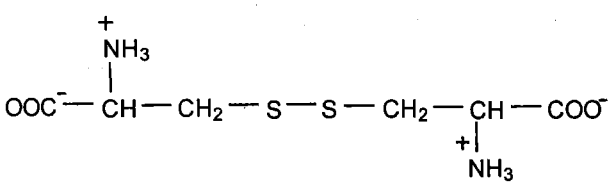
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Methionin	Met (M)	
4. Nhóm aa acid (chứa carboxyl hay amid)		
Acid aspartic	Asp (D)	
Asparagin	Asp (N)	
Acid glutamic	Glu (E)	
Glutamin	Gln (Q)	
5. Nhóm aa kiềm (chứa nhóm base)		
Arginin	Arg (R)	
Lysin	Lys (K)	
Histidin	His (H)	
6. Nhóm aa chứa nhân thơm		
Phenylalanin	Phe (F)	

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Tyrosin	Tyr (Y)	
Tryptophan	Trp (W)	
7. Nhóm imin Prolin	Pro (P)	

+ Acid amin cystin được cấu tạo từ 2 gốc cystein nối với nhau bằng liên kết disulfur.



Cũng có thể phân loại theo cả độ phân cực và cấu tạo hoá học của gốc R thành 5 nhóm:

– Nhóm aa có R mạch thẳng, không phân cực:

Gly Ala Val

Leu Ile Pro

– Nhóm aa có R phân cực, không mang điện tích:

Ser Thr

Cys Met

Asn Gln

– Nhóm aa có nhân thơm:

Phe Tyr Trp

– Nhóm aa có R mang điện (+):

Lys Arg His

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Nhóm aa có R mang điện (-):

Asp Glu

1.3. Acid amin không chuẩn (nonstandard)

Đó là những aa hiếm, ít gặp trong tự nhiên và chỉ tìm thấy trong một số loại protein. Chúng đều là những dẫn xuất hay là những sản phẩm do sự biến đổi của các aa chuẩn (hình 3.2)

Ví dụ:

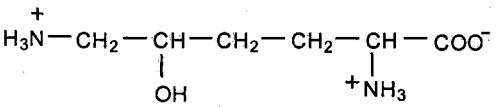
– 4-hydroxyprolin (dẫn xuất của prolin) và 5-hydroxylysin đều có trong protein sợi của tổ chức liên kết: collagen.

– N-metyllysin có trong myosin (protein co cơ).

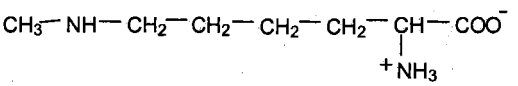
– γ-carboxyglutamat có trong protein đông máu: prothrombin và cả trong một số protein gắn Ca^{2+}.

– Desmosin (dẫn xuất của 4 gốc lysin) có trong protein sợi: elastin.

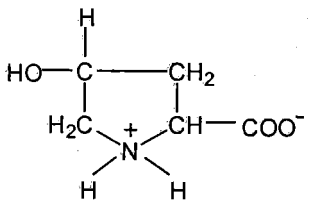
– Selenocystein (có cấu trúc tương tự serin nhưng thay oxy bằng selen) có trong glutathion - peroxydase và một số protein khác.



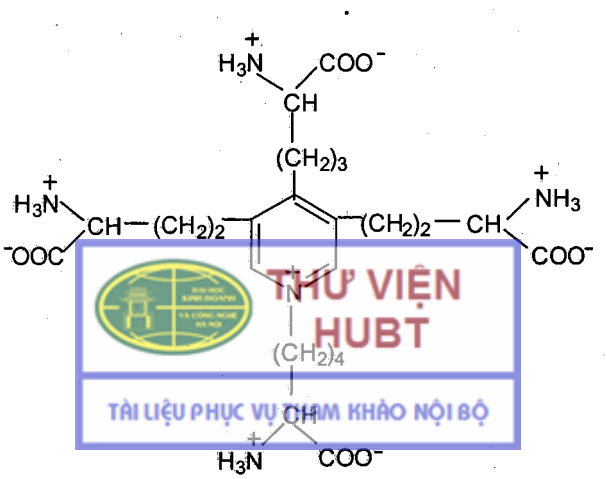
5 - hydroxylysin



6 - N - methyllysin

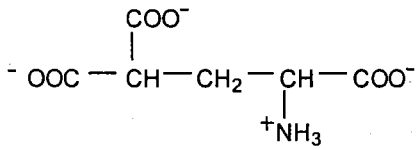


4- hydroxyprolin

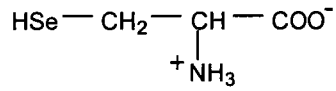


Desmosin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



γ- carboxyglutamat

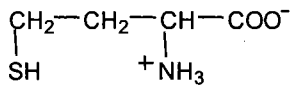
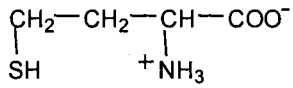
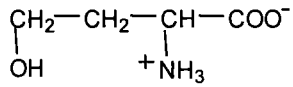
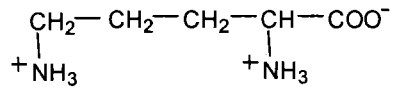
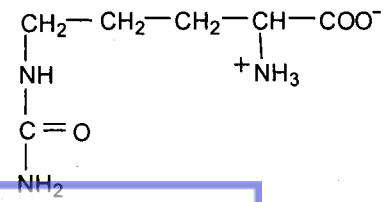
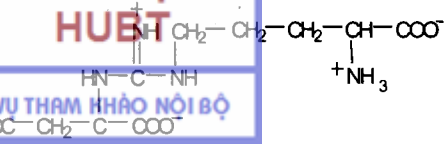


Selenocystein

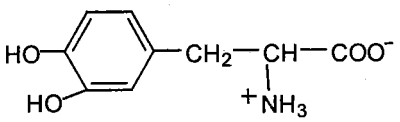
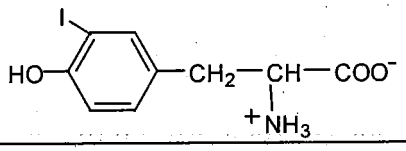
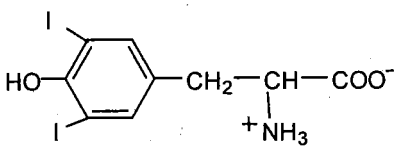
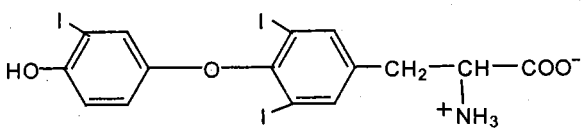
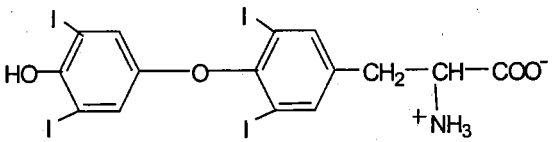
Hình 3.2. Một số acid amin tìm thấy trong một vài loại protein

Người ta còn biết trên 150 loại aa mang hoạt tính sinh học ở dưới dạng tự do hay kết hợp nhưng không có trong protein (bảng 3.3 và 3.4).

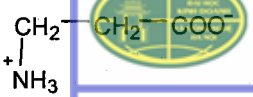
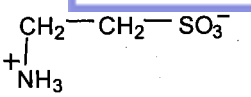
Bảng 3.3. *Một số acid amin không có trong protein*

Tên thường và tên hoá học	Công thức có pH trung tính	Vai trò
(1)	(2)	(3)
Homocystein (acid 2 - amino - 4 -mercaptobutanoic)		Trung gian trong sinh tổng hợp methionin
Acid cysteinesulfinic (acid 2 - amino - 3 sulfinopropanoic)		Trung gian trong chuyển hoá cystein
Homoserin (acid 2 - amino - 4 - hydroxybutanoic)		Trung gian trong chuyển hoá threonin, aspartat, và methionin
Ornithin (acid 2,5 - diaminopentanoic)		Trung gian trong sinh tổng hợp urê
Citrulin (acid 2 - amino - 5 - ureidopentanoic)		Trung gian trong sinh tổng hợp urê
Acid argininosuccinic		Trung gian trong sinh tổng hợp urê

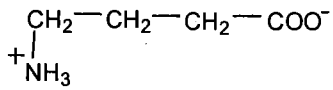
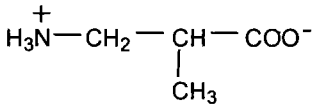
THƯ VIỆN HUET
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Dopa (3, 4 - dihydroxy - phenylalanin)		Tiền chất của melanin
3 - Monoiodotyrosin		Tiền chất của hormon tuyến giáp
3, 5 - Diiodotyrosin		Tiền chất của hormon tuyến giáp
3, 5, 3' - Triiodo - thyronin (T_3)		Tiền chất của hormon tuyến giáp
Thyroxin (3, 5, 3', 5', - tétraiodo - thyronin) (T_4)		Tiền chất của hormon tuyến giáp

Bảng 3.4. *Một số acid amin có nhóm NH_2 không ở vị trí α*

Tên thường và tên hoá học	Công thức có pH trung tính	Vai trò
(1)	(2)	(3)
β - Alanin (3 - amino propanoat)		Là thành phần của panthotenic (vitamin) và của coenzym A
Taurin (2 - amino - etylsulfonat)		Là dạng liên hợp trong acid mật

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

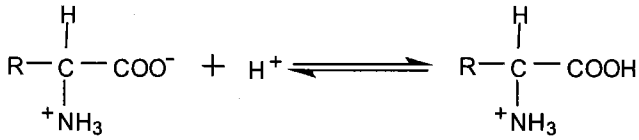
(1)	(2)	(3)
γ - Aminobutyrat (GABA) (4 - aminobutanoat)		Chất dẫn truyền thần kinh tạo từ glutamat ở tổ chức não
β - Aminoisobutyrat (2 - metyl - 3 aminopropanoat)		Sản phẩm cuối cùng thoái hoá pyrimidin trong nước tiểu một số người

Trong tự nhiên ngoài cấu hình L còn có trên 20 aa có cấu hình D.

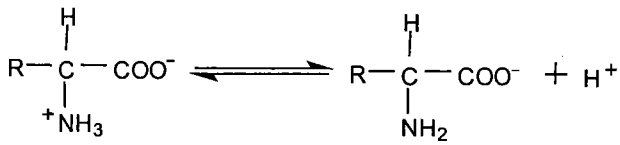
Ví dụ: D - alanin và D-glutamat là thành phần màng tế bào của một số vi khuẩn. Trong các kháng sinh cũng có nhiều acid - D - amin.

1.4. Các dạng ion của acid amin (tính chất acid - base của acid amin)

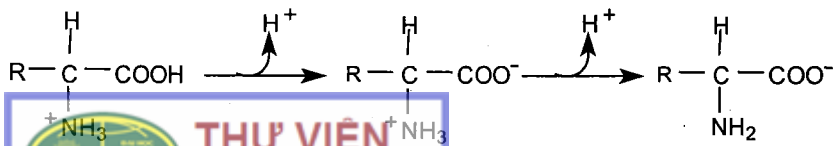
Khi hoà tan trong nước, một aa kết tinh (ví dụ alanin) được tồn tại trong dung dịch dưới dạng ion lưỡng cực (dipolar ion hay zwitter ion) và có thể tác động như một base (chất nhận proton).



hay một acid (chất cho proton).



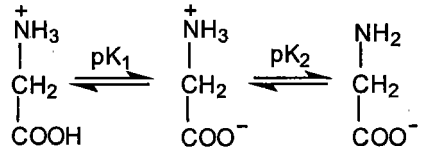
Đó là tính chất lưỡng tính (amphotetic) của aa. Như vậy dưới dạng lưỡng cực này có 2 nhóm có thể tự ion hoá để cho các proton.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

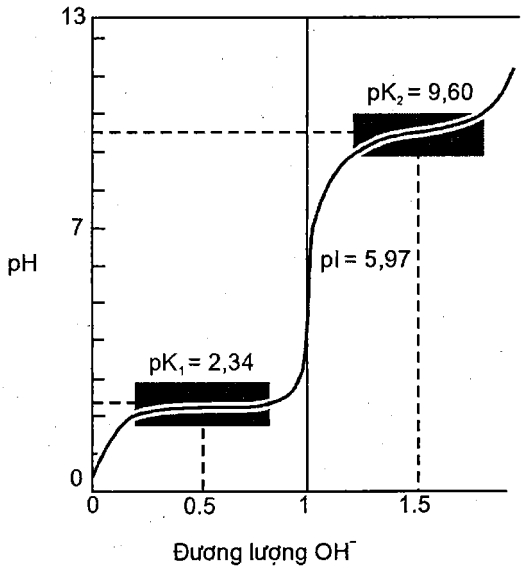
Mỗi aa có một đường cong chuẩn đặc trưng. Dựa vào nồng độ proton và hằng số cân bằng ion hoá theo phương trình Henderson – Hasselbalch mà người ta đã thiết lập được mối liên quan giữa lượng điện tích của aa với pH của dung dịch, đặc biệt là ở dưới dạng ion lưỡng cực (aa được ion hoá hoàn toàn nhưng lại trung hoà về điện tích).

$$pH = pKa + \log \frac{[\text{chất nhận proton}]}{[\text{chất cho proton}]}$$



Người ta gọi pH tại đó dạng lưỡng cực chiếm đa số, tổng số điện tích âm bằng điện tích dương và aa không di chuyển trong điện trường là pH đẳng điện hay còn gọi là điểm đẳng điện, ký hiệu là pI hay pHi.

Ví dụ: trong dung dịch, glycin có hai giai đoạn loại proton tương ứng với hằng số cân bằng ion hoá pK_1 và pK_2 (hình 3.3).



Hình 3.3. Đường cong chuẩn của glycin 0,1M ở 25°C

$$pI = 1/2.\ (pK_1 + pK_2)$$

$$= 1/2.\ (2,34 + 9,60) = 5,97$$

Chỉ khi có sự thay đổi pH trong môi trường mới làm cho cân bằng ion bị phá vỡ:

- Nếu môi trường là kiềm so với pI (pH>pI): aa sẽ tích điện (-) và dưới tác dụng của điện trường sẽ di chuyển về cực (+).
- Nếu môi trường là acid so với pI (pH<pI): aa sẽ tích điện (+) và dưới tác dụng của điện trường sẽ di chuyển về cực (−).

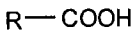
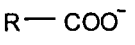
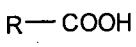
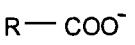
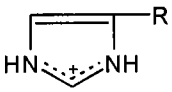
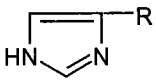
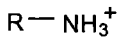
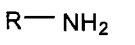
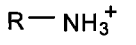
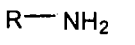
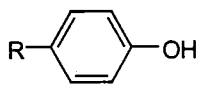
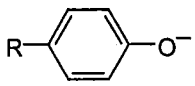
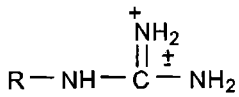
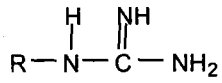
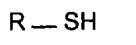
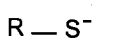
(Bảng 3.5 là pKa của các nhóm chức acid yếu của aa trong protein).

THƯ VIỆN HUBT

Tính chất acid - base này của aa được ứng dụng để phân cách một hỗn hợp aa dựa vào hướng và tốc độ di chuyển tương đối của chúng trong điện trường ở pH nhất định (kỹ thuật điện di - electrophoresis).

Điểm đẳng điện của 20 acid L - α amin được ghi trong bảng 3.6.

Bảng 3.5. pKa của các nhóm chức acid yếu của acid amin

	Acid liên hợp	Base liên hợp	$pK/_a$
α - carboxyl			2.1 = 0.5
Carboxyl không ở vị trí α (aspartat, glutamat)			4.0 = 0.3
Imidazol (histidin)			6.0
α - amin			9.8 = 1.0
α - amin (lysin)			10.5
OH - phenolic (tyrosin)			10.1
Guanidin (arginin)			12.5
Sulfydryl (cystein)			8.3

Bảng 3.6. Điểm đẳng điện của 20 acid L - α. amin.

Gly	5.97	Met	5.74	Val	5.96
Ala	6.02	Phe	5.48	Asp	2.77
Asn	5.41	Pro	6.30	Glu	3.12
Cys	5.02	Ser	5.68	Arg	10.96
Gln	5.65	Thr	6.16	Lys	9.74
Leu	5.98	Trp	5.89	His	7.59
Ile	6.02	Tyr	5.66		

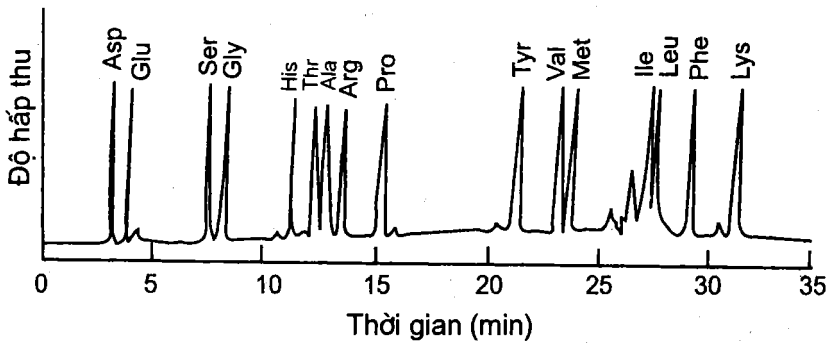
THƯ VIỆN HUBT

1.5. Tính tan và điểm chảy của acid amin

Sự có mặt của nhiều nhóm ion hoá trên aa làm cho chúng dễ tan hơn trong dung môi phân cực như nước, etanol và không tan trong các dung môi không phân cực như benzen, hexan hay ete. Điểm chảy của chúng cao (trên 200°C) do sự hiện diện của các nhóm tích điện, chúng tỏ phải có nhiều năng lượng mới phá vỡ được các lực ion của mạng kết tinh.

1.6. Các phương pháp tách chiết và xác định acid amin

– Sắc ký trao đổi ion: là phương pháp được áp dụng nhiều nhất để tách và định lượng từng aa trong một hỗn hợp. Ở pH = 8 hỗn hợp aa được đổ lên cột có chứa nhựa trao đổi cation (Na^+). Liên kết giữa aa với hạt nhựa mang ion phụ thuộc vào mức độ ion hoá của các aa. Khi có dung dịch đệm chảy qua cột, các aa sẽ được tách thành từng phân đoạn và được hứng vào các ống nghiệm. Ngày nay một trong những kỹ thuật sắc ký hiện đại là "Sắc ký lỏng hiệu năng cao" (HPLC) cho phép tách tốt hơn và tiết kiệm được nhiều thời gian hơn. Toàn bộ quy trình phân tích có thể tự động hoá trên máy phân tích aa. Hình 3.4 là sắc ký đồ của một hỗn hợp aa. Diện tích dưới pic tương ứng với nồng độ của mỗi aa trong hỗn hợp.



Hình 3.4. Phân tích acid amin bằng HPLC tự động trên nhựa trao đổi cation

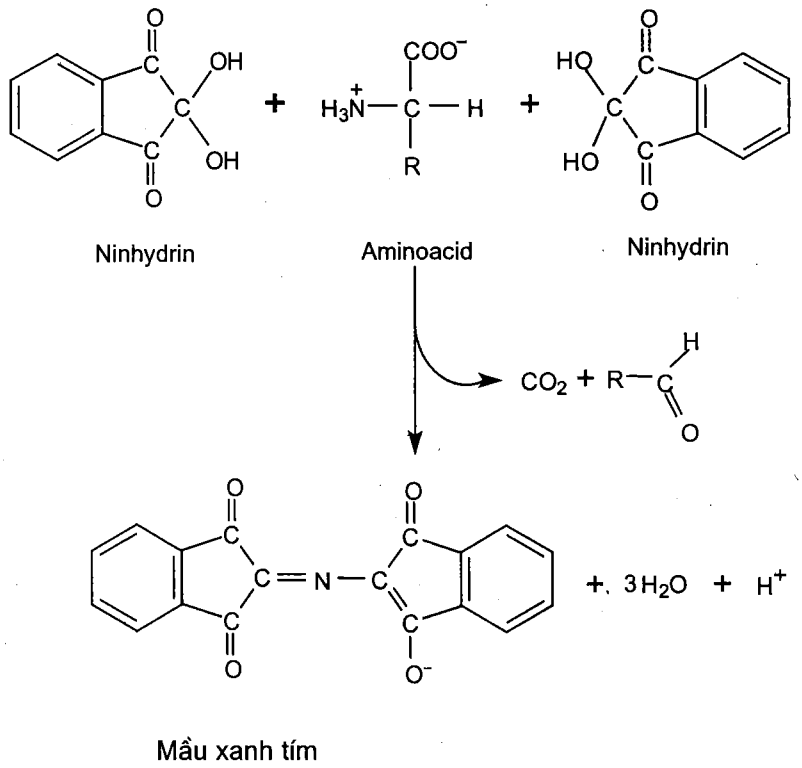
– Phương pháp điện di cao thế (HVE) (2000 - 5000 vol/0,5 - 2h): được áp dụng để tách aa, polypeptid có trọng lượng phân tử thấp, một số protein, nucleotid và phosphoglucid. Điện di đồ được phát hiện bằng ninhydrin (đối với aa, peptid) hay trên đèn tử ngoại (nucleotid).

1.7. Các phản ứng hoá học đặc trưng của acid amin

Đó là những phản ứng đặc trưng cho các nhóm amin và carboxyl như phản ứng acetyl hoá hay phản ứng formyl hoá, este hoá.

Phản ứng ninhydrin: đặc trưng cho nhóm α amin (hình 3.5).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

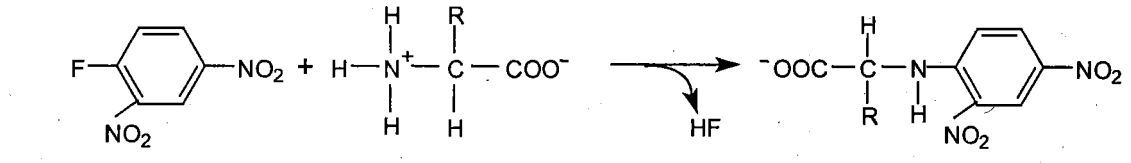


Hình 3.5. Phản ứng ninhydrin xác định acid α amin

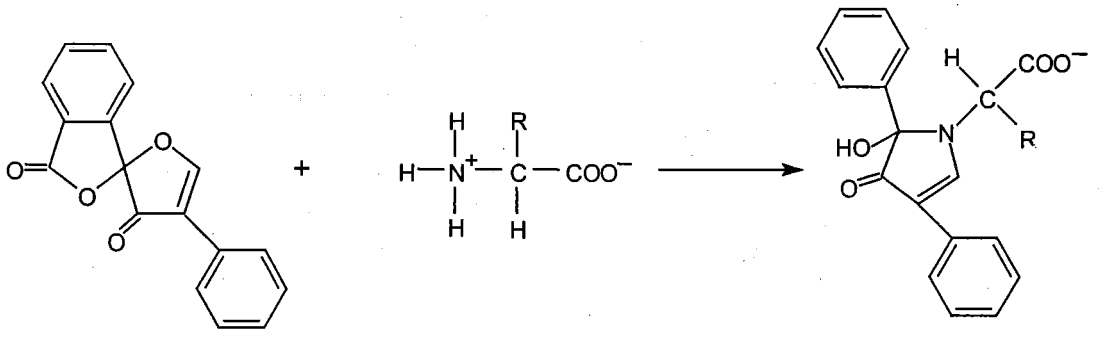
Tất cả α aa đều cho màu xanh tím (trừ prolin cho màu vàng) có độ hấp thụ ánh sáng tối đa ở bước sóng 570nm. Trong những điều kiện thích hợp, cường độ màu tương ứng với nồng độ của aa. Đây là một phương pháp đơn giản cho phép phát hiện dưới 1µg aa.

- Phản ứng với fluorescamin: tạo sản phẩm huỳnh quang với α amin của aa là phản ứng rất nhạy cho phép phát hiện aa tới hàng nano gram.
- Với clorid dabsyl, clorid dansyl và 1 - fluoro - 2,4 dinitrobenzen (phản ứng Sanger) cho các dẫn xuất bền vững trong điều kiện thuỷ phân protein (hình 3.6). Phản ứng Sanger được sử dụng để xác định aa-N tận nhưng không có khả năng xác định liên tiếp vì peptid còn lại bị phá huỷ do thuỷ phân.
- Với phenylisothiocyanat tạo dẫn xuất phenylthiohydantoin có thể xác định liên tiếp tới 50 aa-N tận mà không hề làm thuỷ phân đoạn peptid còn lại (phản ứng Edman).

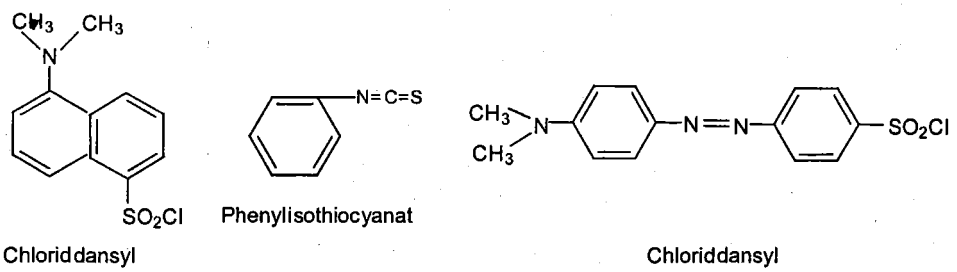
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



1 - fluoro - 2, 4 - dinitrobenzen Acid α - amin 2, 4 - dinitrophenylaminoacid



Fluorescamin Acid α - amin Dẫn xuất huỳnh quang



Chloriddansyl Phenylisothiocyanat Chloriddansyl

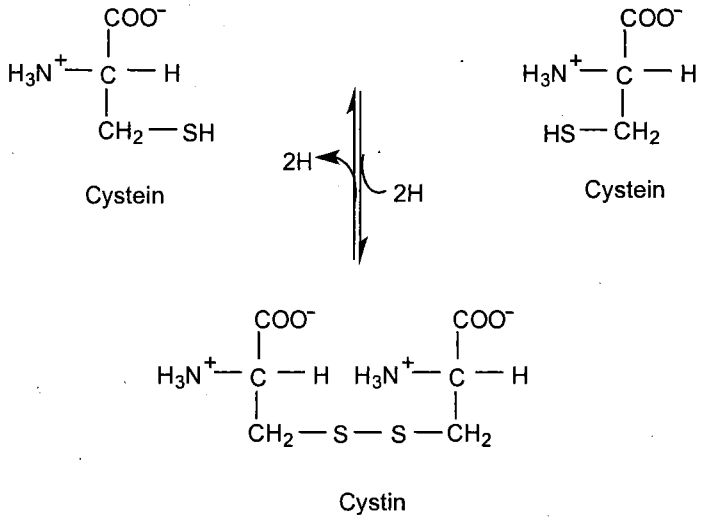
Hình 3.6. Các thuốc thử xác định acid α amin

1.8. Tính chất của các acid amin riêng biệt

- Gly là aa nhỏ nhất có thể thâm nhập vào cấu trúc 3 chiều của protein trong khi các aa khác không thể vào được.
- Các nhóm R của aa mạch thẳng béo và aa thơm đều có tính kỵ nước.
- Các nhóm tích điện của aa kiềm và aa acid đóng vai trò quan trọng trong việc ổn định các cấu dạng protein đặc hiệu qua phản ứng tạo liên kết muối. His là aa duy nhất tham gia xúc tác enzym vì pK của proton imidazol ở pH = 7,0 cho phép hoạt động vừa là chất xúc tác kiềm, vừa là chất xúc tác acid.
- Nhóm alcol bậc nhất của Ser và nhóm thioalcol bậc nhất (-SH) của Cys là tác nhân ái nhân quan trọng tham gia vào việc điều hoà xúc tác enzym, đồng thời còn có tác dụng điều hoà hoạt lực của một số enzym quan trọng trong chuyển hoá.

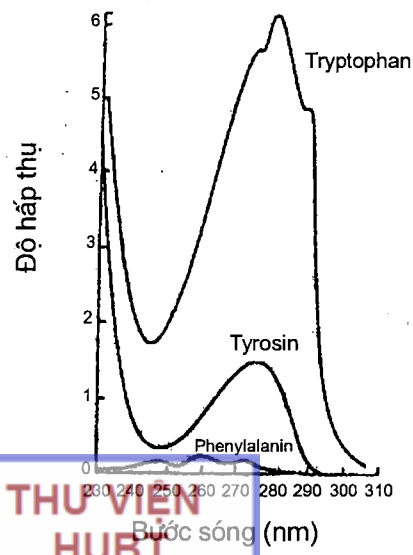
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRÌNH NHÀNG NỘI BỘ

- Cystein dễ dàng oxy hoá tạo thành một aa dimer cystin trong đó 2 phân tử cystein nối với nhau bằng liên kết disulfur (hình 3.7). Những liên kết này gặp rất nhiều trong protein đóng vai trò ổn định cấu trúc của chúng.



Hình 3.7. Sự tạo thành liên kết disulfur

- Tryptophan và tyrosin hấp thụ ánh sáng tử ngoại chứng tỏ khả năng hấp thụ ánh sáng đặc biệt mạnh của các protein ở bước sóng 280nm (hình 3.8).



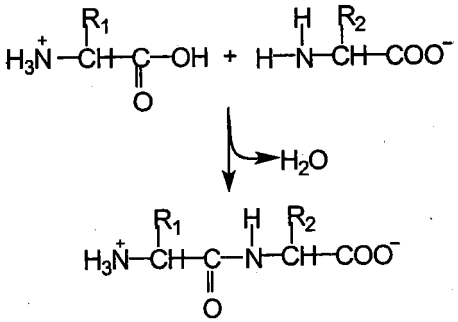
THƯ VIỆN HUBT

Hình 3.8. So sánh phổ hấp thụ của các acid amin thơm ở pH = 6,0 (10^{-3}M trong điều kiện giống nhau)

2. Peptid

2.1. Định nghĩa

Peptid là những hợp chất gồm 2 hay nhiều aa nối với nhau bằng các *liên kết peptid* được tạo thành do phản ứng loại nước giữa nhóm α amin của một aa với nhóm carboxyl của aa thứ 2. Tuy nhiên vì trên thực tế hằng số cân bằng chênh lệch nhiều về phía thuỷ phân liên kết peptid nên muốn tổng hợp nó cần phải biến đổi hay hoạt hoá nhóm carboxyl trước bằng hoá học (tạo clorid acid) hay bằng sinh học (phản ứng ngưng tụ nhờ ATP). Trong cơ thể, peptid có thể được tạo thành do sự thuỷ phân không hoàn toàn của polypeptid.



Hình 3.9. Sự tạo thành liên kết peptid

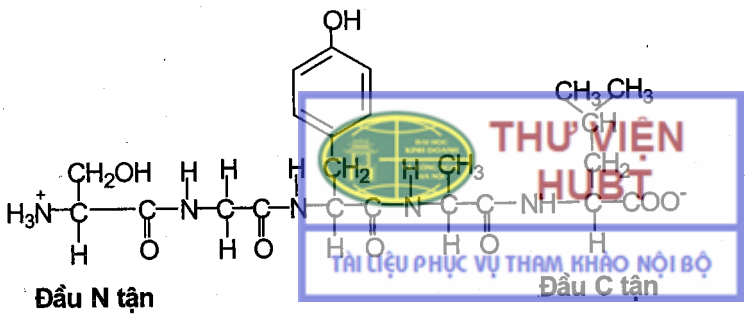
2.2. Danh pháp

Theo quy ước, 3aa ngưng tụ với nhau bởi hai liên kết peptid để tạo một *tripeptid*. Do đó peptid có 4 aa được gọi là *tetrapeptid*; 5 aa: *pentapeptid*...

Oligopeptid: là peptid gồm một số ít aa (10 - 20 aa).

Polypeptid, đôi khi gọi lẫn với protein, gồm nhiều aa có trọng lượng phân tử dưới 10.000.

Đọc tên peptid theo các gốc aa từ đầu N - tận đến đầu C - tận và giữ nguyên tên aa cuối. Ví dụ pentapeptid (hình 3.10).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 3.10. Seryl glycyl tyrosyl alanyl leucin (Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu)

2.3. Tính chất

- Peptid chỉ có một nhóm α amin tự do và một nhóm α - carboxylic tự do. Các nhóm này cũng được ion hoá giống như aa hoặc có thể tạo liên kết peptid. Peptid cũng có những đường cong chuẩn đặc trưng và pH đẳng điện khác nhau, do đó có thể di chuyển với tốc độ khác nhau trong điện trường.
- Các phản ứng hoá học đặc trưng:
  + Peptid tham gia vào mọi phản ứng của các nhóm NH_2 và COOH tự do, của nhóm R (giống aa)...
  + Liên kết peptid có thể được thuỷ phân bằng một acid mạnh (HCl 6N) hay một base để cho các aa. Đây là giai đoạn cần thiết để xác định thành phần aa của protein. Trong cơ thể liên kết peptid được thuỷ phân nhờ một số enzym (protease) có trong mọi tế bào và tổ chức.

2.4. Một số peptid có hoạt tính sinh học

Trong tự nhiên (tế bào động vật, thực vật, vi khuẩn) có nhiều polypeptid nhỏ (gồm từ 3 - 100 gốc aa) đóng vai trò sinh lý quan trọng (hình 3.11).

- Glutathion (tripeptid) tham gia vào hoạt động của nhiều enzym và tạo liên kết disulfur của nhiều hormon protein và polypeptid.
- Bradikynin (9 aa) (hình 3.11a): peptid tương tự hormon, ức chế viêm ở tổ chức.
- Oxytocin (9 aa) (hình 3.11b): hormon tuyến hậu yên, kích thích co tử cung.
- TRF (yếu tố giải phóng thyrotropin, 3 aa) (hình 3.11c) hormon vùng dưới đồi.
- Encephalin (5 aa) (hình 3.11d): peptid của não, gây mất cảm giác đau.
- Gramicidin (10 aa - vòng) (hình 3.11e): kháng sinh sản xuất từ vi khuẩn Bacillus brevis.
- Insulin (51 aa) và glucagon (29 aa) là những hormon tuyến tụy có tác dụng ngược nhau trong chuyển hoá glucid.
- β - lipotropin (91 aa) (hình 3.11f): hormon tuyến yên kích thích giải phóng acid béo ở mô mỡ.

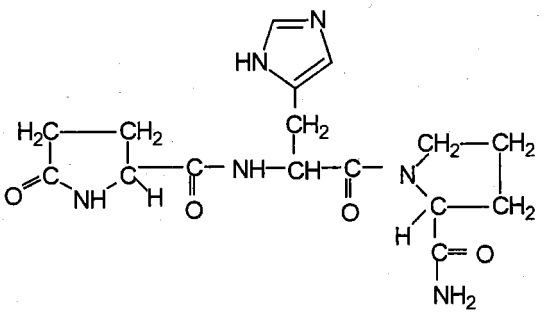
Arg - Pro - Pro - Gly - Phe - Ser - Pro - Phe - Arg

(a)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cys – Tyr – Ile – Gln – Asn – Cys – Pro – Leu – Gly - NH_2

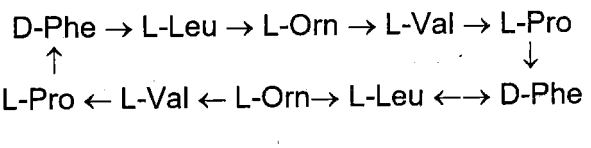
(b)



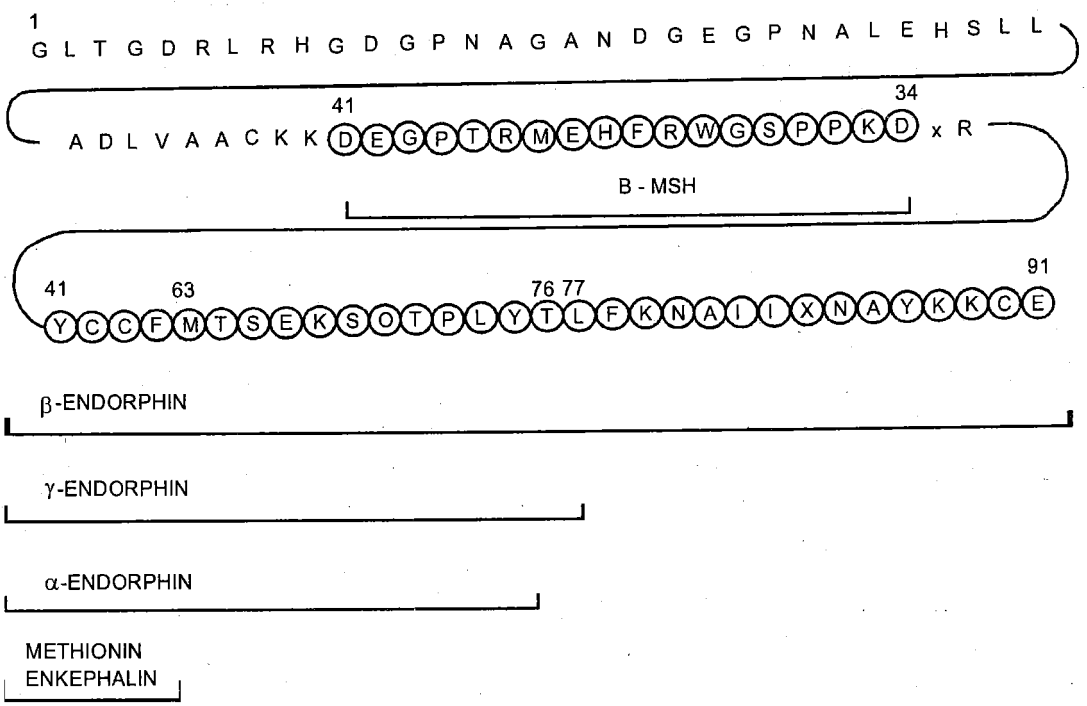
(c)

Tyr - Gly - Gly - Phe - Met
Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu

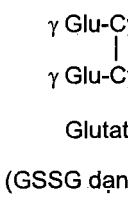
(d)

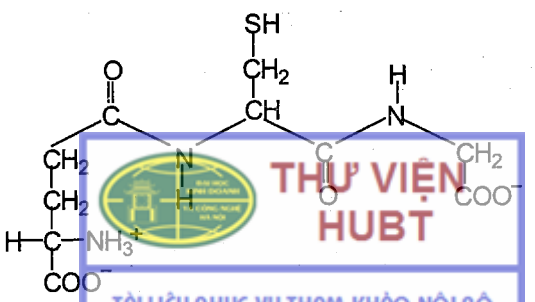


(e)



(f)





THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(g)

Hình 3.11. Một số peptid nhỏ có hoạt tính sinh học

(a) Bradikynin (b) Oxytocin (c) TRF (d) Encephalin
(e) Gramicidin (f) β -lipotropin (g) Glutathion

3. Protein

Protein ở người chứa khoảng 16% N theo trọng lượng, có từ 50.000 đến 100.000 protein khác nhau. Đó là những polypeptid có trọng lượng phân tử lớn, đóng vai trò quan trọng về chức năng và cấu trúc của tế bào. Phân tích protein trong máu và nước tiểu có liên quan đến các bệnh gan, thận, miễn dịch...

3.1. Phân loại protein

3.1.1. Theo chức năng sinh học

Dựa theo chức năng sinh học người ta có thể chia protein thành 7 loại:

– Enzym: là protein có tính đặc hiệu cao và có hoạt tính xúc tác. Trong cơ thể có hàng nghìn enzym khác nhau, mỗi enzym xúc tác cho một loại phản ứng hoá học nhất định.

– Protein vận chuyển: protein trong huyết tương có nhiệm vụ gắn và vận chuyển các phân tử hay ion từ cơ quan này tới cơ quan khác.

Ví dụ:

+ Hemoglobin của hồng cầu có vai trò gắn oxy ở phổi, sau đó vận chuyển tới các tổ chức ngoại biên để giải phóng oxy, tham gia vào quá trình oxy hoá thức ăn và cung cấp năng lượng cho cơ thể.
+ Albumin: vận chuyển bilirubin, acid béo...
+ Lipoprotein huyết tương tham gia vận chuyển lipid từ gan tới các cơ quan khác.
+ Protein vận chuyển ở màng huyết tương và màng trong tế bào có nhiệm vụ gắn và vận chuyển glucose, aa hay các chất khác qua màng.

– Protein dinh dưỡng và dự trữ:

+ Ferritin là protein dự trữ sắt ở một số tổ chức động vật, vi khuẩn và thực vật.
+ Ovalbumin (trong lòng trắng trứng) và casein (trong sữa) là những protein dinh dưỡng.

– Protein vận động (hay co thắt):

+ Actin và myosin giúp cho sự co cơ.
+ Tubulin và dinein hoạt động cùng với các lông mao của trùng roi (flagella) để di động tới các tế bào.

– Protein cấu tạo: có vai trò làm bền vững cấu trúc của tổ chức.

Ví dụ:

+ Collagen: là thành phần của gân và sụn. Ở da nó hầu như ở dưới dạng tinh khiết.
+ Elastin: là protein cấu tạo của dây chằng, có khả năng căng giãn theo 2 chiều.
+ Keratin: là protein rắn chắc, không tan, có ở tóc, móng và lông.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Protein bảo vệ: có khả năng chống lại sự xâm nhập của các loài khác hay bảo vệ cho cơ thể không bị tổn thương.

Ví dụ:

+ Immunoglobulin (Ig) là kháng thể do tế bào lympho sản xuất, giúp nhận dạng và ngưng kết (hay trung hoà) không cho các vi khuẩn, virus, protein lạ xâm nhập vào cơ thể.

+ Fibrinogen và thrombin là protein gây đông máu, cho phép ngăn chặn sự mất máu khi hệ thống mạch bị tổn thương.

– Protein điều hoà: có vai trò điều hoà hoạt động của tế bào và của cơ thể.

Ví dụ:

+ Hormon: trong điều hoà chuyển hoá protid, glucid, lipid, chuyển hoá muối nước...

+ Protein G (protein gắn GTP) là chất trung gian tham gia vào cơ chế hoạt động đáp ứng của tế bào đối với nhiều tín hiệu hormon.

+ Các gen điều hoà gắn vào ADN đóng vai trò điều hoà sinh tổng hợp enzym và các phân tử ARN tham gia vào quá trình phân chia tế bào.

3.1.2. Theo cấu tạo hoá học

Có thể chia thành 2 loại protein:

– Protein đơn giản: chỉ gồm aa hay các dẫn xuất của chúng.

Ví dụ:

+ Albumin của lòng trắng trứng, sữa, huyết thanh.

+ Globulin huyết thanh, trứng.

+ Keratin, collagen của các mô nâng đỡ.

+ Ribonuclease, chymotrypsinogen...

+ Protamin, histon trong nhân tế bào là những protein kiềm.

– Protein phức tạp (=protein liên hợp): trong thành phần của protein ngoài aa còn có một số chất không phải protein gọi là nhóm ngoại (nhóm prosthetic). Dựa vào cấu tạo của nhóm ngoại, có thể phân loại thành 7 lớp (bảng 3.7).

Bảng 3.7. *Các lớp protein phức tạp*

Lớp	Nhóm ngoại	Ví dụ
(1)	(2)	(3)
Lipoprotein	Lipid	β - lipoprotein huyết
Glycoprotein	Glucid	Immunoglobulin G, muxin
Phosphoprotein	Phosphat	Casein sữa

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Nucleoprotein	Acid nucleic	ADN, ARN
Hemoprotein*	Hem (ferroporphyrin)	Hemoglobin, cytocrom, catalase
Flavoprotein	Flavin nucleotid	Succinat dehydrogenase
Metalloprotein	Sắt	Ferritin, siderophilin
	Kẽm	Alcol dehydrogenase
	Calci	Calmodulin
	Molybden	Dinitrogenase
	Đồng	Plastocyanin (ceruloplasmin)

* Có thể xếp hemoprotein vào lớp metalloprotein vì trong thành phần có chứa sắt và còn được gọi là chromoprotein (protein mang màu).

3.1.3. Theo hình dạng

Có thể phân biệt 2 nhóm protein lớn dựa vào tỷ lệ trục chiều dài trên chiều ngang (F):

- Protein cầu: có F < 10 (thường không quá 3 - 4), gồm những protein đặc trưng bởi những chuỗi peptid gấp lại và cuộn chặt.

Ví dụ: insulin, albumin, globulin huyết tương và nhiều enzym.

- Protein sợi: có F > 10, được đặc trưng bởi các chuỗi hay nhóm chuỗi polypeptid xoắn lại thành sợi xoắn hay nhiều sợi xoắn nối với nhau bằng liên kết cộng trị hay liên kết hydro.

Ví dụ: keratin, myosin, collagen, fibrin.

3.2. Trọng lượng phân tử và cấu tạo của protein

- Nói chung các protein đều có trọng lượng phân tử trên 6000. Phần lớn các polypeptid trong tự nhiên chứa dưới 2000 gốc aa.

Protein có thể cấu tạo 1 chuỗi, 2 chuỗi hay nhiều chuỗi polypeptid. Trường hợp có nhiều chuỗi được gọi là protein multisubunit trong đó nếu các chuỗi giống nhau được gọi là protein oligomer bao gồm các tiểu đơn vị (subunit) có tên là protomer.

Ví dụ: hemoglobin có cấu tạo 4 chuỗi polypeptid bao gồm 2 chuỗi α và 2 chuỗi β.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 3.8. *Trọng lượng phân tử và cấu tạo acid amin của một số protein*

Tên	TLPT	Số gốc aa	Số chuỗi polypeptid
Insulin (bò)	5 733	51	2
Cytochrom c (người)	13 000	104	1
Ribonuclease A (tụy bò)	13 700	124	1
Lysozym (lòng trắng trứng)	13 930	129	1
Myoglobin (tụy bò)	21 600	241	3
Chymotrypsinogen (bò)	22 000	245	1
Hemoglobin (người)	64 500	574	4
Albumin (người)	68 500	~ 550	1
Hexokinase (men bia)	102 000	~ 800	2
Immunoglobulin G (người)	145 000	~1 320	4
ARN, polymerase (E. coli)	450 000	~ 4 100	5
Apolipoprotein B (người)	513 000	4 536	1
Glutamat dehydrogenase (gan bò)	1 000 000	~ 8 300	~ 40

Nếu biết trọng lượng phân tử (M) của protein (xác định bằng nhiều phương pháp: hoá học, đo áp lực thẩm thấu, độ nhớt, siêu ly tâm, sàng lọc phân tử) có thể tính gần đúng số gốc aa trong một phân tử protein đơn giản bằng công thức:

$$\text{Số gốc aa} \approx \frac{M}{110}$$

(110 là trọng lượng phân tử trung bình của mỗi aa trong phân tử protein)

– Mỗi protein có chứa các thành phần aa đặc trưng khác nhau (bảng 3.9). Người ta đã chứng minh mối liên quan chặt chẽ giữa trình tự sắp xếp các aa với chức năng sinh học của protein.

Bảng 3.9. *Số gốc acid amin trong 2 protein cytocrom và chymotrypsinogen*

Acid amin	Cytochrom người	Chymotrypsinogen bò
(1)	(2)	(3)
Ala	6	22
Arg	2	4
Asn	5	15
Asp	3	8
Cys	2	10
Gln	2	10
Glu	8	5

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Gly	13	23
His	3	2
Ile	8	10
Leu	6	19
Lys	18	14
Met	3	2
Phe	3	6
Pro	4	9
Ser	2	28
Thr	7	23
Trp	1	8
Tyr	5	4
Val	3	23
Tổng cộng	**104**	**245**

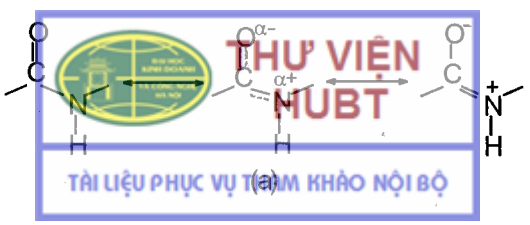
Trên thực tế có trên 1400 bệnh di truyền ở người liên quan đến sự tổng hợp sai lệch của protein.

3.3. Cấu trúc 3 chiều của protein

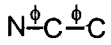
3.3.1. Các liên kết trong phân tử protein

Mọi protein đều có một cấu trúc không gian nhất định phản ánh chức năng riêng của mỗi protein. Đó là cấu trúc bền vững do tương tác của 2 loại liên kết mạnh (liên kết peptid và disulfur) và 3 loại liên kết yếu (liên kết hydro, tương tác giữa các nhóm kỵ nước và liên kết tĩnh điện hay liên kết muối), giúp cho protein được ổn định về nhiệt động học.

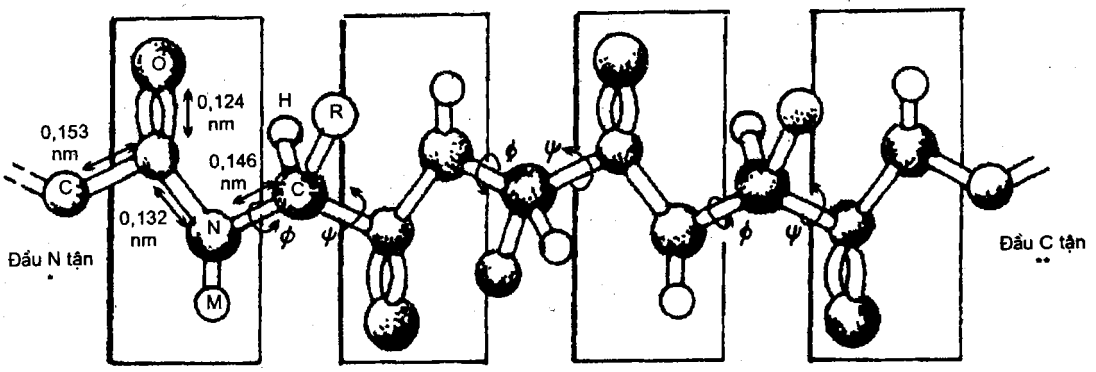
– *Liên kết peptid*: là liên kết bắt buộc trong cấu trúc của protein, được đặc trưng bởi một liên kết đôi giữ ổn định cấu hình mặt phẳng, cản trở hiện tượng chuyển quay của nhóm amid (hình 3.12a). Liên kết N - C_α và C_α - C có thể quay theo các góc liên kết Φ (phi) và ψ (psi) (hình 3.12b). Hình dạng của chuỗi peptid được xác định hoàn toàn bởi 2 góc liên kết này:



(a)



(b)



Hình 3.12. Liên kết peptid trong cấu trúc không gian của protein

*: Đầu amin tận

** : Đầu carboxy tận

– *Liên kết disulfur*: được tạo thành giữa 2 gốc cystein trong một chuỗi polypeptid hay thuộc 2 chuỗi khác nhau. Liên kết này tương đối bền vững trong những điều kiện gây biến tính thông thường của peptid. Acid performic (oxy hoá liên kết S -S) hay β - mercaptoetanol (khử liên kết S - S) được sử dụng để tách chuỗi polypeptid nối bởi các liên kết disulfur mà không ảnh hưởng đến cấu trúc trình tự aa của chúng.

– *Liên kết hydro:* được tạo thành giữa các chuỗi nhánh của những aa tạo peptid, giữa hydro và oxy của bản thân các liên kết peptid và giữa các gốc phân cực (ở bề mặt của protein) với nước. Tất cả đều đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì cấu trúc của protein.

– *Tương tác giữa các nhóm kỵ nước:* những chuỗi nhánh không phân cực của các aa có xu hướng kết hợp với nhau trong protein tuy không có tính chất hoá lập thể nhưng cũng tạo thành liên kết thật sự bởi các lực Vander Walls.

Những tương tác này cũng góp phần duy trì cấu trúc của protein.

– *Liên kết tĩnh điện* (còn gọi là liên kết ion hay liên kết muối) được tạo thành giữa các nhóm mang điện trái dấu trong các chuỗi nhánh của aa.

Ví dụ nhóm ε - NH_2 của Lys mang điện tích +1 ở pH sinh lý và nhóm carboxyl không ở vị trí α của Asp và Glu mang điện tích -1 có thể tác động bằng liên kết tĩnh điện để ổn định cấu trúc của protein.

Trong quá trình gây biến tính protein (bằng urê, dodecyl sulfat Na[SDS], acid yếu hay base yếu), các liên kết hydro, kỵ nước và liên kết tĩnh điện đều bị phá vỡ, riêng liên kết peptid vẫn được ổn định.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3.2. Các bậc cấu trúc của protein

Protein có 4 bậc cấu trúc:

♦ *Cấu trúc bậc I*: là số lượng và trình tự của aa cũng như vị trí của các cầu disulfur trong phân tử protein.

Ví dụ:

+ Insulin bò có 2 chuỗi polypeptid gồm 51 aa và 3 cầu disulfur (hình 3.13). Insulin của các loài chỉ khác nhau ở các aa từ vị trí 8-10.

+ Ribonuclease chỉ có 1 chuỗi polypeptid gồm 124 aa và 4 cầu disulfur.

+ Hemoglobin có 4 chuỗi polypeptid gồm 2 chuỗi α, mỗi chuỗi chứa 141 aa và 2 chuỗi β, mỗi chuỗi chứa 146 aa.

Ngoài liên kết disulfur, các chuỗi trong phân tử protein còn có thể nối với nhau bằng các liên kết hydro hay liên kết ion.

Trình tự của aa trong chuỗi polypeptid quyết định cấu trúc không gian của chuỗi, đồng thời quyết định tính chất sinh học của protein.

♦ *Cấu trúc bậc II*: là chỉ mối quan hệ không gian của các aa đứng cạnh nhau trong từng đoạn của một chuỗi polypeptid.

Pauling và Corey (1951) đã đưa ra 2 loại: cấu dạng xoắn α (α helix) và cấu dạng gấp nếp β.

– Cấu dạng xoắn α là điển hình cho cấu trúc của α - keratin (hình 3.14) có khoảng cách một chu kỳ xoắn là 0,54nm (gồm 3,6 gốc aa). Các nhóm R của nguyên tử carbon α đều chĩa ra ngoài trung tâm xoắn (hình 3.15).

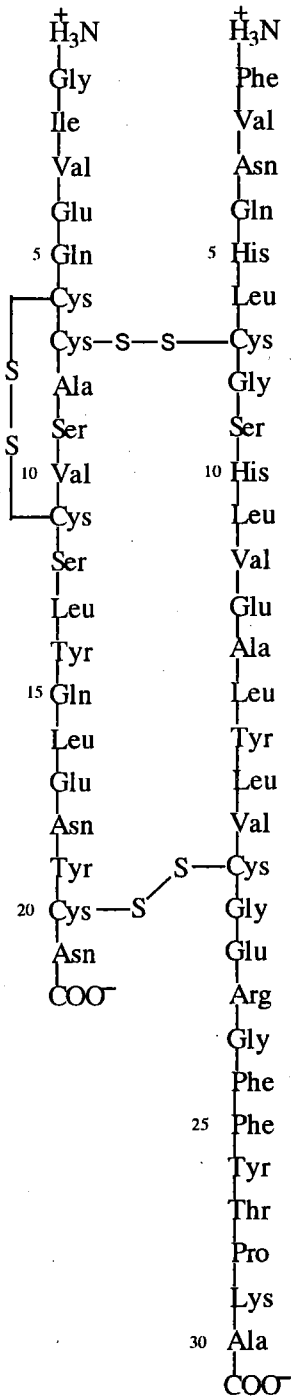
Cấu dạng xoắn α (hình 3.16) có những đặc điểm quan trọng sau đây:

+ Cấu trúc bền vững nhờ có các liên kết hydro tạo ra giữa H của nhóm NH của mỗi liên kết peptid với O của nhóm CO thuộc gốc aa thứ 4 trong chuỗi. Như vậy mỗi liên kết peptid đều góp phần tạo sự bền vững tối đa cho phân tử protein.

+ Liên kết hydro nói trên làm giảm tính chất ưa nước (tăng tính chất kỵ nước) của vùng xoắn α.

+ Là cấu dạng bền vững nhất của chuỗi polypeptid do có thể tạo xoắn α một cách tự nhiên mà không cần nhiều năng lượng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ CHO KHÁCH NỘI BỘ

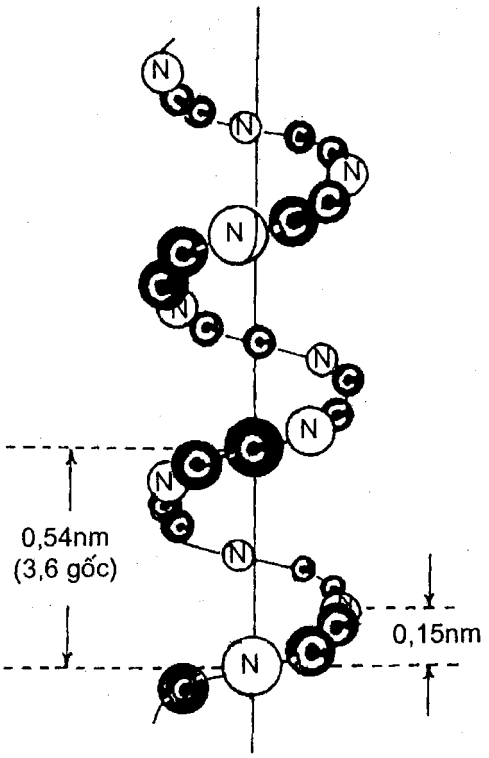


Hình 3.13. Trình tự acid amin của 2 chuỗi insulin bò (F.Sanger. 1953)

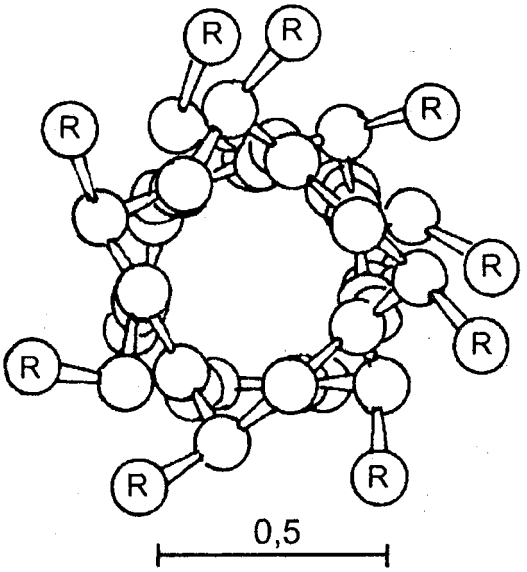
+ Các α-helix thường gặp trong protein có chiều xoắn phải, bền vững hơn nhiều so với chiều xoắn trái.

Một số aa có xu hướng phá vỡ xoắn α. Ví dụ: prolin (có nguyên tử N nằm trong cấu trúc vòng không thể xoay xung quanh liên kết N - C), các aa có nhóm R mang điện tích quá cồng kềnh. Những aa này có ảnh hưởng về mặt vật lý hay về mặt tĩnh điện đối với sự tạo thành cấu trúc xoắn.

Myoglobin và hemoglobin có cấu trúc chủ yếu là xoắn α. Cũng có thể gặp trường hợp 2 hay nhiều cuộn xoắn α bện với nhau thành một cuộn giống dây cáp như: keratin của tóc, myosin và tropomyosin ở cơ, epidermin ở da và fibrin trong cục máu đông.



Hình 3.14. Khung chuỗi α - helix có chu kỳ xoắn phải của α keratin



Hình 3.15. Chuỗi α - helix nhìn dọc theo trục

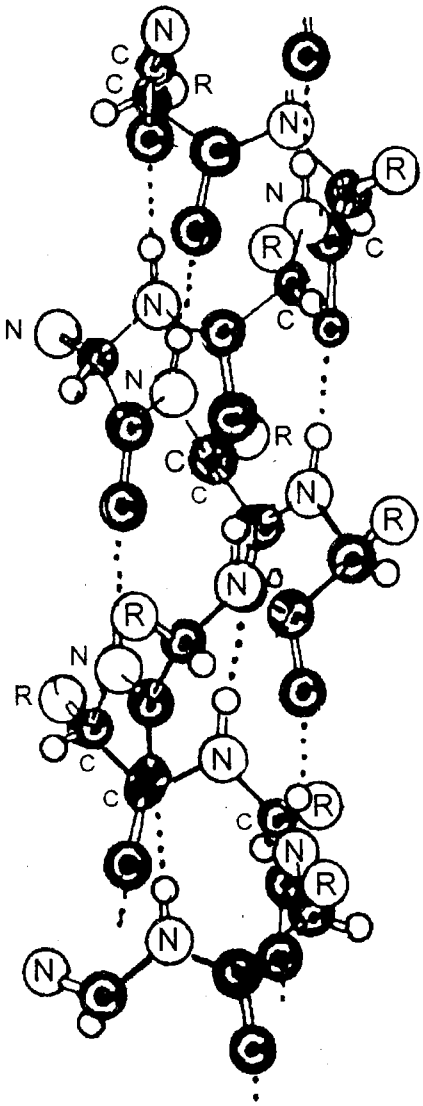
– Cấu dạng gấp nếp β: là điển hình cho cấu trúc của β - keratin. Nó có hình dáng giống như một tờ giấy gấp nếp và hầu như hoàn toàn duỗi thẳng hình dích dắc (không bị cuộn lại như cấu dạng xoắn α) (hình 3.17).

Trong cấu dạng nếp gấp β:

+ Các chuỗi polypeptid cạnh nhau có thể song song (có cùng hướng từ N - tận đến C - tận - hình 3.17b) hay đối song (hướng ngược nhau) (hình 3.17a).

Hai cấu trúc polypeptid này giống nhau mặc dù độ dài lặp lại trong cấu trúc song song ngắn hơn (0,65nm so với 0,70nm trong cấu trúc đối song).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 3.16. Cấu dạng α - helix của protein

+ Khoảng cách giữa các aa cạnh nhau theo đường trục là 0,35nm (trong cấu dạng xoắn α là 0,15nm) (hình 3.17c).

+ Các liên kết hydro tạo bởi các nhóm - NH - và - CO - có thể nằm trong cùng một chuỗi nhưng cách xa nhau hay giữa các chuỗi polypeptid khác nhau.

+ Các gốc R của aa cạnh nhau nằm ở những vị trí gấp khúc dích - dắc (hình 3.17c).

+ Cấu trúc khuỷu β:

Ngoài 2 cấu dạng quan trọng nói trên còn có một cấu trúc lặp lại đều đặn khác nhưng chỉ tìm thấy trong một hay vài protein đặc biệt. Đó là cấu trúc "khuỷu β" hay cấu trúc "uốn cong β" (hình 3.18a), thường gặp khi một chuỗi polypetid thay đổi hướng một cách đột ngột do nối đầu tận của 2 đoạn cạnh nhau của cấu trúc nếp gấp β đối song, làm thành một đầu khuỷu như tên gọi. Cấu trúc này gồm 4 aa, các nhóm peptid đi với aa thứ nhất liên kết hydro với nhóm peptid đi với aa thứ tư.

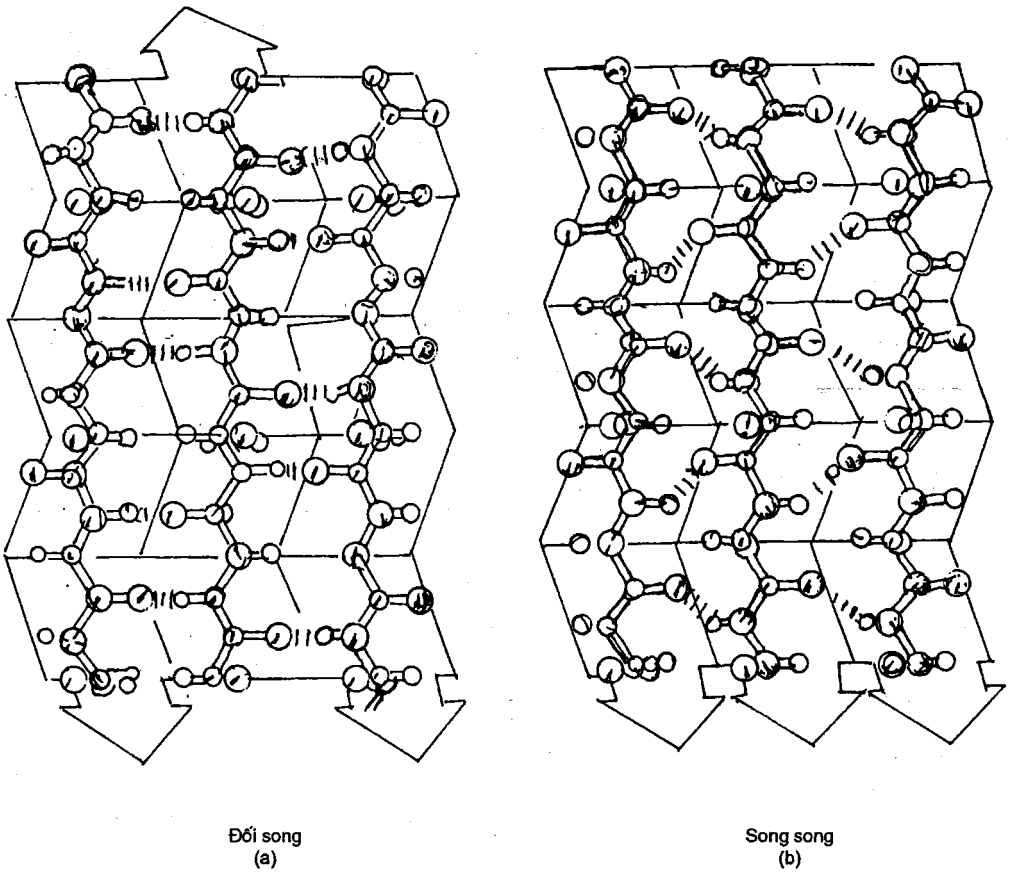
Gly và Pro thường xuất hiện trong cấu trúc này. Đó là vì Gly nhỏ, dễ uốn, còn Pro có N (imin) đảm nhiệm dễ dàng cấu hình cis (hình 3.18b) thích ứng với sự tạo thành cấu trúc này.

Cấu trúc "khuỷu β" thường tìm thấy ở gần bề mặt của protein.

+ Cấu trúc xoắn nhiều sợi: cấu trúc của collagen.

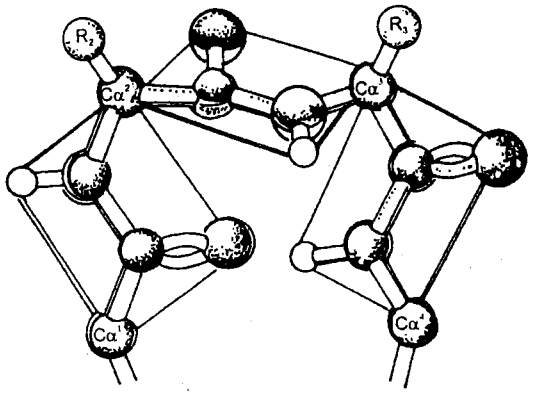
Trong sợi protein ngoài keratin, collagen cũng chỉ có một dạng cấu trúc bậc II đơn giản chiếm ưu thế (hình 3.19).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

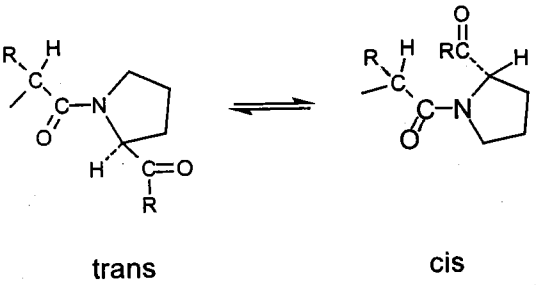


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 3.17. Cấu dạng β của chuỗi polypeptid

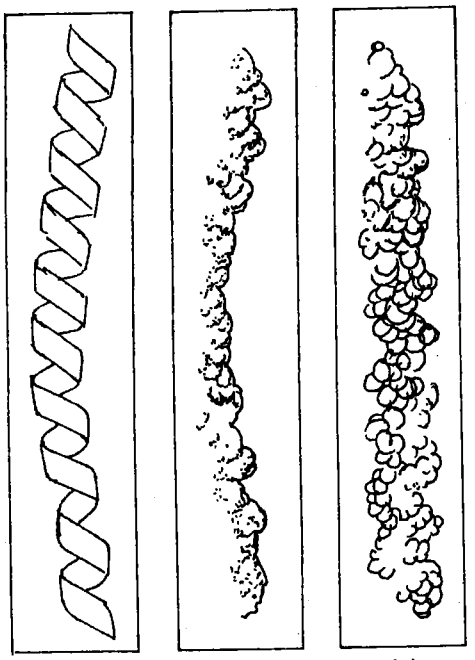


(a)



(b)

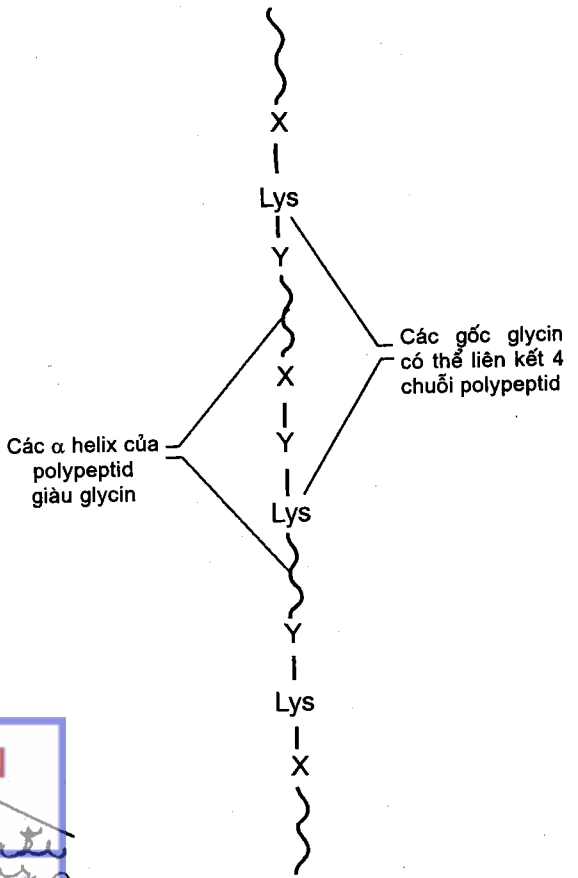
Hình 3.18. a. Cấu trúc "khuỷu β";
b. Các đồng phân trans và cis của liên kết peptid với prolin



Hình 3.19. Cấu trúc của collagen



Hình 3.20. Một đoạn của tropocollagen



Hình 3.21. Cấu trúc của elastin

THƯ VIỆN HUBT

Cấu trúc lặp lại dùng để tạo mô hình xoắn có chu kỳ quay trái là Gly - Hyp - Pro (hình 3.19a). Hình 3.19b là mô hình đặc có cấu trúc xoắn của collagen. Phân tử có 3 sợi xoắn có chu kỳ quay phải mang tên là tropocollagen (hình 3.19c và 3.20).

Trong cấu trúc của collagen các chuỗi polypeptid xoắn lại nhiều vòng thành dây thừng rồi kết lại với nhau làm thành những bó lớn bền vững. Collagen có trong tổ chức liên kết như gân, sụn, matrix hữu cơ của xương và giác mạc của mắt. Gelatin dùng trong thực phẩm chính là chất có nguồn gốc từ collagen.

– *Cấu trúc kéo căng của elastin*

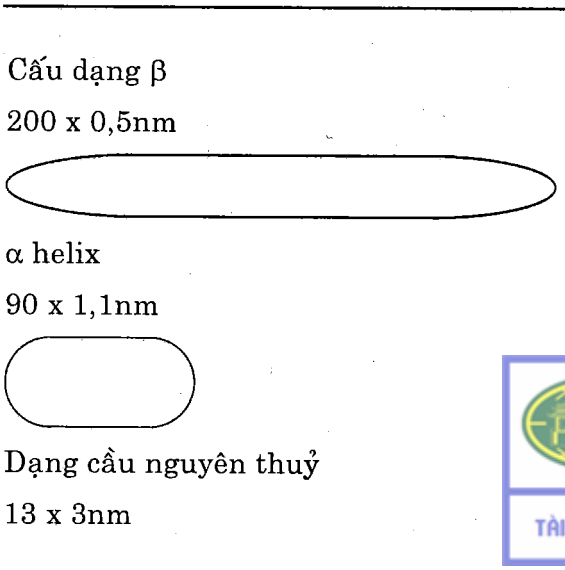
Mặc dù elastin có một số tính chất giống collagen nhưng chuỗi polypeptid của nó lại cho phép kéo căng ra (hình 3.21). Các helix α của elastin là polypeptid có nhiều gốc glycin. Các gốc lysin là những tiền chất của desmosin có thể liên kết 4 chuỗi polypeptid với nhau.

♦ *Cấu trúc bậc III:* là cấu dạng 3 chiều của toàn bộ chuỗi polypeptid.

Nếu thông thường các protein sợi chỉ có một dạng cấu trúc bậc II thì các protein cầu lại có thể kết hợp nhiều dạng cấu trúc bậc II trong cùng một phân tử.

Protein cầu bao gồm các enzym, protein vận chuyển, một số hormon peptid và immunoglobulin. Chúng có cấu trúc cuộn dầy đặc hơn nhiều so với các cấu dạng α hay β. Ví dụ:

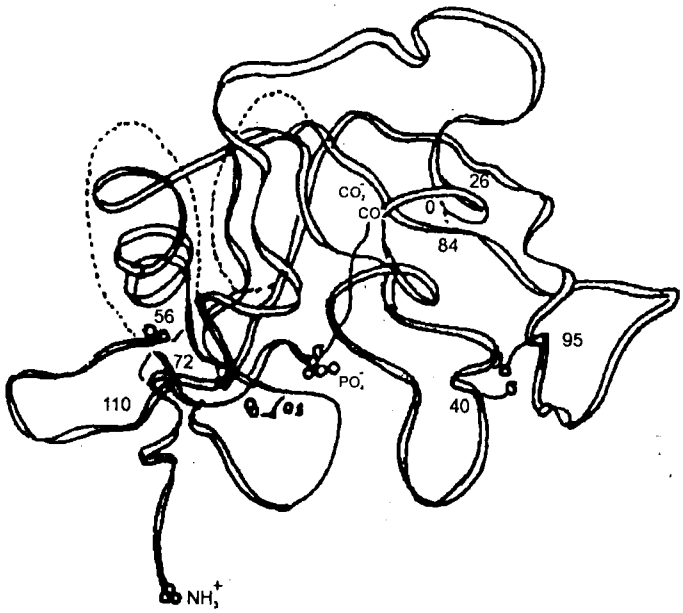
– Albumin huyết thanh bò (hình 3.22) cho thấy những kích thước khác nhau nếu chuỗi polypeptid duy nhất này (M = 64.500; 548 aa) có thể hoàn toàn ở dưới dạng β hay xoắn α.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

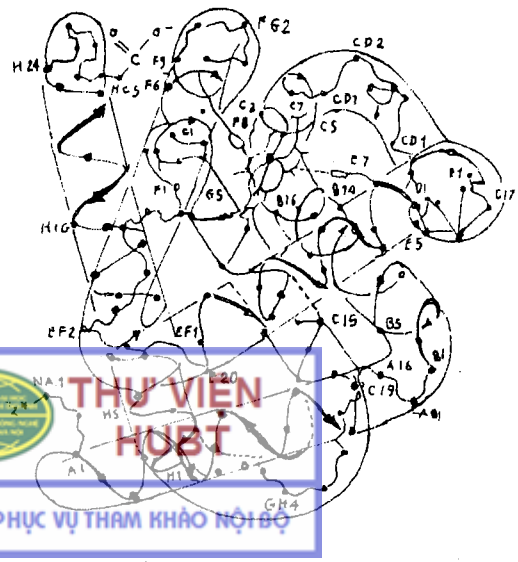
Hình 3.22. So sánh kích thước của albumin huyết thanh bò ở các dạng β, xoắn α và dạng cầu nguyên thuỷ

– Ribonuclease (hình 3.23): gồm cả hai cấu dạng β và xoắn α. Những phần khác của phân tử thì cuộn lại một cách ngẫu nhiên. Những vùng này cũng có chức năng sinh học quan trọng như các vùng xoắn và gấp nếp.



Hình 3.23. Các dạng β và xoắn α trong chuỗi ribonuclease của tụy bò

– Myoglobin: là một polypeptid đơn giản gồm 153 aa gắn với một phân tử Hem. Phần polypeptid (globin) có cấu trúc bậc III xác định (John Kendrew 1950) gồm 8 đoạn xoắn α (hình 3.24), ký hiệu từ A đến H và những khuỷu nối AB, CD,... Hem được gắn vào một khoảng rỗng phần lớn từ E đến F qua 2 gốc His phân cực.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 3.24. Cấu trúc của myoglobin

Phân tích bằng tia X, người ta đã chứng minh cấu trúc bậc II tham gia vào quá trình cuộn lại tạo cấu trúc bậc III trong chuỗi polypeptid của protein cầu. Cấu trúc này được ổn định nhờ các tương tác yếu, đặc biệt là tương tác kỵ nước của các nhánh aa không phân cực trong trung tâm dầy đặc của protein. Mỗi protein cầu có cấu trúc bậc III khác nhau tương ứng với chức năng sinh học riêng biểu hiện ở tỷ lệ phần trăm cấu dạng α và β (bảng 3.10)

***Bảng 3.10**. Tỷ lệ acid amin trong các đoạn có cấu dạng α và β của một số protein có cấu tạo một chuỗi*

Protein (số aa)	Số aa (%)	
	α helix	Cấu dạng β
Myoglobin (153)	78	0
Cytochrom c (104)	39	0
Lysozym (129)	40	12
Ribonuclease (124)	26	35
Chymotrypsin (247)	14	45
Carboxypeptidase (307)	38	17

♦ *Cấu trúc bậc IV:* là chỉ mối quan hệ trong không gian của nhiều chuỗi polypeptid (hay các tiểu đơn vị của các protein oligomer) kết hợp chặt chẽ với nhau.

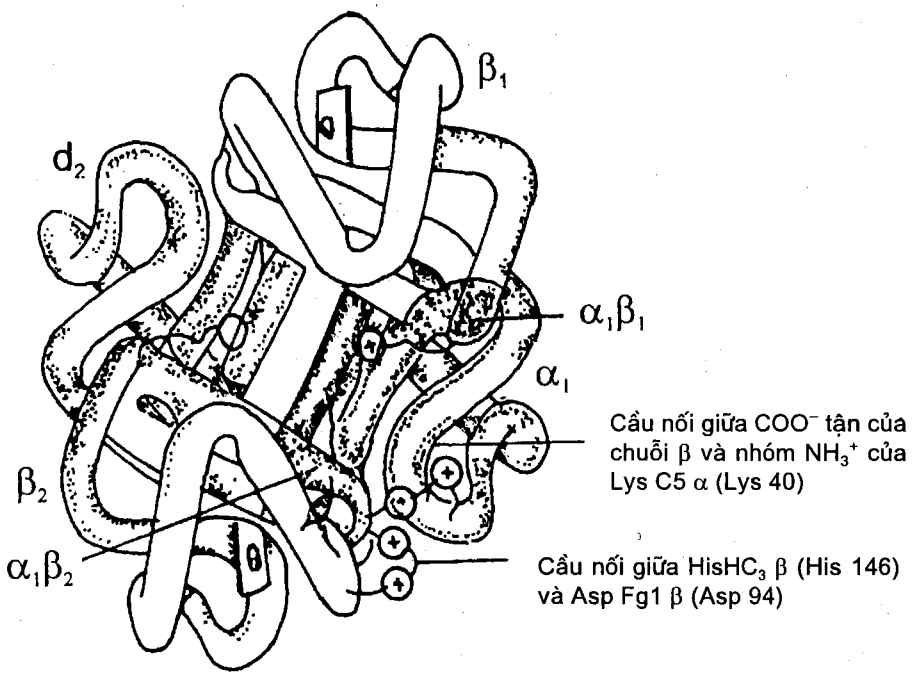
Ví dụ:

+ Hemoglobin (Hb) (M = 64.500) là một protein tetramer chứa 4 nhóm ngoại hem gắn vào một chuỗi polypeptid (globin) đã được xác định cấu trúc bậc I. Cấu trúc không gian của Hb (M. Perutz, J. Kendrew 1959) cho thấy mỗi tiểu đơn vị của nó có cấu trúc bậc III, rất giống với cấu trúc của myoglobin. Cấu trúc bậc IV của Hb được đặc trưng bởi:

– Những tương tác mạnh giữa các tiểu đơn vị với nhau (hình 3.25). Mặt phân giới $\alpha_1 \beta_1$ (và $\alpha_2 \beta_2$) gồm trên 30 aa đủ mạnh để cho Hb không bị phân ly thành các dimer αβ dưới tác dụng của urê, còn mặt phân giới $\alpha_2 \beta_2$ gồm 19 aa.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Những tương tác kỵ nước chiếm ưu thế.
+ Nhiều liên kết hydro.
+ Một số liên kết ion (các cầu nối).



Hình 3.25. Cấu trúc của hemoglobin

– Nhiều protein có cấu trúc phức tạp hơn (ARN polymerase, aspartat trans carbamoylase - 12 chuỗi) hay cực kỳ phức tạp (pyruvat dehydrogenase của mitochondri do ngưng tụ của 3 enzym chứa tổng cộng 102 chuỗi polypeptid).

Những tương tác trung gian chứa các tiểu đơn vị cũng như những biến đổi về cấu dạng của từng tiểu đơn vị có liên quan đến tác dụng của mỗi protein.

3.4. Tính chất của protein

3.4.1. Tính chất lưỡng tính

Protein chứa các gốc aa acid (Glu, Asp) mang điện (-) và các gốc aa kiềm (Lys, Arg, His) mang điện (+). Điện tích của protein phụ thuộc vào pH của môi trường. Ở pHi protein tồn tại dưới dạng ion lưỡng tính, trung hoà về điện và không di chuyển trong điện trường. Mỗi protein có một pHi đặc trưng (pepsin < 1; albumin huyết thanh 4,9; hemoglobin 6,8...).

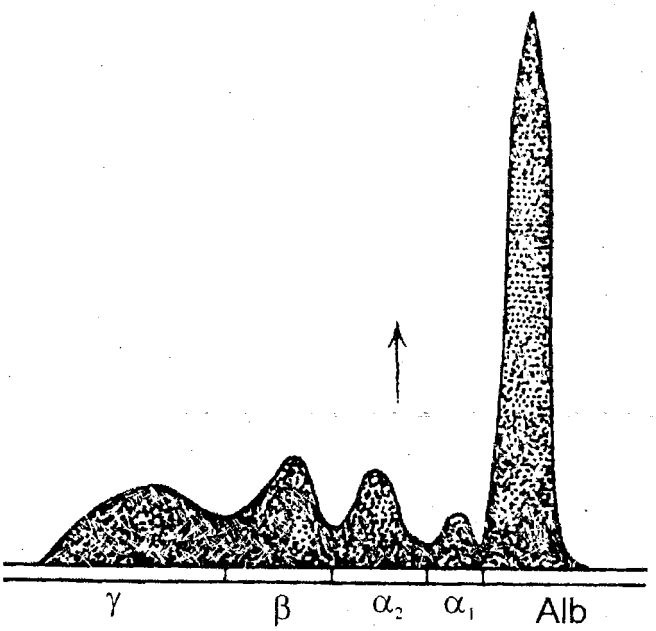
Tính chất này được áp dụng để điện di protein trong huyết thanh (hình 3.26).

Protid toàn phần 72g/l

A/G: 1,39

Tên	%	g/L	Giới hạn % bình thường	g/L
Albumin	58.1	49.1	61-69	33.5-52
Alpha1	3.5	2.5	1-4	0.5-3
Alpha 2	9.1	6.5	6-10	3.3-7.5
Beta	12.5	9.0	7-13	3.8-9.8
Gamma	16.8	12.1	11-18	6-13.5

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 3.26. Điện di đồ protein huyết thanh bình thường (giá trị tham khảo)

3.4.2. Tính chất hoà tan và kết tủa

– Phần lớn protein hoà tan trong dung dịch muối loãng. Protein dạng sợi thường tan trong dung dịch muối đậm đặc hơn. Albumin tan được cả trong nước.

Trong nước protein tồn tại dưới dạng keo, khuếch tán chậm, không đi qua được màng bán thấm. Ở trạng thái keo protein tồn tại được là nhờ có:

+ Lớp áo nước bao quanh các tiểu phân protein và ngăn cách chúng.

+ Các protein mang điện tích cùng dấu nên đẩy nhau.

– Khi làm mất 2 yếu tố hoà tan trên (làm mất lớp áo nước và trung hoà điện tích), protein sẽ tích tụ lại và gây tủa. Có nhiều tác nhân gây tủa protein:

+ pH của môi trường (đưa về pHi)

+ Lực ion (nồng độ muối $(NH_4)_2SO_4$ hay NaCl)

+ Nhiệt độ

+ Dung môi hữu cơ

Tuỳ theo từng mục đích kết tủa protein (khử tạp protein hay điều chế thuốc) cần phải lựa chọn những phương pháp kết tủa khác nhau (thuận nghịch hay không thuận nghịch) cho phù hợp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.4.4. Tính chất biến tính

Sự biến tính protein là hiện tượng biến đổi gây phá hủy hoàn toàn cấu trúc không gian (các liên kết bên trong phân tử trừ liên kết peptid) và làm giảm hay mất những tính chất ban đầu của protein (tính chất lý hoá, độ tan và tính chất sinh học).

Ví dụ:

- Albumin trứng bị đông vón ở nhiệt độ cao và không thể hoà tan trở lại khi làm lạnh.
- Enzym bị mất hoạt tính do ảnh hưởng của nhiệt độ, pH hay protease.

Như vậy rõ ràng cấu trúc bậc II, III, IV đặc hiệu của một protein là rất quan trọng đối với chức năng sinh học của nó.

Những tác nhân gây biến tính protein có thể là: nhiệt độ, pH (acid và kiềm mạnh), muối kim loại nặng (Ag, Pb, Hg...), một số dung môi hữu cơ (alcol, aceton), một số chất tan như urê, các chất tẩy. Các yếu tố vật lý (nhiệt độ, áp suất, tia UV...) cũng gây biến tính protein.

Trong những điều kiện nhất định, protein bị biến tính có thể trở về trạng thái ban đầu tuỳ theo mức độ. Hiện tượng đó được gọi là sự biến tính thuận nghịch.

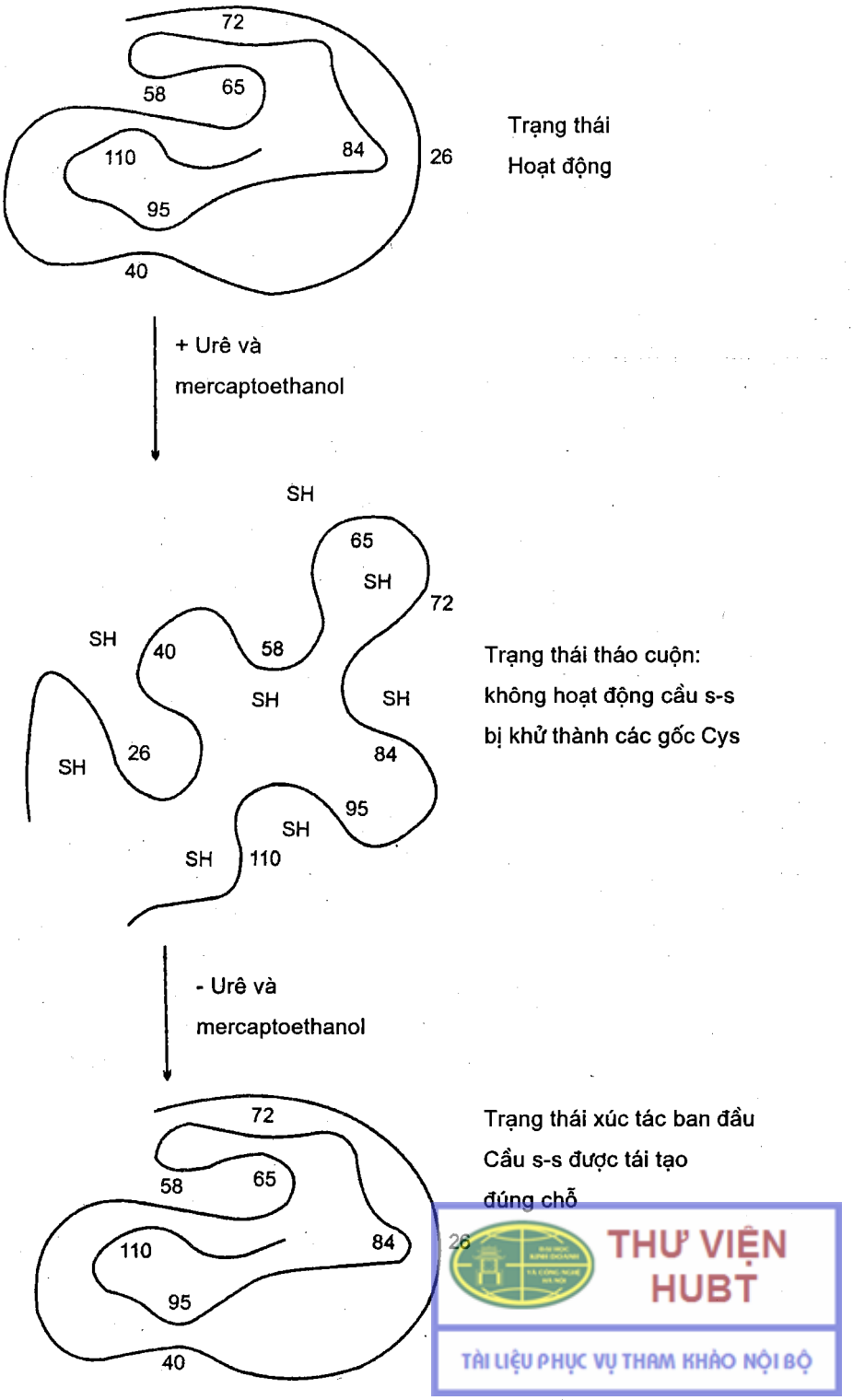
Ví dụ: ribonuclease (hình 3.27) gồm 124 gốc aa, chuỗi polypeptid có 4 liên kết disulfur. Dưới tác dụng của urê và mercapto ethanol, ribonuclease bị "tháo cuộn" mất hoạt tính. Các cầu disulfur bị khử thành các gốc Cys; nếu loại trừ urê và mercapto ethanol ra khỏi môi trường bằng thẩm tích và oxy hoá trở lại bằng O_2 thì ribonuclease sẽ trở lại trạng thái xúc tác ban đầu, cầu disulfur lại được tái tạo đúng chỗ.

3.5. Các phương pháp nghiên cứu và phân tích protein

– Phương pháp chiết xuất và tinh chế protein: protein trong tế bào được đồng thể hoá (homogenation) và có thể phân đoạn bằng siêu ly tâm (ultracentrifugation), sau đó chọn các phương pháp tách chiết protein (kết quả, sắc ký trao đổi ion, sắc ký lọc gel, sắc ký áp lực..).

– Phương pháp phân tích và xác định protein: thành phần, mức độ tinh sạch và một số tính chất của các protein được xác định bằng phương pháp điện di (trên giấy, trên gel polyacrelamid), phản ứng miễn dịch (ELISA - Enzym Linked Immuno Sorbant Assay, Western blof...), hoá miễn dịch tế bào ...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 3.27. Sự biến tính thuận nghịch của ribonuclease

Chương 4

PROTEIN LIÊN HỢP HEMOGLOBIN VÀ ACID NUCLEIC

MỤC TIÊU

1. *Vẽ và trình bày được cấu trúc, tính chất và vai trò sinh học của hemoglobin và acid nucleic.*
2. *Giải thích được cơ chế phân tử của một số bệnh di truyền cũng như cơ chế tác dụng của nhiều thuốc liên quan đến nhiễm khuẩn và ung thư.*

1. Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) có trong hồng cầu của động vật cao cấp. Hồng cầu người chứa khoảng 34% Hb, tương ứng với 15g % trong máu.

Hb là một protein tạp có nhóm ngoại là hem (trong nhóm hemoprotein). Hem chứa trong phân tử một nguyên tử sắt (Fe II) liên kết phối trí với một porphyrin, vì vậy Hb còn được xếp vào nhóm metalloprotein hay chromoprotein.

Người ta cũng gọi Hb là những protein gắn oxy. Những chất có khả năng gắn với protein có tên là "ligand".

Hai chức năng chính của Hb là:

- Vận chuyển O_2 từ phổi đến các tổ chức ngoại biên.
- Vận chuyển CO_2 và proton từ tổ chức tới phổi để đào thải ra ngoài.

1.1. Cấu tạo hoá học và cấu trúc của Hb

Hb (M = 64.500) là một protein tetramer có 4 tiểu đơn vị (subunit) gồm 4 Hem kết hợp với 4 chuỗi polypeptid giống nhau từng đôi một, 2 chuỗi α và 2 chuỗi β (ký hiệu là $\alpha_2\beta_2$), còn gọi là HbA (A: Adult - Hb của người trưởng thành). Ở người bình thường còn có loại HbA_2 chỉ chiếm 3% tổng số Hb (ký hiệu là $\alpha_2\delta_2$). Thời kỳ bào thai HbF (F = Foetus) (ký hiệu $\alpha_2\gamma_2$) chiếm 80% sau đó giảm dần, đến 1 tuổi chỉ còn 0,5%.

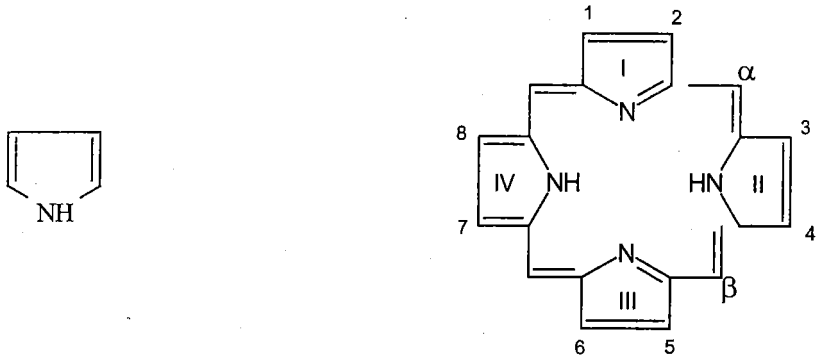
1.1.1. Hem

Trong tự nhiên thường gặp một số porphyrin như: protoporphyrin IX, uroporphyrin I, uroporphyrin III, coproporphyrin I, coproporphyrin III...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Porphyrin là dẫn xuất của porphin (hình 4.1a) gồm 4 vòng pyrol liên kết với nhau bằng 4 cầu metenyl (-CH=) (các vòng, vị trí thế trên vòng pyrol và các cầu metenyl được đánh số và ký hiệu như trong hình).

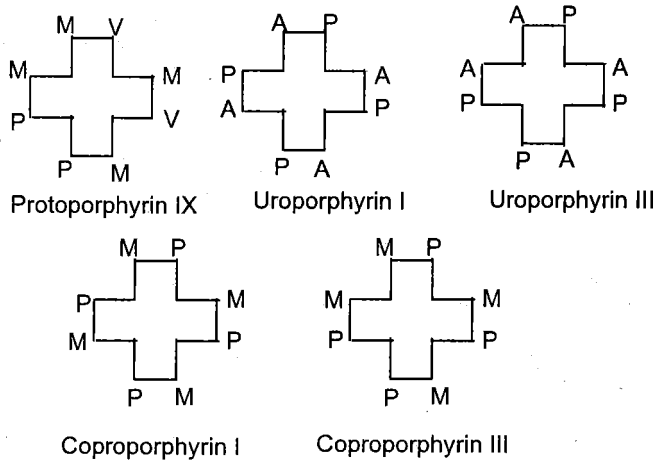
Các nhóm thế có ký hiệu: M (Metyl - CH_3), E (Etyl - CH_2 - CH_3), V (Vinyl - $CH = CH_2$), A (Acetyl - CH_2 - COOH), P (Propionyl - CH_2 - CH_2 - COOH).



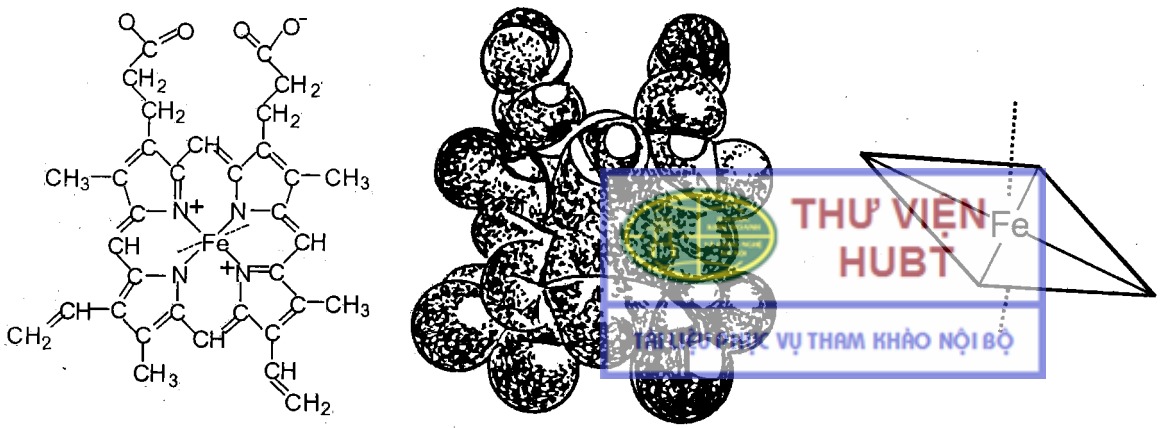
(a) (b)

Hình 4.1 (a) pyrol; (b) nhân porphyrin

Hình 4.2. Là khung viết tắt của một số porphyrin gặp trong tự nhiên



Hình 4.2. Một số porphyrin



(a) (b) (c)

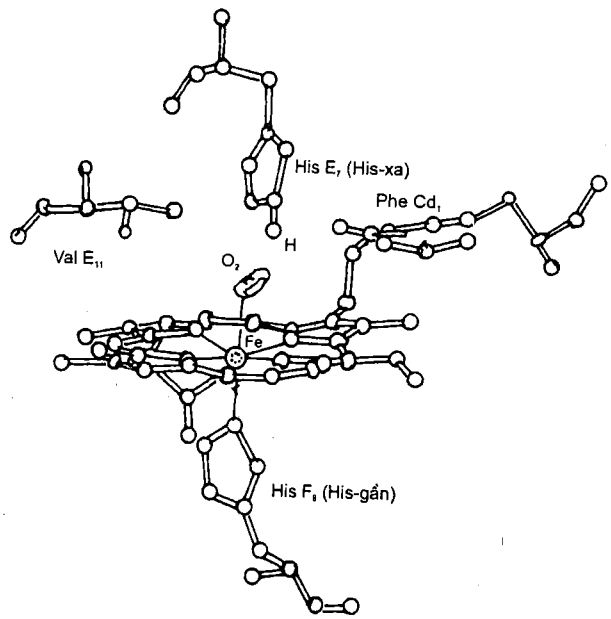
Hình 4.3. (a), (b): Hem (c); 6 liên kết phối trí của Fe trong hem

THƯ VIỆN HUBT
PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hem là dẫn xuất của proto porphyrin IX gắn với sắt (Fe II) (hình 4.3). Fe II nằm ở trung tâm của hem và có thể có 6 liên kết phối trí (hình 4.3.d):

- 4 liên kết nằm trên mặt phẳng và gắn với 4N trên mặt của hệ thống vòng porphin.
- 2 liên kết nằm trên trục vuông góc với mặt phẳng nói trên, trong đó có:
  + 1 liên kết gắn với His ở đoạn xoắn F8 của mỗi chuỗi (gọi là gốc His gần) cách mặt phẳng porphyrin 0,02nm (hình 4.4).
  + 1 liên kết gắn với oxy. Nếu Hb không kết hợp với O_2 (deoxyhemoglobin) thì vị trí này sẽ gắn với một His khác ở đoạn xoắn E7 của mỗi chuỗi (gọi là gốc His xa).

Cấu trúc của tiểu đơn vị của Hb giống hoàn toàn với myoglobin là protein gắn oxy chỉ có một chuỗi polypeptid.



Hình 4.4. Các liên kết của Fe trong hemoglobin (hình ảnh không gian)

1.1.2. Globin

Là protein gồm 4 chuỗi polypeptid có cấu trúc bậc I xác định: phần globin trong HbA gồm 2 chuỗi α (mỗi chuỗi có 141 aa) và 2 chuỗi β (mỗi chuỗi có 146 aa). Cấu trúc bậc III là cấu trúc cuộn trong đó dạng xoắn α chiếm 80% các chuỗi polypeptid. Cấu trúc bậc IV đã nêu ở phần protein.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phân tích bằng tia X người ta đã chứng minh Hb có 2 trạng thái chính:

- Trạng thái R (Relaxed - giãn) có cấu dạng Hb gắn O_2 (oxyhemoglobin) chiếm ưu thế; là trạng thái có ái lực mạnh đối với O_2.

– Trạng thái T (Tense - căng) là trạng thái có ái lực yếu hơn nhiều đối với O_2 và có cấu dạng deoxyhemoglobin, 4 chuỗi polypeptid liên kết với nhau bằng các cầu muối (hình 4.5) giữa:

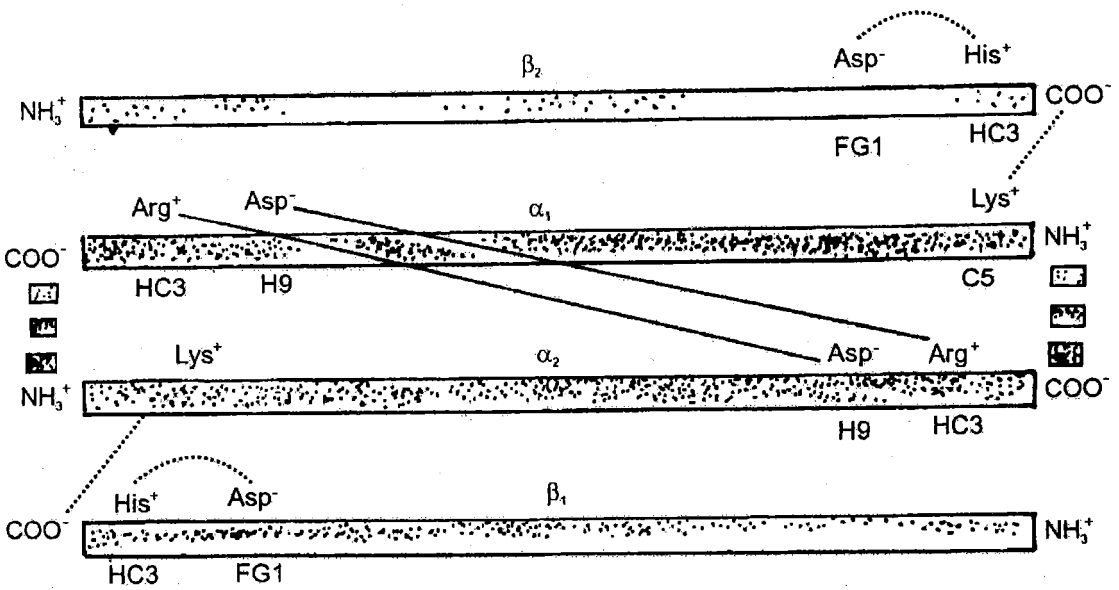
. Nhóm C - tận của chuỗi (α_1) hay (α_2) với nhóm N - tận (α_2) hay (α_1).

. Gốc $Arg^+_{(4)}$ (α_1) hay (α_2) với gốc $Asp_{(126)}$ (α_2) hay (α_1) .

. Nhóm C - tận (β_1) hay (β_2) với gốc $Lys^+_{(40)}$ (α_2) hay (α_1) .

. Nhóm C - tận của His^+ với gốc $Asp_{(94)}$ trên cùng chuỗi (β_2) hay (β_1).

Như vậy nếu không gắn O_2 thì trạng thái T của deoxyhemoglobin sẽ bền vững hơn trạng thái R nhờ có 8 cầu muối này (trong oxyhemoglobin không thấy có).



Hình 4.5. Các cầu nối có tác dụng ổn định trạng thái T của deoxyhemoglobin

Đặc tính chủng loại của Hb do phần globin quyết định. Ba loại Hb bình thường đã nêu ở trên (A, A_2 và F) chỉ khác nhau ở đoạn xoắn F của Hb (hình 4.6).

Vị trí xoắn	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6	F_7	F_8	F_9
HbA (β)	Phe -	Ala -	Thr -	Leu -	Ser -	Glu -	Leu -	His -	Cys
HbA_2 (δ)	Phe -	Ser -	Gln -	Leu -	Ser -	Glu -	Leu -	His -	Cys
HbF (γ)	Phe -	Ala -	Gln -	Leu -	Ser -	Glu -	Leu -	His -	Cys

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.6. Đoạn chứa thành phần acid amin trong các chuỗi β, δ và γ của Hb

Ngày nay người ta đã thống kê tới trên 400 loại Hb bất thường khác nhau chủ yếu là do sự bất thường về chất của globin, đặc biệt là do thay thế một aa này bằng một aa khác. Hậu quả là làm thay đổi độ tan của Hb (HbS, C, D, E); làm mất tính chất bền vững của cấu trúc Hb (thường xuất hiện tự nhiên hay sau khi hấp thu một số thuốc) hoặc có ảnh hưởng đến ái lực đối với O_2 cũng như sự vận chuyển của O_2 tới tổ chức.

Drepanocytose là một bệnh di truyền do sự có mặt của HbS trong đó chỉ thay thế Glu bằng Val ở vị trí 6 trong chuỗi β của Hb; sự thay thế này tạo nên một vòng kỵ nước trên bề mặt protein làm ngưng tụ các phân tử protein dưới dạng bó và sợi. Kết quả là hồng cầu có dạng lưỡi liềm. Bệnh có những biểu hiện rối loạn nghiêm trọng trên lâm sàng (thiếu máu dung huyết kéo dài).

β - Thalassemie là một bệnh thiếu máu chủ yếu ở vùng Địa Trung Hải và cả châu Á và Bắc Mỹ. Bệnh do có những đột biến ở vùng gen β, biểu hiện thiếu máu rất rõ do mất tác dụng sinh hồng cầu và dung huyết.

α - Thalassemie là bệnh gặp chủ yếu ở Đông Nam Á và vùng cận Đông, có khi cả ở Hy Lạp và châu Phi. Bệnh gây ra do sự bất thường trong tổng hợp chuỗi α do khuyết tật gen đưa đến tạo Hb bart và H; được đặc trưng bởi hiện tượng thiếu máu hồng cầu nhỏ nhược sắc dung huyết.

Bệnh hemoglobin M là hiện tượng tạo methemoglogin máu không chữa được bằng thuốc. Nguyên nhân là do đột biến một aa ở khe rãnh của hem gây bất thường các chuỗi α hay β của globin, đặc biệt Fe luôn luôn ở trạng thái Fe^{3+}, gây hiện tượng tím tái ngay khi mới sinh do oxy hoá vĩnh viễn Hb.

1.2. Tính chất của Hb

1.2.1. Khả năng kết hợp O_2

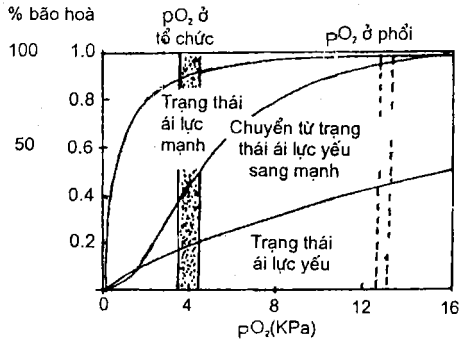
Hb của hồng cầu trong máu động mạch vận chuyển qua phổi tới các tổ chức ngoại vi được bão hoà khoảng 96% O_2. Nhưng khi vào máu tĩnh mạch trở về tim thì nó chỉ còn được bão hoà 64%. Như vậy cứ 100ml máu khi đi qua một tổ chức sẽ giải phóng khoảng 1/3 lượng O_2 mà nó vận chuyển, tương ứng với khoảng 6,5ml O_2 khí ở áp suất khí quyển và nhiệt độ cơ thể. Điều đó chứng tỏ Hb có khả năng kết hợp thuận nghịch với O_2 để tạo thành oxyhemoglobin.

$$Hb + O_2 \rightleftharpoons HbO_2$$

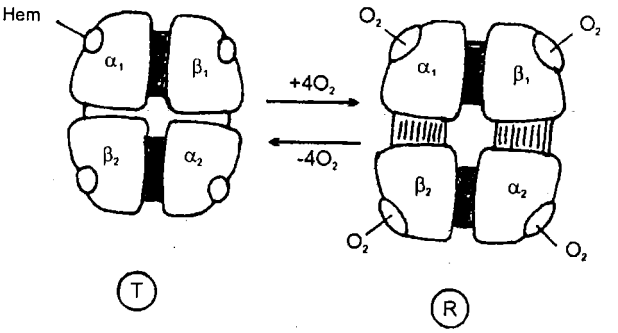
– Liên kết của Hb với O_2 là liên kết phối trí. Đặc trưng của liên kết này là khi O_2 kết hợp với một tiểu đơn vị của Hb sẽ kích thích gắn thêm O_2 vào các tiểu đơn vị khác một cách dễ dàng. Đó là kiểu liên kết dị lập thể (allosteric) không thể có được ở myoglobin hay các protein gắn O_2 khác chỉ có một tiểu đơn vị (protomer). Động học liên kết của Hb được biểu diễn bằng đường cong bão hoà O_2 của Hb có dạng sigma (hình 4.7), khác với dạng hyperbol của myoglobin.

THƯ VIỆN HUBT

Trên thực tế O_2 được gắn vào Hb ở trạng thái T trước (là trạng thái có ái lực yếu hơn nhiều đối với O_2) rồi sau đó mới cảm ứng làm thay đổi cấu dạng để chuyển sang trạng thái R (là trạng thái có ái lực mạnh đối với O_2) (hình 4.8). Vì vậy chỉ có Hb với đặc tính động học liên kết nói trên mới cho phép nó đảm nhiệm chức năng gắn O_2 một cách hữu hiệu ở phổi (nơi có pO_2 ~ 13,3 kPa) và giải phóng một lượng tối đa O_2 vào các tổ chức ngoại biên (nơi có pO_2 ~ 4 kPa).



Hình 4.7. Đường cong bão hoà oxy của Hb



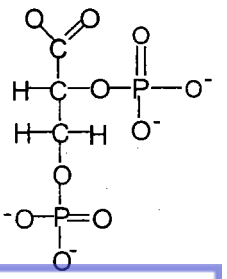
Hình 4.8. Sự biến đổi cấu dạng của Hb sau khi gắn O_2

– Việc gắn O_2 vào Hb còn phụ thuộc vào pH và sự có mặt của CO_2 (được nêu trong tính chất thứ 2 của Hb).

– Khả năng kết hợp với O_2 của Hb được điều hoà bởi 2,3 - diphosphoglycerat (DPG). Chất này là một sản phẩm trung gian của quá trình thoái hoá glucid. Không giống với O_2, chỉ có một phân tử DPG gắn vào mỗi phân tử Hb. Giữa liên kết O_2 - Hb và liên kết DPG - Hb có mối liên quan ngược, triệt tiêu nhau:

$$Hb - DPG + O_2 \rightleftharpoons HbO_2 + DPG$$

Đó là vì Hb có những trung tâm gắn khác nhau đối với 2 ligand này.

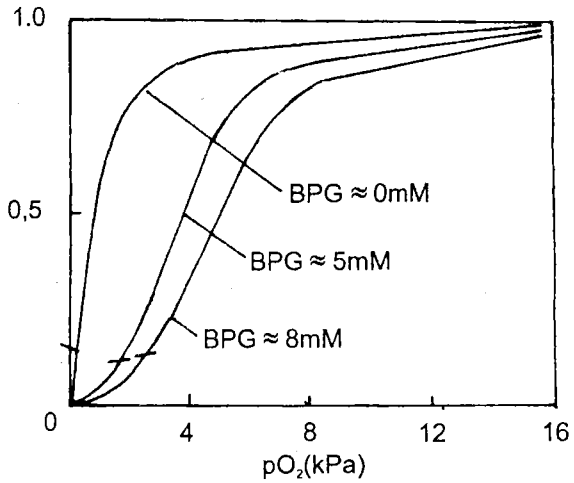


2,3 Diphosphoglycerat

THƯ VIỆN HUBT

DPG gắn vào khoảng trống trung tâm giữa các tiểu đơn vị β ở trạng thái T của Hb. ở đây có nhiều aa mang điện (+) như Lys EF 7β, His 21 β, N - tận Hb β tạo liên kết muối với các nhóm mang điện (-) của DPG làm cho phân tử deoxyhemoglobin càng bền vững hơn.

DPG là một ví dụ về chất điều hòa allosteric: 1 phân tử gắn vào một vị trí của protein khác với vị trí của ligand ban đầu (trong trường hợp này là O_2) và có ảnh hưởng đến liên kết của ligand này:



Hình 4.9. Ảnh hưởng của DPG (=BPG) lên đường cong liên kết O_2 - Hb

Nó làm giảm mạnh ái lực của Hb với O_2 (hình 4.9) bằng cách ổn định trạng thái T, do đó kích thích việc giải phóng O_2 ở tổ chức.

Trong tình hình, chú ý đến sự liên kết khá mạnh khi hoàn toàn không có độ DPG khoảng 5mM trong máu bình thường và 8mM trong máu người ở vùng cao so với biển. Quá trình điều hoà này ở hồng cầu liên quan đến áp lực của O_2 ở phổi (pO_2). Áp lực này càng thấp khi độ cao càng cao.

Hiện tượng tăng nồng độ DPG trong hồng cầu còn gặp ở những người bị thiếu năng O_2 (hypoxie) trong đó sự giảm gắn O_2 ở tổ chức do chức năng kém của phổi hay hệ thống tuần hoàn.

1.2.2. Khả năng kết hợp với H^+ và CO_2

– Ngoài vai trò vận chuyển hầu hết O_2 cần thiết từ phổi đến tổ chức, Hb còn có chức năng vận chuyển một phần đáng kể (~20%) CO_2 và proton là những sản phẩm chuyển hoá cuối cùng tạo ra ở tổ chức đến phổi để bài tiết ra ngoài (hình 4.10):

+ Ở tổ chức: $2H^+$ gắn vào Hb thay cho mỗi $4O_2$ đã được giải phóng và vận chuyển tới phổi. Như vậy khả năng đệm của máu (hấp phụ proton thừa) đã giúp cơ thể tránh được nguy cơ tăng acid máu.

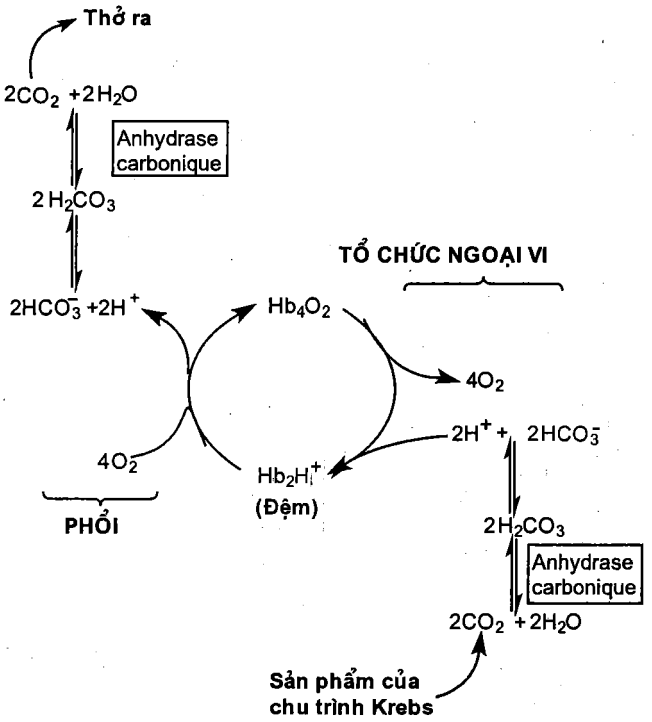
+ Ở phổi: quá trình xảy ra ngược lại, liên kết O_2-Hb đẩy H^+ ra khỏi Hb. Ở đây H^+ kết hợp với bicarbonat giải phóng CO_2 đào thải ra ngoài dưới tác dụng của anhydrase carbonic.

– H^+ và O_2 đều gắn với Hb nhưng theo 2 phương thức ngược nhau:

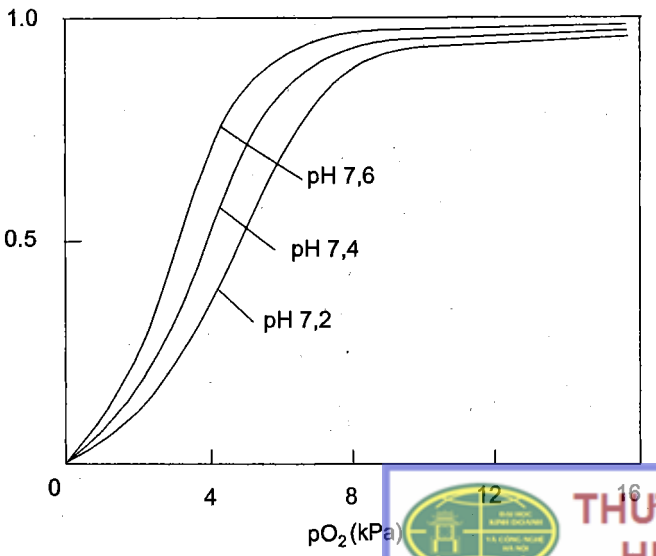
+ Khi ái lực O_2 tăng và CO_2 giảm do bài xuất (trường hợp ở phổi): O_2 sẽ gắn với Hb và giải phóng H^+ để tạo acid carbonic.

+ Khi ái lực O_2 giảm và CO_2 tăng cao (trường hợp ở tổ chức): H^+ tạo ra được gắn với Hb và giải phóng O_2.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 4.10. Vai trò đệm của Hb



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.11. Hiệu ứng Bohr (pH máu là 7,4; ở phổi là 7, 6 và ở tổ chức là 7,2).

Ảnh hưởng của pH và nồng độ CO_2 trên sự liên kết và giải phóng O_2 bởi Hb được gọi là hiệu ứng Bohr (C. Bohr - 1904) (hình 4.11).

O_2 và H^+ không cùng gắn trên một vị trí của Hb: O_2 được gắn vào nguyên tử Fe của hem, còn H^+ được gắn vào một trong những gốc aa khác nhau của protein (His H_3) của tiểu đơn vị β tạo liên kết muối với Asp 94 (Asp FG1) giúp ổn định deoxyhemoglobin ở trạng thái T. Khi tăng proton gây giải phóng O_2 (đường cong phân ly O_2 dịch chuyển sang phải) và ngược lại khi tăng O_2 sẽ gây giải phóng proton (đường cong chuyển sang trái).

Vì vậy nếu tính đến hiệu ứng Bohr thì phản ứng cân bằng liên kết:

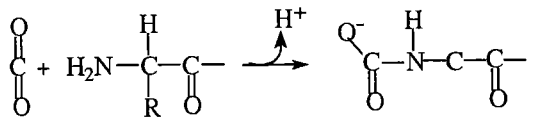
$$Hb + O_2 \rightleftharpoons HbO_2$$

trên thực tế có thể biểu diễn bằng phương trình sau:

$$HHb^+ + O_2 \rightleftharpoons HbO_2 + H^+$$

trong đó HHb^+ biểu thị dạng gắn proton của Hb.

– Hb liên kết với CO_2 cũng theo phương thức nghịch đảo với liên kết của O_2. CO_2 được gắn dưới dạng carbamat với đầu N - tận của cả 4 chuỗi polypeptid của Hb để tạo carbamino hemoglobin.



Gốc N tận Gốc carbamin tận

Phản ứng này sinh H^+ tham gia vào hiệu ứng Bohr.

Carbamat cũng tạo ra các liên kết muối góp phần ổn định trạng thái T và kích thích giải phóng O_2.

* Chính nhờ khả năng liên kết của các ligand giữa một tiểu đơn vị polypeptid với những tiểu đơn vị khác mà phân tử Hb mới thực hiện được hoàn hảo các chức năng vận chuyển O_2, CO_2 và proton bởi hồng cầu.

1.2.3. Khả năng kết hợp với CO

Hb kết hợp với CO tạo thành carboxyhemoglobin bền vững

$$Hb + CO \rightarrow Hb - CO$$

HbCO bị mất khả năng vận chuyển O_2 do O_2 bị loại trừ khi một phân tử CO gắn vào hem. Đối với một hem cách riêng, sự kết hợp hem - CO mạnh gấp 25.000 lần so với O_2. Nhưng trong Hb "His E7 xa" ngăn cản liên kết CO ở góc thích hợp nhất (180°) so với mặt phẳng nhân hem, do đó buộc CO phải kết hợp theo một cấu hình kém thuận lợi hơn và giảm lực liên kết giữa hem -CO. Kết quả là ái lực liên kết đối với CO chỉ còn gấp khoảng 200 lần ái lực liên kết với O_2. Muốn điều trị ngộ độc CO phải kích thích hô hấp bằng hỗn hợp khí gồm 95% O_2 và 5% CO_2.

THƯ VIỆN HUBT

1.2.4. Sự oxy hoá của Hb

Nhiều chất oxy hoá (nitrit, nitrat, clorat, cyanid, anilin, fericyanid, sulfamid) có khả năng oxy hoá Fe (II) thành Fe (III) tạo methemoglobin (MetHb) và giải phóng điện tử.

MetHb bị mất khả năng gắn O_2 do đó không có chức năng hô hấp. MetHb có nhiều trong cơ thể cũng gây ngộ độc nhưng không nguy hiểm lắm nếu hệ thống enzym diaphorase hoạt động có tác dụng khử trở lại thành Hb. Trên thực tế cũng có một số chất khử khác như xanh metylen, vitamin C.

Bình thường trong hồng cầu có dưới 2% MetHb. Trường hợp bệnh lý, MetHb tăng trong:

+ Ngộ độc bởi các chất oxy hoá nói trên.
+ Thiếu hụt MetHb reductase do di truyền.
+ Các bệnh MetHb máu do các dạng Hb bất thường (HbM).

1.2.5. Tính chất enzym

HbO_2 có tính chất của oxydase, peroxydase và catalase. Tính chất này được ứng dụng để phát hiện các vết máu trong dịch sinh vật, đặc biệt là nước tiểu và phân.

$$AH_2 + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Hb hoặc peroxydase}} A + 2H_2O$$

1.2.6. Phổ Hb

Hb có một dải hấp thụ ở 554nm (gọi là dải Stokes). Sự chuyển dạng từ deoxyHb sang HbO_2 làm xuất hiện 2 dải (577 và 514nm). Ngược lại sự chuyển dạng từ HbO_2 thành Hb làm mất 2 dải này và xuất hiện trở lại dải Stokes.

2. Acid nucleic

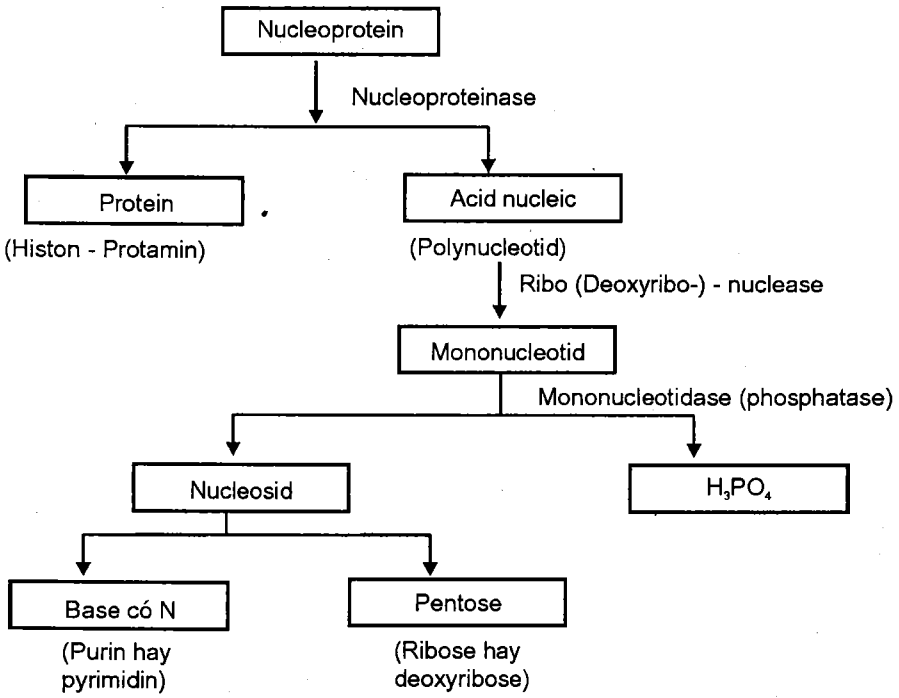
Acid nucleic (AN) là những chất được phân lập đầu tiên từ "nhân" tế bào, nhưng về sau người ta phát hiện thấy chúng còn có cả trong bào tương. Có 2 loại AN:

* ADN (acid deoxyribonucleic): khu trú chủ yếu ở nhân.

* ARN (acid ribonucleic) được tìm thấy chủ yếu ở trong bào tương.

AN là nhóm ngoại của nucleoprotein có trong mọi dịch chiết của tế bào động vật và thực vật. Dưới tác dụng của acid hay enzym, nucleoprotein được thuỷ phân từng phần (hình 4.12) tạo ra những sản phẩm cuối cùng là acid phosphoric, base purin hay pyrimidin và đường pentose (ribose hay deoxyribose).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 4.12. Thuỷ phân nucleoprotein

AN đóng vai trò quan trọng trong sinh tổng hợp protein, là chất cơ bản của tế bào tham gia vào phần lớn hoạt động sinh học của cơ thể.

* ADN chứa thông tin cần thiết cho "chương trình" tổng hợp. Nó chỉ huy trình tự sắp xếp các acid amin để tổng hợp nên một protein nhất định, đồng thời chứa đựng thông tin để điều hoà quá trình tổng hợp đó. ADN là yếu tố tồn tại vĩnh cửu trong tế bào, những thông tin lưu giữ được truyền lại cho các thế hệ sau. Vì vậy ADN chính là chất mang thông tin di truyền của sinh vật nói chung.

* ARN cho phép thực hiện quá trình tổng hợp protein.

Về cấu tạo, AN là những phân tử rất dài, được tạo thành từ nhiều tiểu đơn vị gọi là nucleotid.

2.1. Nucleotid

2.1.1. Cấu tạo

Nucleotid được cấu tạo từ 3 thành phần:

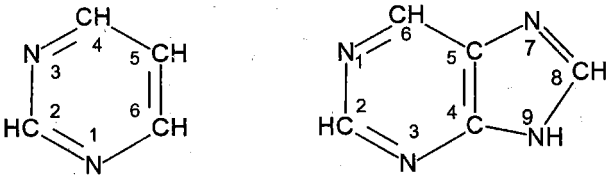
Nucleotid = base + pentose + H_3PO_4

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- Base:
  - Cấu tạo:

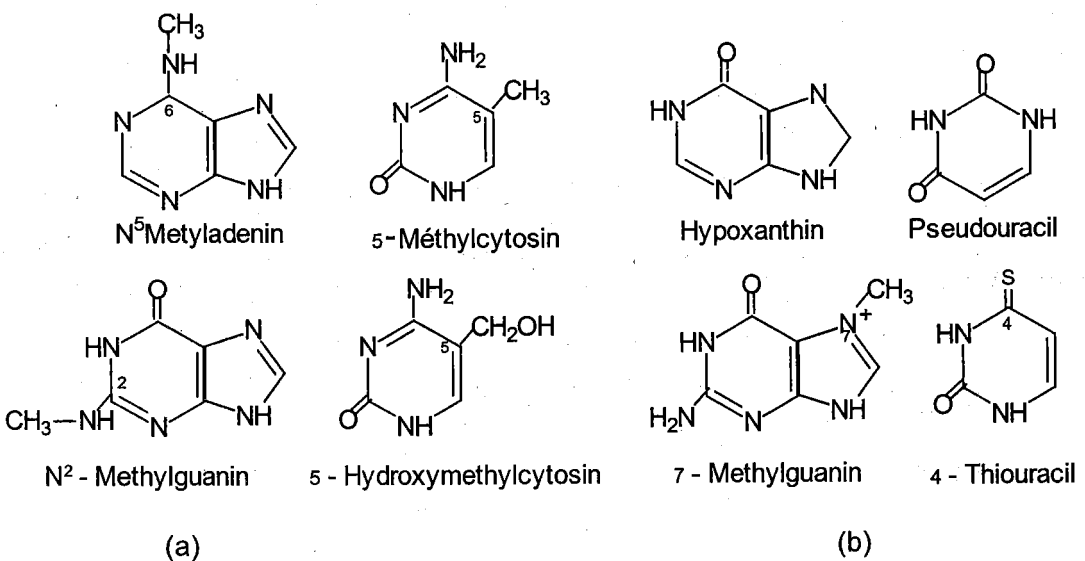
Trong nucleotid có 2 loại base: base purin và base pyrimidin. Chúng đều là những dẫn xuất của nhân purin hay pyrimidin (hình 4.13) được đánh số theo hệ thống quốc tế trong đó một hay nhiều nguyên tử hydro được thay thế bằng các gốc hydroxyl, amin hay metyl.

+ Base pyrimidin gồm có cytosin (C), thymin (T) và uracil (U) (hình 4.14), là 3 base pyrimidin chính được tìm thấy trong nucleotid của cả prokaryot (sinh vật nhân sơ) và eukaryot (sinh vật nhân chuẩn).



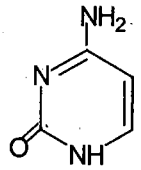
Hình 4.13.

+ Base purin gồm có adenin (A) và guanin (G) là 2 base purin chính có trong cơ thể sống. Hypoxanthin và xanthin (những chất trung gian trong chuyển hoá của A và G), acid uric (sản phẩm chuyển hoá cuối cùng của purin) và một số chất khác được gọi là các "base thứ yếu" có trong ADN và ARN vận chuyển (hình 4.15). Một số base purin là những dẫn xuất thế metyl gặp trong thực vật như cafein (trong cây cà phê), theophylin (trong cây chè) và theobromin (trong cây cacao) (hình 4.16). Đó là những chất có nhiều tác dụng dược lý quan trọng.

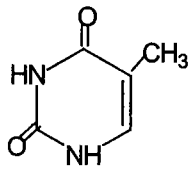


Hình 4.14. Các base purin và pyrimidin chính trong nucleotid

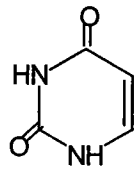
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



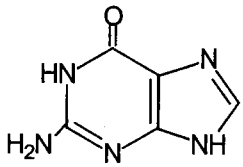
Cytosin
(2 - oxy - 4 - aminopyrimidin)



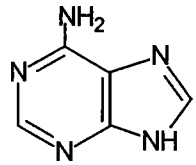
Thymin
(2,4 - dioxy - 5 - methylpyrimidin)



Uracil
(2,4 - dioxypyrimidin)

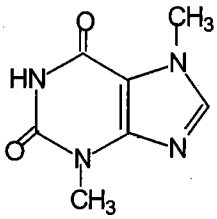


Guanin
(2 - amino - 6 - oxypurin)

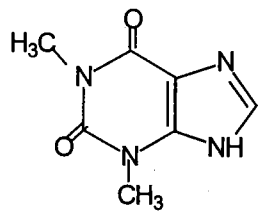


Adenin
(6 - aminopurin)

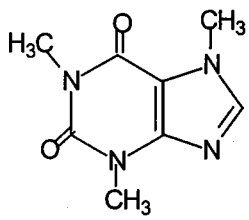
Hình 4.15. Một số base "thứ yếu" trong ADN (a) và trong ARN (b)



Theobromin
(3,7 - dimetyl - xanthin)



Theophyllin
(1,3 - dimetyl - xanthin)



Cafein
(1,3,7 - trimetyl - xanthin)

THƯ VIỆN HUBT

Hình 4.16. Một số metyl xanthin thực vật có tác dụng dược lý

– Tính chất hoá lý của các base nitơ:

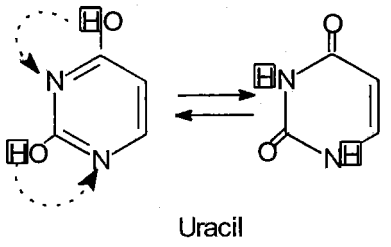
+ Trên thực tế các base purin và pyrimidin tồn tại ở trạng thái cân bằng giữa 2 dạng tautomer (hoán vị cetoenol) tuỳ theo pH. Ví dụ ở pH 7 uracil (hình 4.17) có dưới dạng lactam là chủ yếu. Trong những điều kiện sinh lý, dạng lactam cũng là dạng ưu thế của guanin và thymin.

+ Ở pH trung tính, guanin ít tan nhất trong số các base, rồi đến xanthin. Acid uric dưới dạng urat tương đối tan ở pH trung tính nhưng lại rất khó tan trong dung dịch ở pH thấp hơn trong nước tiểu, vì vậy nó thường tạo thành sỏi trong đường tiết niệu.

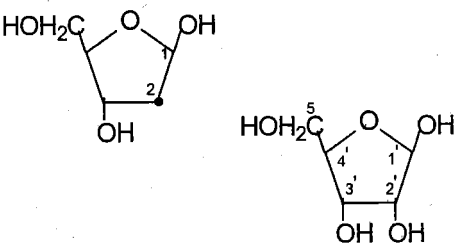
+ Tất cả các base purin và pyrimidin đều hấp thụ mạnh ánh sáng trong vùng tử ngoại (260nm).

- Pentose:

Có 2 loại pentose tham gia vào cấu tạo của nucleotid là ribose và deoxyribose (không có OH ở vị trí 2') (hình 4.18). Các nguyên tử carbon của pentose được quy ước đánh số bằng số có "dấu phẩy" để tránh nhầm lẫn với các số trong base nitơ.



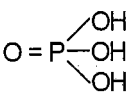
Hình 4.17. Các dạng tautomer của uracil



Hình 4.18. D-ribose và 2' deoxy. D-ribose

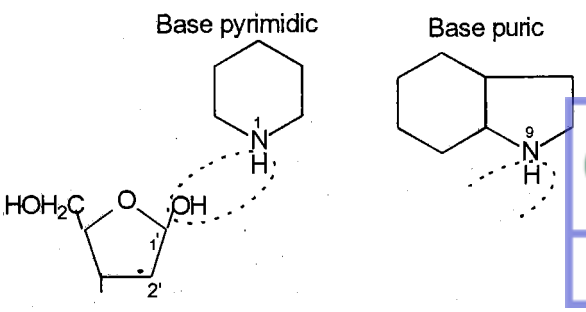
- Acid phosphoric: là 1 tri - acid

  Hai trong số 3 chức acid được este hoá trong ADN và ARN

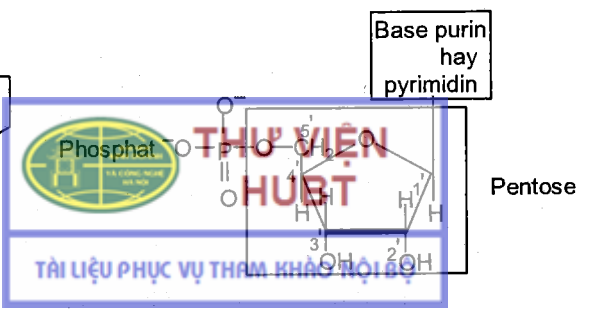


2.1.2. Nucleosid và nucleotid

- Cấu tạo và danh pháp:



Hình 4.19. Liên kết base-pentose trong nucleosid



Hình 4.20. Cấu tạo tổng quát của nucleotid

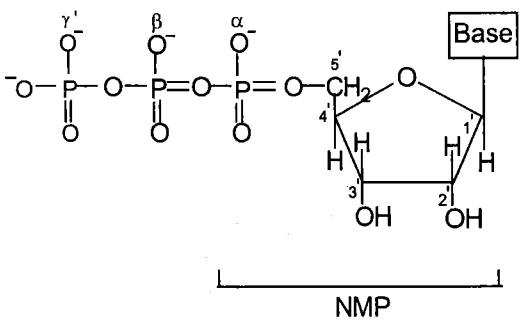
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Nucleosid là những hợp chất gồm base có nitơ và đường pentose được gắn cộng trị với N - 1 của pyrimidin và với N - 9 của purin qua liên kết N -glycosid trên carbon 1' của pentose (hình 4.19). Liên kết này được tạo thành bằng cách loại 1 phân tử nước giữa 2 nhóm OH semi - aldehyd của pentose và hydro của base. Sự ổn định của liên kết quyết định tính bền vững của nucleosid đối với quá trình thuỷ phân bởi kiềm.

Có thể phân biệt ribonucleosid và deoxyribonucleosid tuỳ thuộc vào thành phần của pentose. Tên gọi của các nucleosid dựa vào tên của base nitơ tương ứng (bảng 4.1).

Bảng 4.1. *Danh pháp của nucleosid và nucleotid*

Base	Nucleosid*	Nucleotid*
Purin		
Adenin	Adenosin	Adenylat
	Deoxyadenosin	Deoxyadenylat
Guanin	Guanosin	Guanylat
	Deoxyguanosin	Deoxyguanylat
Pyrimidin		
Cytosin	Cytidin	Cytidilat
Thymin	Deoxycytidin	Deoxycytidilat
	Thymidin hoặc	Thymidilat hoặc
	deoxythymidin	deoxythymidilat
Uracil	Uridin	Uridylat



Chữ viết tắt các ribonucleosid 5-phosphat			Chữ viết tắt các desoxyribonucleosid 5 phosphat		
Base	Mono-	Di- Tri-	Base	Mono-	Di- Tri-
Adénin	AMP	ADP ATP	Adenin	dAMP	dADP dATP
Guanin	GMP	GDP GTP	Guanin	dGMP	dGDP dGTP
Cytosin	CMP	CDP CTP	Cytosin	dCMP	dCDP dCTP
Uracil	UMP	UDP UTP	Uracil	TMP	dTDP dTTP

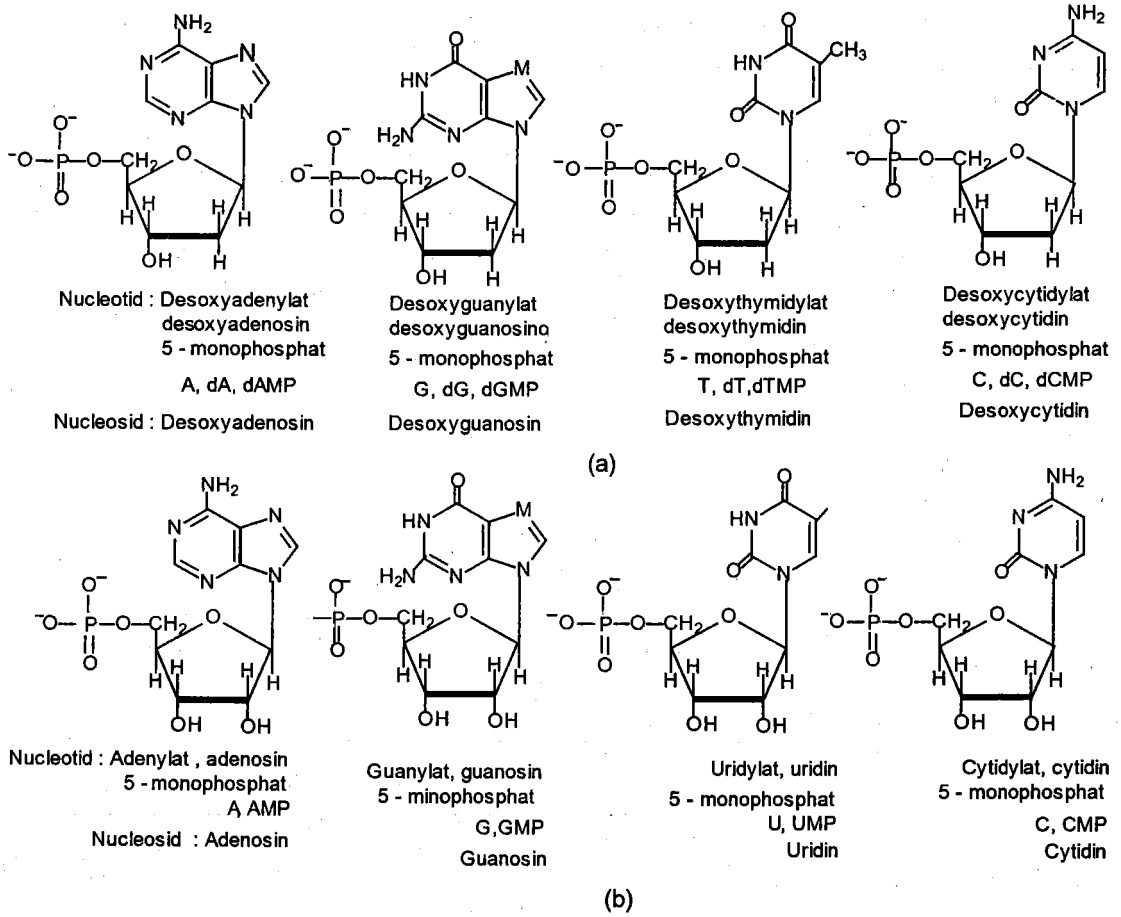
THƯ VIỆN HUBT

Hình 4.21. Cấu tạo tổng quát và ký hiệu tắt của nucleosid (ribo và deoxyribo) 5'-mono, 5'-di và 5' tri phosphat

– Nucleotid là các sản phẩm gắn phosphat của nucleosid (hình 4.20). Danh pháp và ký hiệu viết tắt của chúng được nêu trong bảng 4.1 và hình 4.21.

Liên kết giữa pentose và acid phosphoric là liên kết este do loại một phân tử nước giữa OH của acid và H của alcol (ở vị trí 5' của pentose).

Hình 4.22 là những nucleotid mang 4 base chính phổ biến. Tuy nhiên ADN và ARN còn có thể chứa một số base "thứ yếu" như đã nêu ở trên.



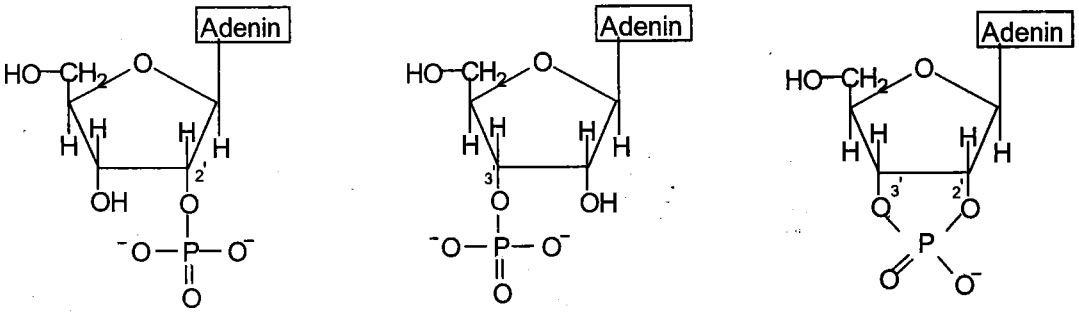
Hình 4.22. (a) Các đơn vị deoxyribonucleotid của ADN

(b) Các đơn vị ribonucleotid của ARN

Nucleotid cũng có một số cấu tạo ngoại lệ: trong ARN vận chuyển (tARN) có một hợp chất mang tên "pseudouridin) (φ) trong đó ribose không gắn vào N ở vị trí 1 mà gắn vào C ở vị trí 5 của uracil.

Ngoài ra các tế bào còn chứa cả nucleotid có các nhóm phosphat không phải ở carbon 5' của pentose (hình 4.23). Đó là những chất trung gian chuyển hoá hoặc là những sản phẩm thuỷ phân cuối cùng của ARN dưới tác dụng của một số ribonuclease.

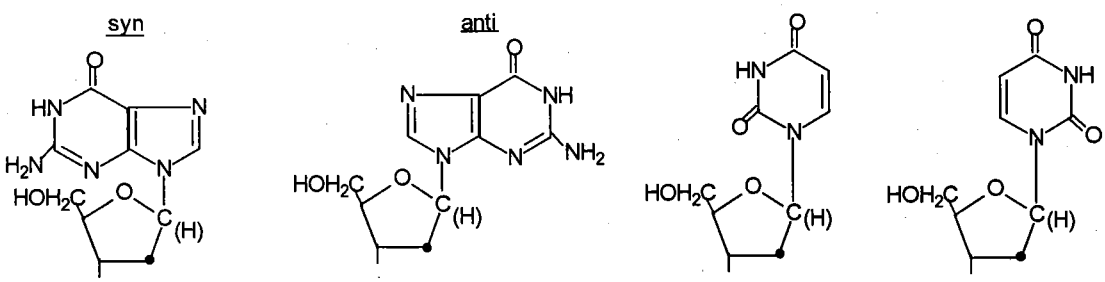
THƯ VIỆN HUBT



Hình 4.23. Một số adenosin mono và diphosphat ngoại lệ

– Cấu tạo dạng anti và syn:

Trên thực tế liên kết C - N giữa mỗi base và pentose có thể có 2 cấu dạng "syn hay anti". Nói cách khác có 2 vị trí gắn tương ứng của một base với deoxyribose (ví dụ đối với base purin và pyrimidin (hình 4.24): trong A - ADN hay B - ADN, các base purin và pyrimidin đều có cùng một cấu dạng (anti)). Còn trong Z - ADN thì cytosin ở dưới dạng anti trong khi guanin lại ở dưới dạng syn (có sự chuyển quay của base xung quanh liên kết glycosid) và các cấu dạng anti và syn xen kẽ nhau (xem phần Z - ADN).



Hình 4.24. Hai cấu dạng syn và anti

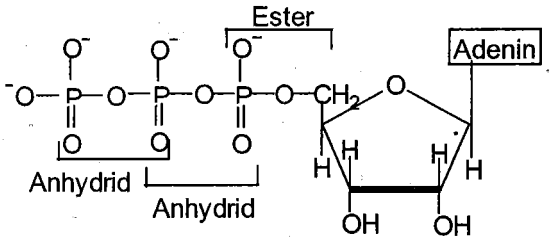
• Nucleotid tự nhiên:

Trong tự nhiên, ngoài vai trò tham gia cấu tạo acid nucleic, các nucleotid còn có dưới dạng tự do trong tổ chức và đảm nhiệm nhiều chức năng quan trọng.

– Các dẫn xuất của adenosin:

+ ADP và ATP là những cơ chất và sản phẩm của sự phosphoryl oxy hoá. ATP (hình 4.25) còn là nguồn phosphat giàu năng lượng cung cấp cho những phản ứng tổng hợp và các phản ứng cần năng lượng khác, đồng thời là chất vận chuyển năng lượng tự do trong tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

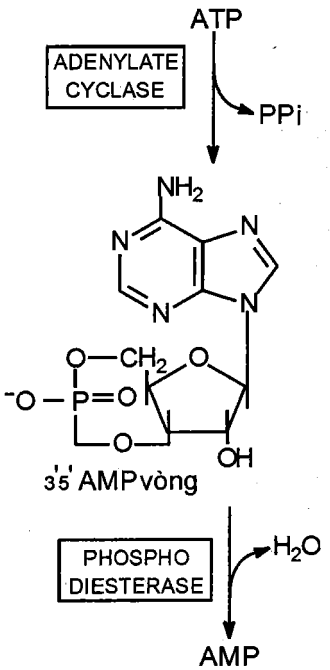


ATP

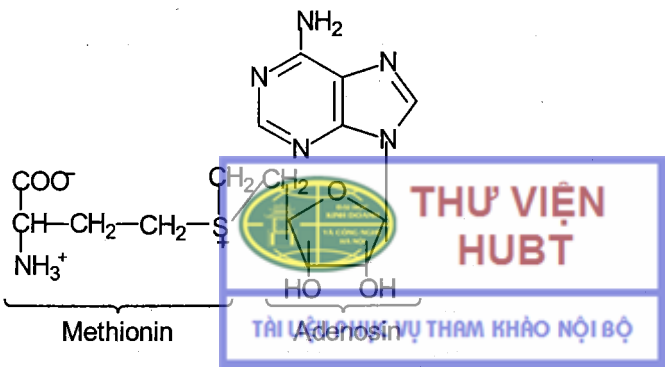
Hình 4.25. Cấu tạo của adenosin triphosphat

+ AMP vòng (3', 5' - adenosin monophosphat; AMPv) là chất trung gian của nhiều tín hiệu ngoài tế bào ở động vật có vú. Nó được tạo thành từ ATP dưới tác dụng của adenylat cyclase. Nhiều tương tác phức tạp trong đó có các receptor của hormon đóng vai trò kiểm soát hoạt động của enzym này. AMPv phosphodiesterase xúc tác sự thuỷ phân AMPv thành 5'-AMP (hình 4.26).

– S - adenosyl methionin (hình 4.27) là một dạng methionin hoạt động và được coi là chất cho nhóm metyl trong nhiều phản ứng gắn metyl. Nó còn là nguồn cung cấp propylamin cho quá trình tổng hợp polyamin.



Hình 4.26. Sự tạo thành và phân huỷ của AMPv



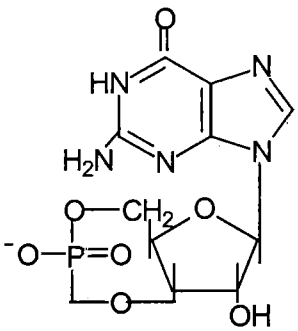
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU LƯU HÀNH NỘI BỘ

Hình 4.27. S-adenosylmethionin

– Các dẫn xuất của guanosin:

+ GDP và GTP tham gia vào nhiều phản ứng cần năng lượng tương tự như ADP và ATP. Ví dụ phản ứng oxy hoá α - cetoglutaric thành succinyl - CoA trong chu trình Krebs chính là quá trình phosphoryl oxy hoá kèm theo sự vận chuyển một phosphat tới GDP để tạo thành GTP. GTP là chất cần để hoạt hoá adenylat cyclase bởi một số hormon và đôi khi còn là chất điều hoà dị lập thể, là nguồn năng lượng cung cấp cho quá trình tổng hợp protein trên các polyribosom. Ngoài ra nó còn đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì nội môi.

+ GMP vòng (3', 5'-guanosin monophosphat - GMP_v (hình 4.28) có trong tế bào và đảm nhiệm chức năng điều hoà. Nó được tạo từ GTP nhờ guanylat cyclase là enzym có thể được điều hoà bởi nhiều yếu tố trong đó có hormon. Giống như AMP_v, GMP_v cũng bị thoái hoá dưới ảnh hưởng của phosphodiesterase để cho 5'- monophosphat tương ứng.



Hình 4.28. GMPv

– Các dẫn xuất của hypoxanthin:

Ribonucleotid của hypoxanthin được gọi là acid inosinic (IMP) hay inosinat nếu ở dưới dạng muối. Đó là tiền chất của các ribonucleotid purin được tổng hợp "denovo". Inosinat có thể được tạo từ quá trình khử amin của AMP. Khi mất nhóm phosphat của IMP sẽ tạo nucleosid - inosin (ribosid của hypoxanthin) là chất trung gian trong chu trình hồi phục các purin.

Inosin diphosphat (IDP) và inosin triphosphat (ITP) là những chất tương tự như ADP và ATP có thể tham gia vào các phản ứng phosphoryl hoá.

– Các dẫn xuất của uracil:

Nucleotid của uridin là những coenzym quan trọng trong các phản ứng chuyển hoá của hexose cũng như trong tổng hợp tinh bột, các oligosaccarid của glycoprotein và proteoglycan. Cơ chất của các phản ứng này là uridin diphosphat gắn với đường. Ví dụ: uridin diphosphoglucose (UDPGlc) là tiền chất của glycogen; acid uridin diphosphoglucuronic (UDPGlc UA) là nguồn glucuronid "hoạt động" trong các phản ứng liên hợp như phản ứng tạo glucuronat của bilirubin.

THƯ VIỆN HUB-T
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Uracil cũng tham gia tạo các hợp chất phosphat giàu năng lượng giống như ATP, GTP hay ITP. Ví dụ: uridin triphosphat (UTP) được sử dụng trong các phản ứng biến đổi galactose thành glucose. Ở đây cũng có sự tạo thành UDPGlc và UDPGal. UTP còn là tiền chất của quá trình trùng hiệp nucleotid của uridin thành ARN.

– Các dẫn xuất của cytosin:

Cytidin (cytosinribose) cũng có thể tạo thành nucleotid CTP là hợp chất phosphat giàu năng lượng và là tiền chất trùng hiệp CMP thành acid nucleic; đồng thời là một nucleotid cần cho quá trình sinh tổng hợp một số phosphoglycerid trong tổ chức động vật. Các phản ứng có sự tham gia của ceramid và CDP - cholin thúc đẩy sự tạo sphingomyelin và các hợp chất thế sphingosin khác.

Các dẫn xuất nucleotid vòng của cytidin cũng có vai trò giống như các dẫn xuất vòng của adenosin và guanosin đã được nêu ở trên.

– Các coenzym có bản chất nucleotid:

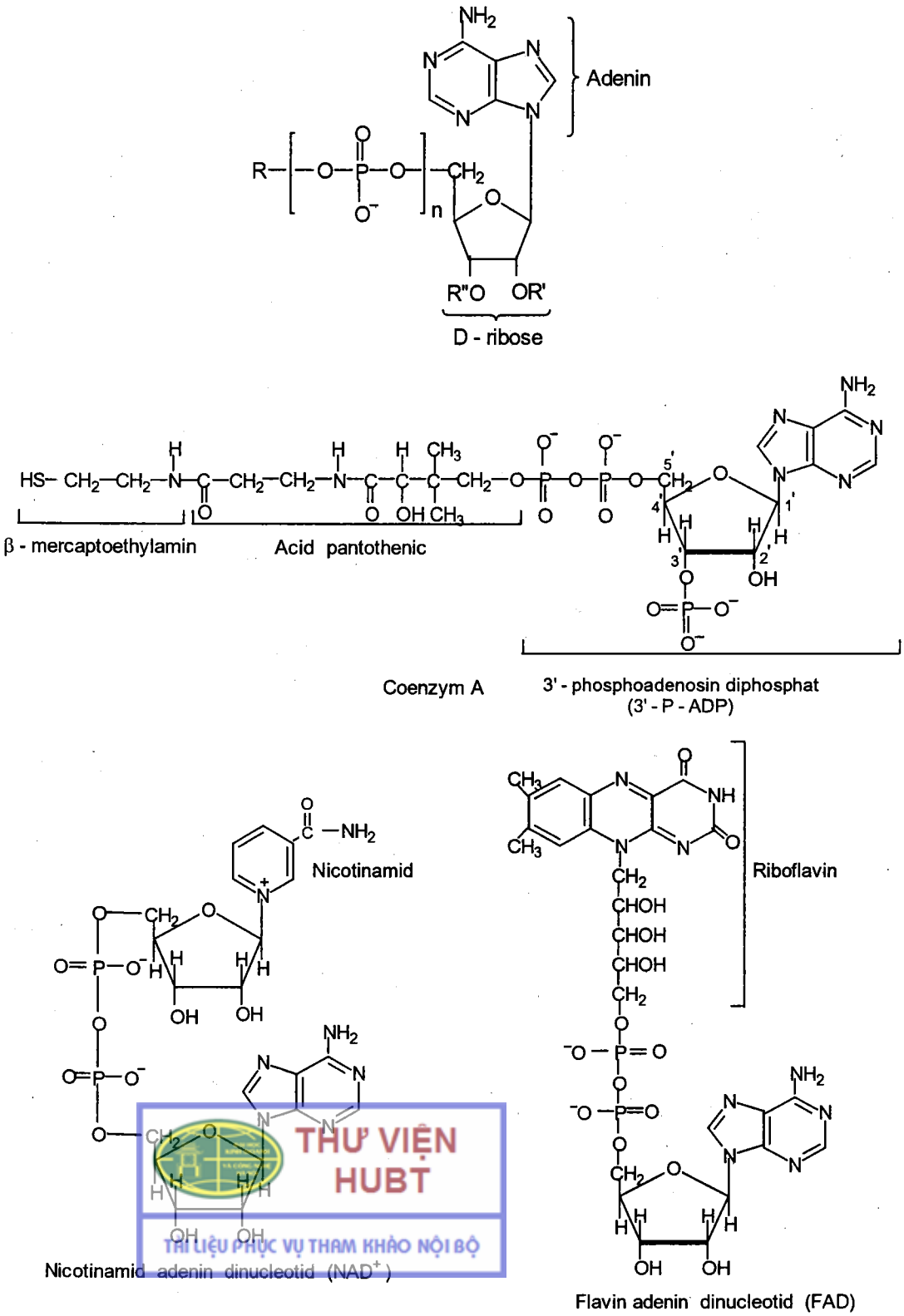
Nhiều vitamin tham gia cấu tạo coenzym là các nucleotid purin hay pyrimidin. Đa số các coenzym này là dẫn xuất của adenosin monophosphat (bảng 4.2 và hình 4.29). Ví dụ: coenzym A tham gia vào các phản ứng vận chuyển nhóm acyl; NAD (Nicotinamid adenin dinucleotid) tham gia vận chuyển 1 hydro và 1 H^+; FAD (flavinadenin dinucleotid) là dạng hoạt động của vitamin B_2 tham gia vận chuyển hydro trong chuỗi hô hấp. Ngoài ra 5' - deoxy adenosin cobalamin là dạng hoạt động của vitamin B_{12} tham gia vào phản ứng vận chuyển nội phân tử giữa các nguyên tử carbon kế cận nhau.

Người ta đã tìm thấy trong nhiều enzym có "vùng liên kết nucleotid" gắn ATP với các cofactor coenzym có cấu tạo nucleotid.

***Bảng 4.2.** Các coenzym dẫn xuất từ AMP*

Coenzym	R	R'	R''	n
Methionin hoạt động	methionin*	H	H	0
Adenylate của acid amin	Acid amin	H	H	1
Sulfat hoạt động	SO_3^{2-}	H	PO_3^{2-}	1
AMP 3', 5' - vòng	H	H	PO_3^{2-}	
NAD^+	+	H	H	2
$NADP^+$	+	PO_3^{2-}	H	2
FAD	+	H	H	2
CoA-SH	+	H	PO_3^{2-}	2

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



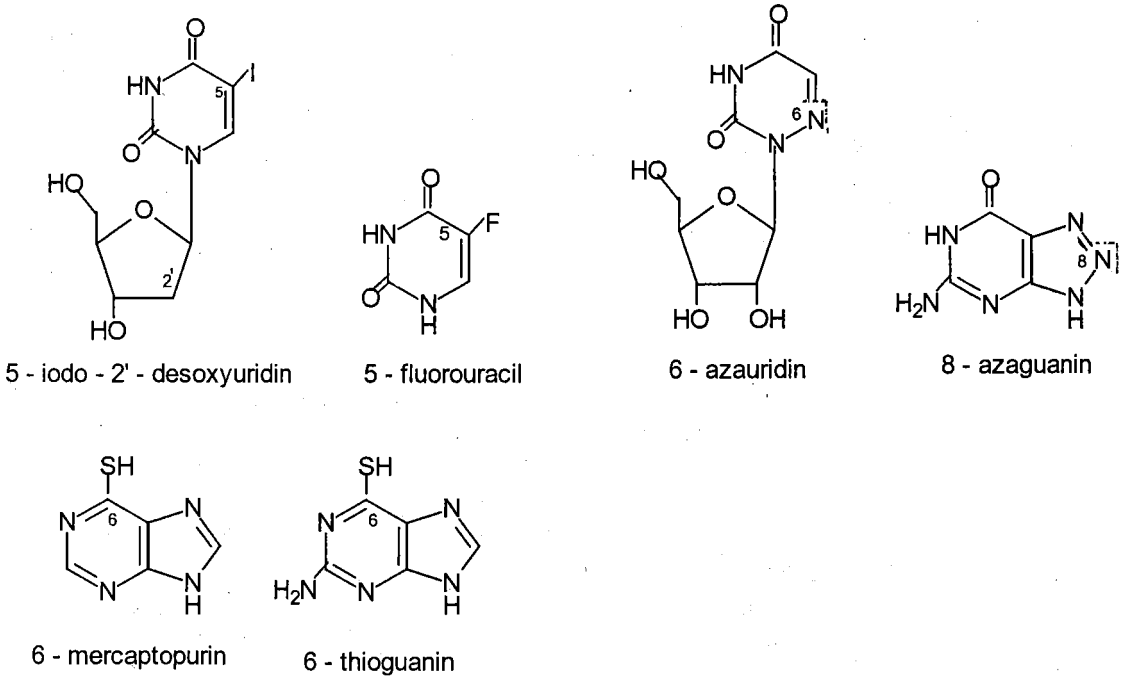
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.29. Một số coenzym chứa adenosin

- Nucleotid tổng hợp:

Ngày nay các chất tổng hợp tương tự nucleobase, nucleosid và nucleotid được sử dụng ngày càng nhiều trong y học với mục đích nghiên cứu và điều trị.

– Một số thuốc dùng trong điều trị ung thư là những chất có tác dụng ức chế enzym đặc hiệu cho sự tổng hợp acid nucleic hoặc ức chế quá trình truyền thông tin chính xác bằng cách gắn các chất chuyển hoá của thuốc vào acid nucleic làm biến đổi các base cần cho sự cặp đôi trong quá trình tái bản hay sao chép. Ví dụ: các dẫn xuất 5-fluoro hay 5-iodo của uracil hay deoxyuracil; 6-thioguanin và 6-mercaptopurin có các nhóm hydroxyl tự do đã được thay thế bằng thiol ở vị trí 6; 5 - hay 6-aze uridin hay azacytidin và 8-azaguanin trong đó nhân purin hay pyrimidin có chứa thêm những nguyên tử nitơ (hình 4.30).



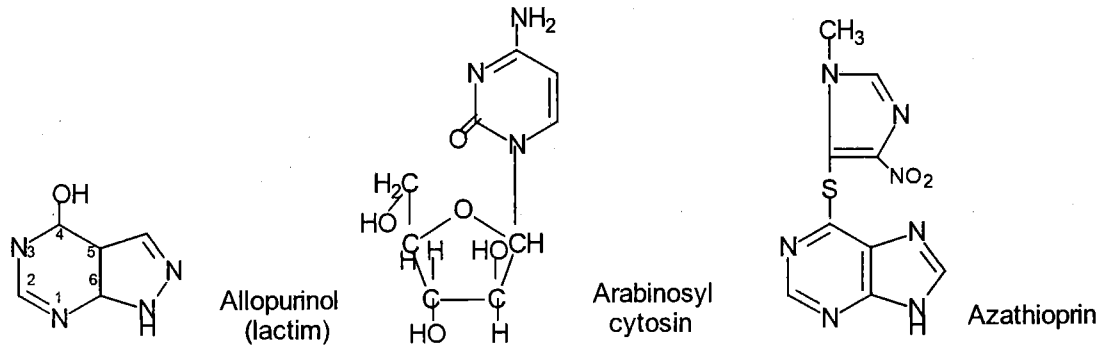
Hình 4.30. Một số thuốc trong điều trị ung thư

– Để điều trị bệnh tăng uric máu và bệnh Goutte, 4 - hydroxy pyrazolopyrimidin (allopurinol) là thuốc có tác dụng ức chế sinh tổng hợp "mới" của purin và ức chế xanthinoxydase (hình 4.31).

– Trong số các nucleosid tổng hợp có khả năng chống virus, có 5 - iodo 2' - deoxyuridin đã nêu ở trên, chất này có hiệu quả điều trị tại chỗ bệnh viêm giác mạc do nhiễm virus Herpes. Về hoá trị liệu chống ung thư và nhiễm virus nói chung người ta thường dùng các nucleosid chứa arabinose hơn là ribose, như cytarabin (arabinosyl cytosin, AraC) (hình 4.31).

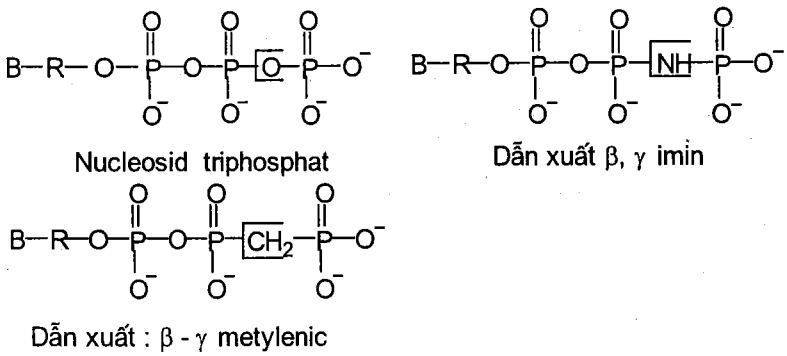
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Azathioprin (hình 4.31) có thể chuyển hoá thành 6 - mercaptopurin, được sử dụng làm chất kìm hãm các hiện tượng loại bỏ mảnh ghép do miễn dịch trong ghép cơ quan.



Hình 4.31. Một số thuốc sử dụng trong các bệnh về acid uric, nhiễm virus và trong ghép cơ quan

– Để tìm hiểu cơ chế tác dụng hoá sinh đặc biệt của các nucleosid di - hay triphosphat (xem trong quá trình tác dụng có cần phải thuỷ phân hay không; hoặc những tác dụng của chúng là do chiếm chỗ nucleotid đặc hiệu trên enzym hay trên protein điều hoà), nhiều chất NDP hay NTP - ribonucleotid purin và pyrimidin đã được tổng hợp. Những chất này không có khả năng thuỷ phân nhóm phosphat. Ví dụ: các dẫn xuất tương tự guanosin triphosphat (hình 4.32).



Hình 4.32. Nucleosid triphosphat thông thường và 2 dẫn xuất tổng hợp
(B: base purin hay pyrimidin, R: ribose hay desoxyribose)

2.2. Acid nucleic

Một chuỗi acid nucleic bao gồm nhiều nucleotid nối với nhau bằng những liên kết "phosphodieste". Như vậy có 2 chức acid của acid phosphoric tham gia vào liên kết này (một chức tham gia tạo nucleotid và chức thứ hai nối hai nucleotid với nhau). Chức acid thứ ba còn lại của H_3PO_4 dưới dạng tự do tạo nên tính chất acid của "acid nucleic" ADN và ARN (hình 4.33).

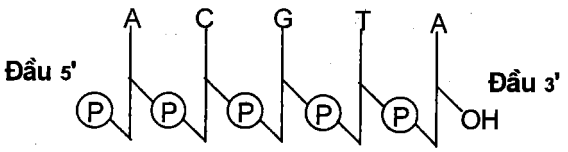
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

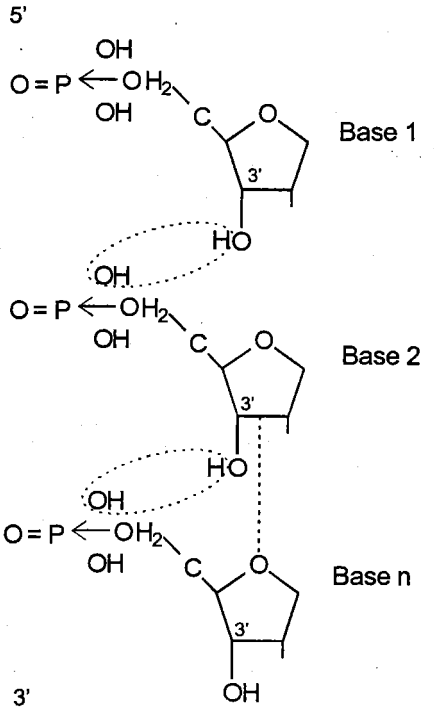
– Theo quy ước một chuỗi acid nucleic có 2 đầu cực:

– Đầu 5'P chứa nhóm phosphat có 2 chức acid tự do

– Đầu 3'OH chứa một OH tự do ở vị trí 3' của pentose, người ta quy ước đọc tên theo chiều 5'→ 3' từ trái sang phải.

– Có thể sơ đồ hoá chuỗi nucleotid của acid nucleic như sau:





Hình 4.33. Liên kết phosphodieste trong chuỗi acid nucleic

trong đó các nhóm phosphat được ký hiệu là Ⓟ và mỗi phân tử pentose bằng một đường thẳng đứng có số carbon từ 1' trên đỉnh (nối với base) tới 5' (mặc dù trong acid nucleic, đường pentose luôn luôn ở dưới dạng vòng β - furanose. Các đường thẳng chéo được nối giữa các nucleotid từ vị trí 3' của pentose qua Ⓟ tới đầu 5' của nucleotid tiếp theo. Một cách đơn giản hơn có thể viết tắt: pA - C - G - T - A_{OH} hoặc pACGTA.

Cần phân biệt:

– Oligonucleotid: là acid nucleic ngắn, gồm < 50 nucleotid.

– Polynucleotid: là acid nucleic dài hơn.

2.2.1. ADN

a. Cấu trúc và đặc tính:

- Thành phần cấu tạo:

ADN được tạo thành từ nhiều nucleotid nối với nhau bằng các liên kết este.

Nó có 3 đặc điểm khác với ARN:

– Đường pentose là deoxyribose (trong ARN là ribose).

– Base cấu tạo nên các nucleotid của ADN là:

A	G	C	T

Trong đó: Adenin (A), guanin (G) là những base purin
Cytosin (C), thymin (T) là những base pyrimidin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

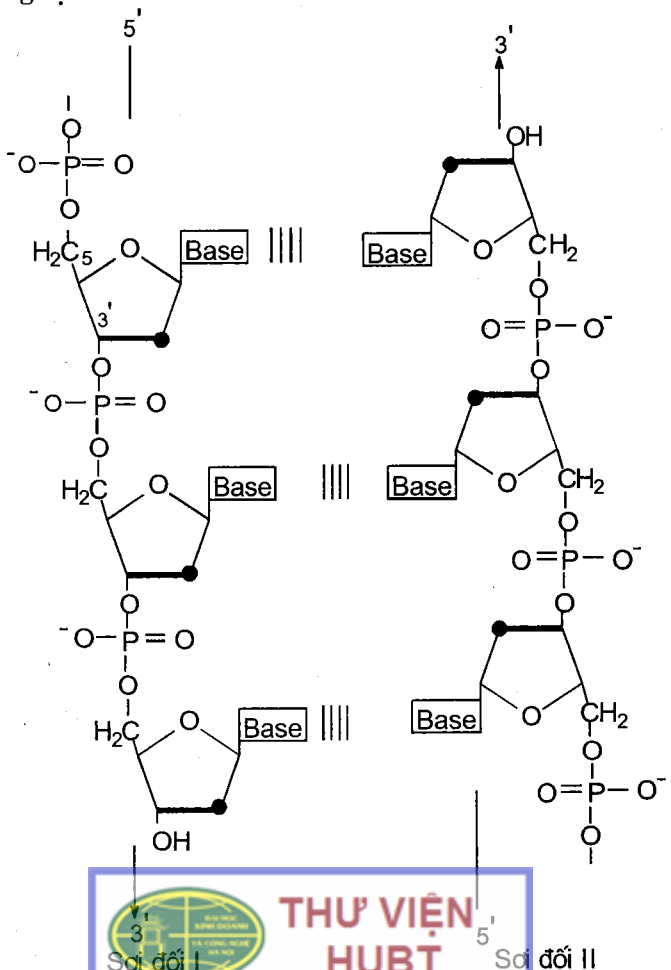
Trong thành phần cấu tạo của ADN không bao giờ tìm thấy uracil (U) (trong ARN, U được thay thế cho T).

– Một phân tử ADN được tạo từ 2 chuỗi (còn gọi là 2 sợi) poly nucleotid (ARN chỉ có một chuỗi). Tuy nhiên cũng có những trường hợp ngoại lệ ở một số virus.

- Những đặc tính của 2 chuỗi ADN:

Hai chuỗi ADN có 3 đặc tính quan trọng là: tính đối song (antiparallel), quy luật bổ sung (complementary) và đặc tính xoắn cuộn (helix).

– Tính đối song: 2 sợi polynucleotid chạy song song nhưng theo hướng ngược nhau. Ví dụ: một phân tử ADN (hình 4.34) nếu nhìn trên mặt phẳng có một sợi chạy theo hướng 5'→ 3' từ trên xuống trong khi sợi thứ 2 theo hướng 5' → 3' nhưng ngược từ dưới lên.



THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ THANH KHOÁ NỘI BỘ

Hình 4.34. Hai chuỗi nucleotid đối song của một ADN

– Quy luật bổ sung: hai base đối nhau của 2 chuỗi nucleotid nhất thiết phải là:

A - T
C - G

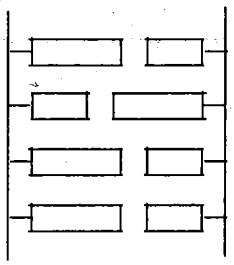
đồng thời có sự cân bằng của các base purin và pyrimidin A=T và G=C (phát hiện của Chargaff).

Như vậy nếu biết được các base trong chuỗi I thì cũng sẽ xác định được các base trong chuỗi II theo quy luật bổ sung.

Ví dụ: 5' A C G A... C 3' Chuỗi I
3' T G C T... G 5' Chuỗi II

Quy luật này được giải thích dựa trên 2 cơ sở:

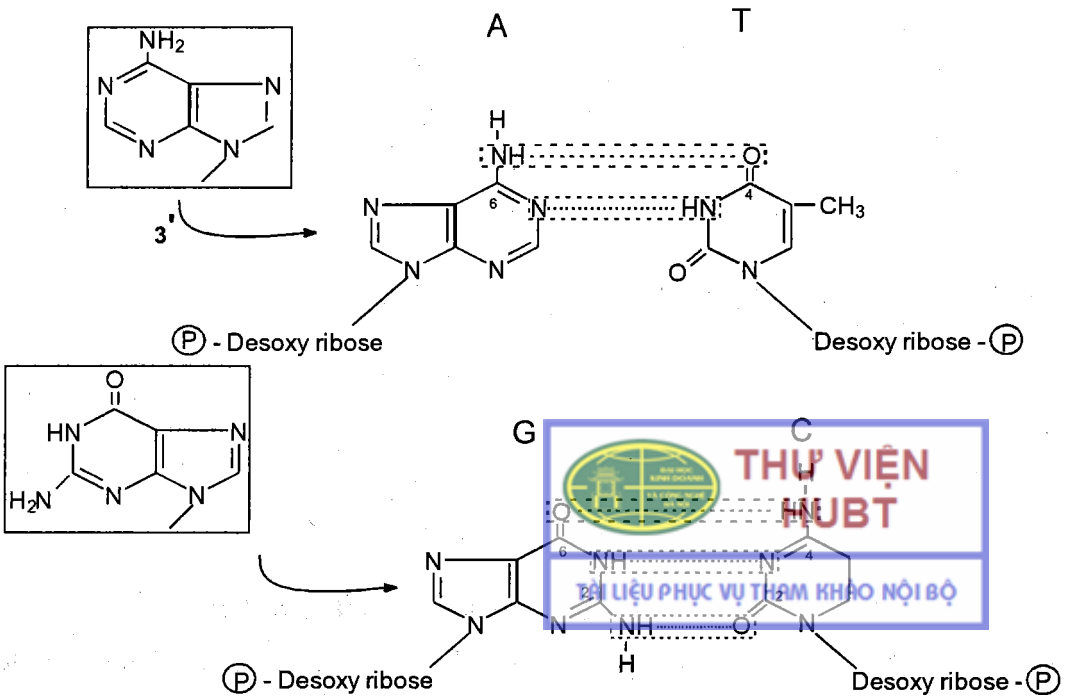
+ Về không gian: đối diện với một purin (có cấu tạo 2 vòng) bắt buộc phải một pyrimidin (chỉ có 1 vòng) và ngược lại.



Nếu 2 purin đứng cạnh nhau (có 4 vòng) sẽ chiếm quá nhiều chỗ, nhưng nếu 2 pyrimidin đứng cạnh nhau (có 2 vòng) thì sẽ cách nhau quá xa không thể tạo nên những liên kết bền vững. Vì vậy muốn có một cấu trúc xoắn kép đều đặn cần phải bảo đảm các đôi base có cùng một kích thước như nhau (hình 4.35).

Hình 4.35. Mỗi đôi base của ADN có kích thước như nhau

+ Các liên kết hydro giữa đôi base: các base bổ sung đối nhau được nối với nhau bằng các liên kết hydro (giữa các nhóm CO - NH_2 và N - NH). Hình 4.36 cho thấy số lượng liên kết hydro của các cặp A ::: T và C ::: G (sơ đồ hoá trên mặt phẳng).



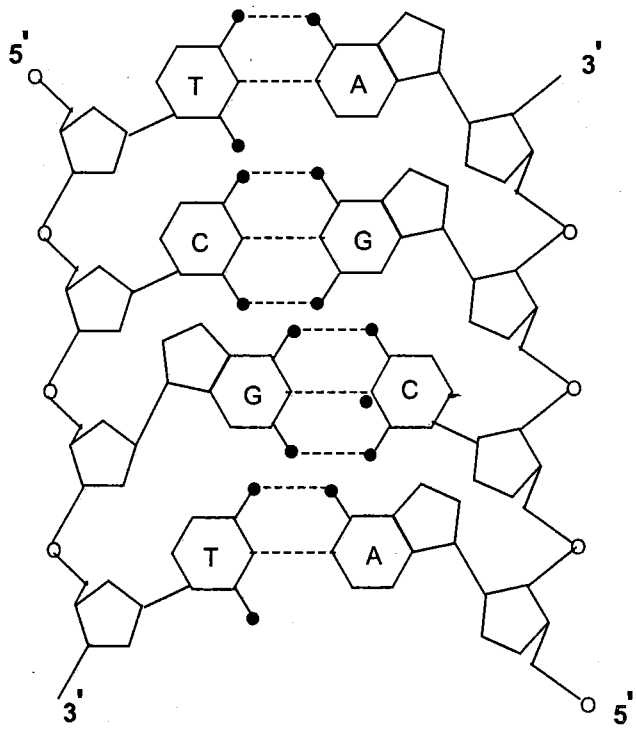
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.36. Hai liên kết hydro của cặp adenin - thymin và 3 liên kết hydro của cặp

Trên thực tế có thể có 2 cấu hình liên kết C - N ("syn hay anti") nối mỗi base với đường, nói cách khác một base có thể có 2 vị trí gắn vào deoxyribose. Trong A - ADN hay B-ADN, các base purin và pyrimidin đều có cùng một cấu dạng (anti). Còn trong Z -ADN, cytosin và thymin ở dạng anti nhưng guanin và adenin lại ở dạng syn.

Có thể biểu diễn trên mặt phẳng sơ đồ của một phân tử ADN như một cái thang (hình 4.37) trong đó deoxyribose và acid phosphoric nằm nối tiếp nhau trên 2 thanh dọc, còn các bậc thang được cấu tạo bởi các base bổ sung nằm đối nhau.

Trình tự các base ở đây đặc trưng cho mỗi phân tử ADN. Để cho đơn giản, theo quy ước, một chuỗi acid nucleic chỉ cần biểu diễn bằng tên trình tự các base,



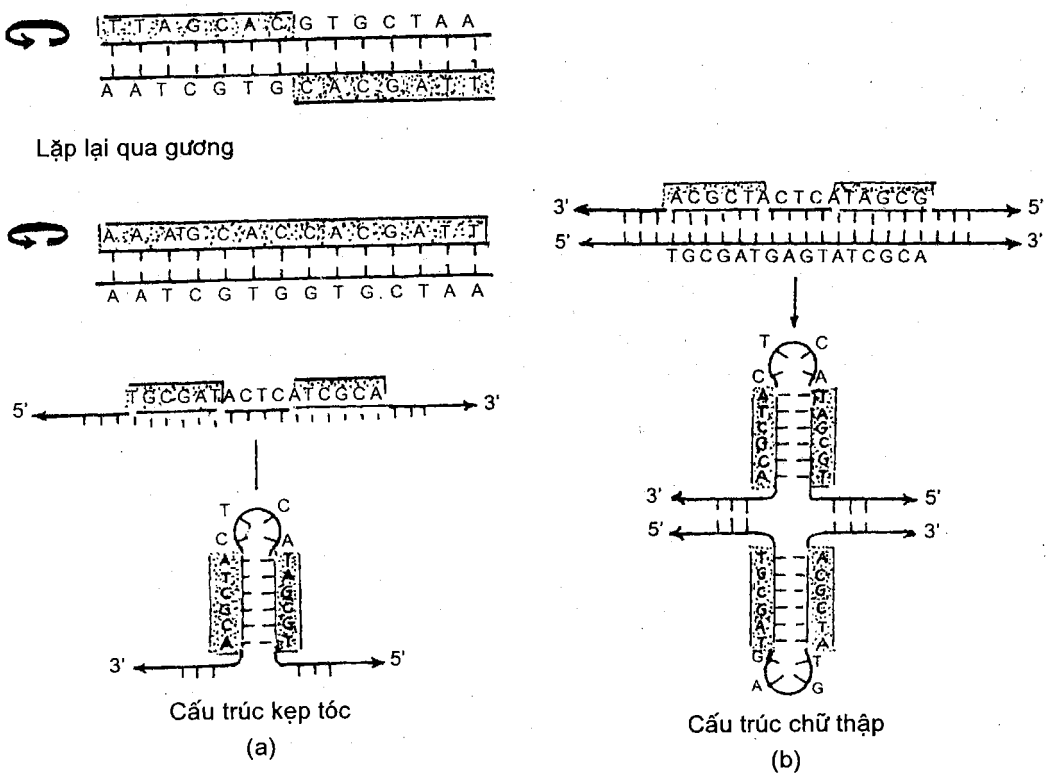
Hình 4.37. Sơ đồ một phân tử AND

có thể theo chiều dọc hoặc ngang. Ví dụ

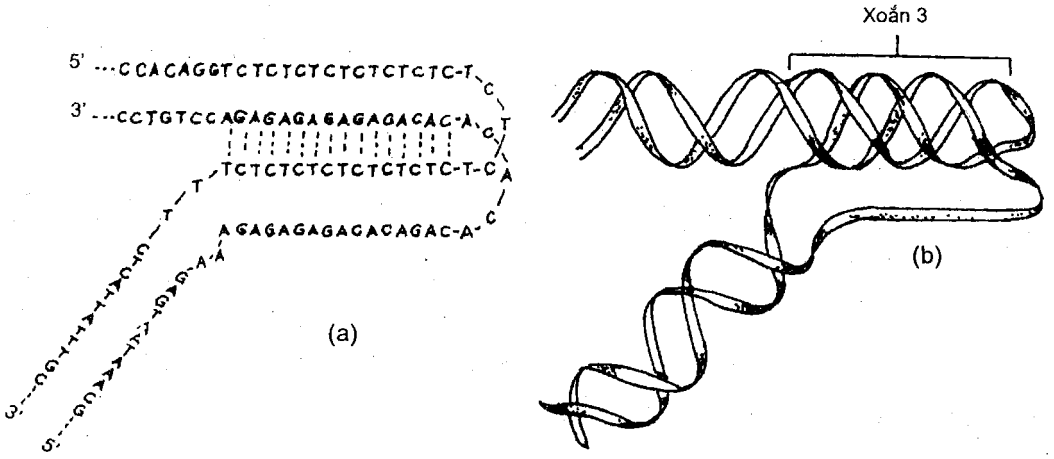
```
5'      C      G      3'
        T      A                    5' C T A G C G G A 3'
        A      T          hoặc      3' G A T C G C C T  5'
        G      C
        C      G
        G      C
        G      C
3'      A      T      5'
```

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhưng không được quên rằng trên thực tế đó là trình tự các nucleotid của ADN (C: "nucleotid có cytosin, T: "nucleotid có thymin", A: "nucleotid có adenin", G: "nucleotid có guanin").



Hình 4.38. Những cấu trúc ADN có trình tự nucleotid đặc biệt



Hình 4.39. ADN_H (cấu trúc xoắn 3 của ADN)

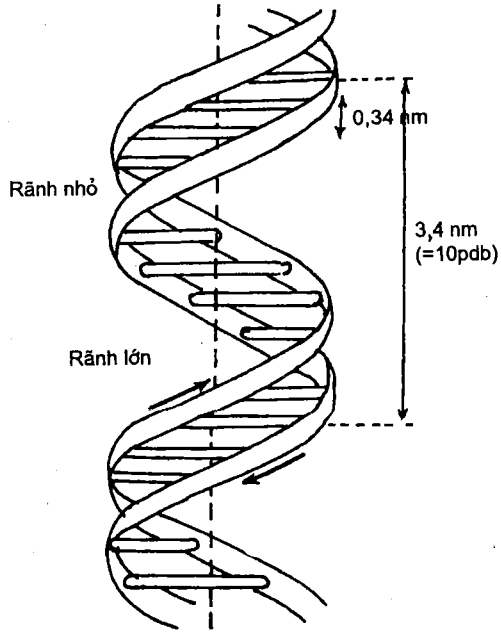
THƯ VIỆN HUBT

ADN có thể có nhiều cấu trúc đặc biệt trong đó các nucleotid có thể có trình tự lặp lại ngược nhau trên 2 sợi hay 1 sợi qua gương (repetition en miroir = mirror repeat) (giống như các từ khi đọc ngược xuôi đều giống nhau, ví dụ "ROTOR" và "NURSES RUN"); hoặc có thể tự bổ sung trên một sợi hay tách 2 sợi tạo thành cấu trúc "kẹp tóc" (E'pingle à cheveux = hairpin) và cấu trúc chữ thập (cruciforme) (hình 4.38). ADN-H là một cấu trúc đặc biệt trong đó các đoạn polypyrimidin /polypurin (ví dụ các nucleotid T và C trong hình 4.39) lặp lại qua gương có thể tạo thành cấu trúc xoắn ba (triple helix).

– Đặc tính xoắn cuộn của ADN:

Bằng nhiễu xạ tia X và những kết quả phân tích hoá lý về tương quan đặc hiệu của các base: A = T và G = C (chỉ số Chargaff), Watson và Crick (1953) đã đưa ra mô hình cấu trúc 3 chiều của ADN (prix Nobel 1962).

Trong không gian, hai chuỗi của ADN biểu hiện cấu hình xoắn (hình 4.40). Chúng tự quay xung quanh một trục tưởng tượng nằm ở trung tâm tạo thành kiểu xoắn kép phải. Nhiều dạng ADN xoắn theo kiểu này (A - ADN, B-ADN). Một dạng khác của AND (Z - ADN) có cấu hình xoắn trái. Sự phân loại này dựa vào đặc tính hoá lý khác nhau và kích thước vòng xoắn của các đôi base (ký hiệu db = pdb).



Hình 4.40. Cấu hình xoắn kép của ADN

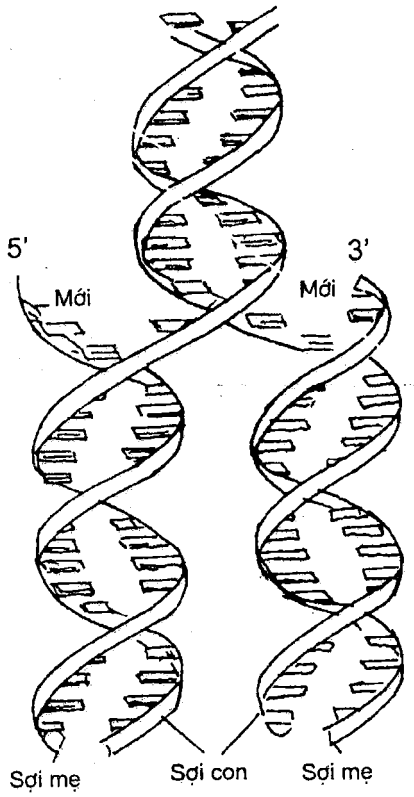
B - ADN là dạng sinh học quan trọng nhất (hình 4.40). Những mặt phẳng của base nằm vuông góc với trục xoắn chồng lên nhau thành từng tầng cách nhau một khoảng cách.

Mỗi vòng xoắn có 10db, mỗi db cách nhau 0,34nm. Khoảng cách giữa 2 vòng xoắn tương ứng với 10db là 3,4nm (trên thực tế có 10,5db và 3,6nm). Đường kính của xoắn là 2,4nm. Khung ưa nước được tạo từ các deoxyribose và phosphat nối tiếp nhau mang điện tích âm chĩa ra ngoài sợi kép, còn các base có cấu trúc kỵ nước nằm ở trong. Giữa 2 sợi trong không gian tạo thành những rãnh nhỏ và rãnh lớn. Hình 4.41 biểu diễn mô hình khung với các base chồng lên nhau (b) và mô hình đặc (c) của ADN.

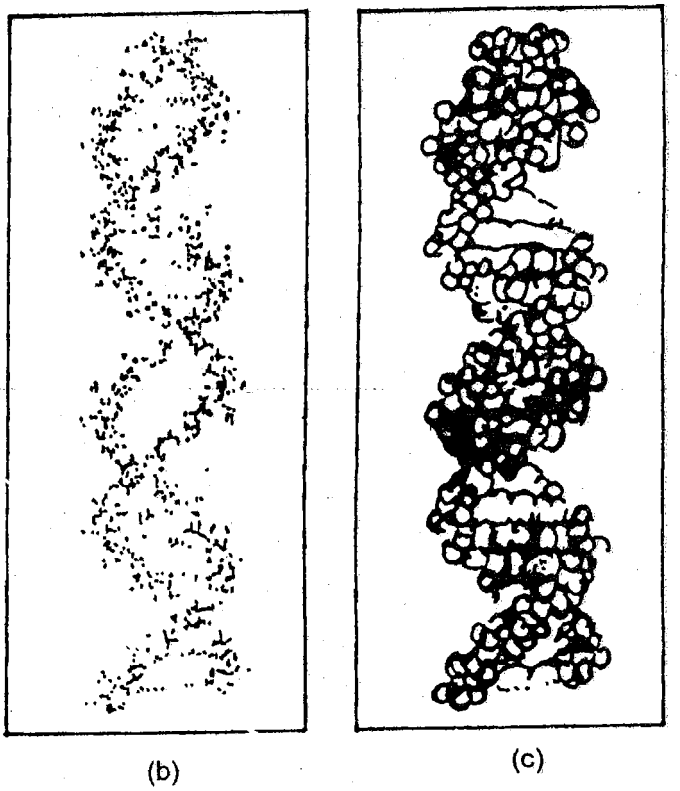
Những đặc tính quan trọng của mô hình cấu trúc xoắn kép của ADN đã được chứng minh bằng nhiều thí nghiệm hoá học và sinh học. Nhờ có mô hình này người ta đã giải thích được cơ chế truyền thông tin di truyền của ADN. Sự phiên bản cấu trúc ADN có thể thực hiện một cách logic bằng cách tách 2 sợi rồi sau đó tổng hợp một sợi mới bổ sung. Hình 4.42 là giả thuyết của Watson và Crick về sự phiên bản của ADN. Các sợi mẹ được tách ra và mỗi sợi tạo thành một khuôn mẫu để sinh tổng hợp một sợi con bổ sung.

THƯ VIỆN HUBT

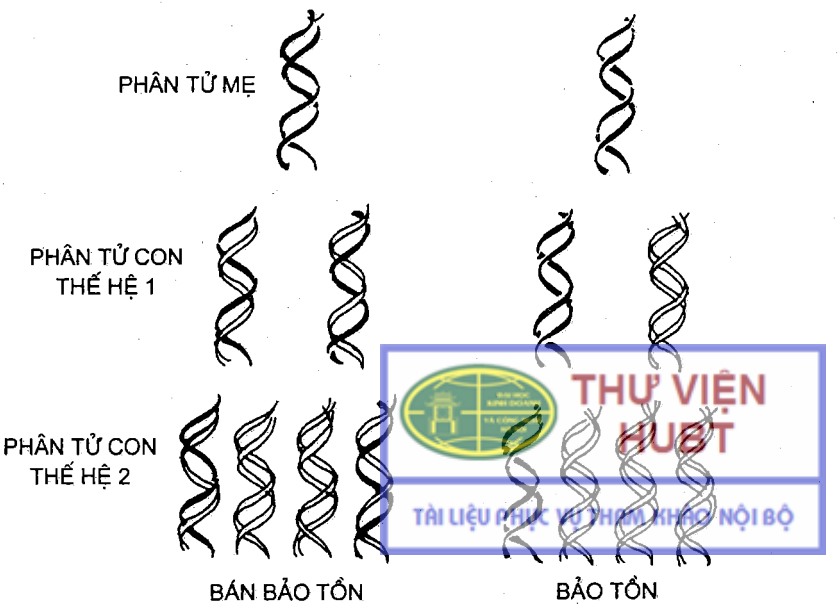
Sự phân bố các sợi ADN mẹ trong quá trình phiên bản có thể mang tính chất bảo tồn hay bán bảo tồn cho các thế hệ sau (hình 4.43), song đặc tính bổ sung của mô hình sợi kép ADN cho thấy khi nhân đôi, mặc dù mỗi tế bào con đều mang thông tin giống tế bào mẹ nhưng phân tử ADN của tế bào mẹ vẫn chỉ được bảo tồn một nửa. Cơ chế bán bảo tồn của sự phiên bản ADN đã được chứng minh bằng thí nghiệm của Meselson và Stahl sử dụng đồng vị phóng xạ nặng N và các kỹ thuật ly tâm.



Hình 4.42. Giả thuyết của Watson và Crick về sự phiên bản của ADN



Hình 4.41. Mô hình khung (b) và mô hình đặc ADN (c)



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.43. Sự phân bố các sợi ADN mẹ trong quá trình phiên bản

- Sự biến tính của AND:

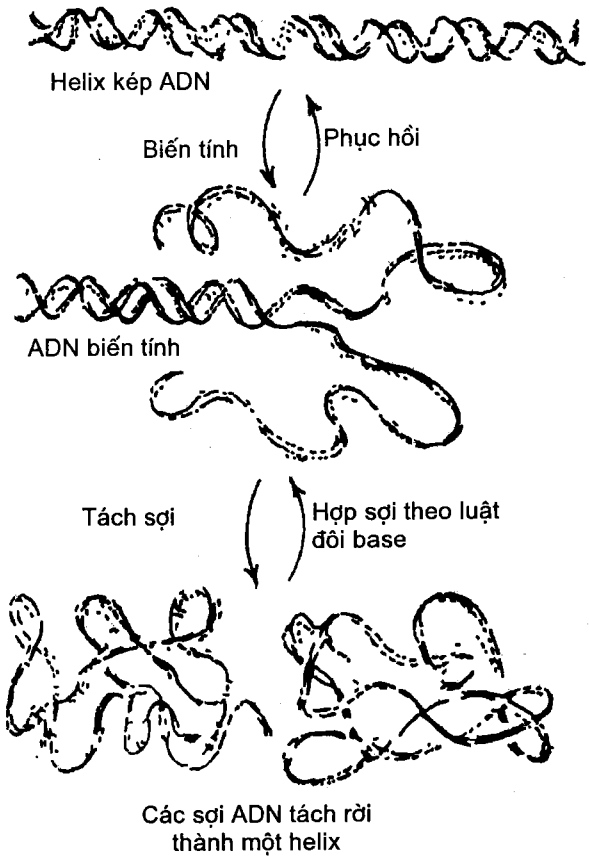
Ở pH 7,0 và nhiệt độ thường (20 - 25°C) dung dịch ADN có độ nhớt rất cao. Khi tăng nhiệt độ đến điểm chảy thì các liên kết hydro giữa các base bị đứt, không tạo được cấu trúc xoắn kép và 2 sợi bị tách rời, đó là hiện tượng biến tính của ADN. Phân tử ADN nào có nhiều đôi base C = G thì nhiệt độ chảy càng cao so với những phân tử có nhiều A = T. Sự biến tính của ADN kèm theo sự biến đổi quan trọng về tính chất vật lý như:

– Giảm độ nhớt.

– Tăng độ hấp thụ ánh sáng.

– Tăng mật độ quang.

Hiện tượng này có thể thuận nghịch khi làm giảm nhiệt độ từ từ hay lai tạo 2 sợi mới tuân theo quy luật bổ sung của các base: hiện tượng tái sinh (hình 4.44).



Hình 4.44. Các giai đoạn biến tính thuận nghịch và sự hồi phục của ADN

b. ADN của các sinh vật khác nhau:

ADN của mọi cơ thể sống (động vật, thực vật, vi khuẩn hay virus) đều có cấu trúc 2 sợi (trừ một số virus). Nhưng ADN của mỗi loài thì khác nhau về:

– *Số phân tử ADN* trong mỗi virus hay mỗi tế bào: ở virus hay E.coli chỉ có 1 phân tử ADN, trái lại ở tế bào động vật có nhiều hơn.

– *Độ dài của chuỗi*: có thể dao động từ vài nghìn đến hàng triệu nucleotid phân bố trên nhiều cromosom. Đơn vị độ dài thường dùng của ADN là "centimorgan" tương đương với khoảng 1000 kb (kb: kilobase).

– *Dạng ADN*: thẳng hay vòng.

– *Nơi khu trú trong tế bào*: ADN phân cách hay không phân cách với bào tương bởi màng nhân.

– *Trình tự các base* đặc trưng cho mỗi ADN. Chính trình tự này đóng vai trò sinh học chủ chốt vì nó sẽ quyết định việc cho những thông tin khác nhau.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sau đây là những đặc điểm của ADN ở virus, prokaryot (sinh vật nhân chuẩn) và eukaryot (sinh vật nhân sơ):

+ *Ở virus*: có các acid nucleic ngắn nhất; chúng được coi là những sinh vật sống nhưng không có khả năng tự sản xuất hay thực hiện các quá trình tổng hợp. Người ta phân biệt 2 loại virus ADN và virus ARN. ADN của virus do hàng nghìn đến hàng chục nghìn nucleotid tạo thành.

+ *Ở prokaryot* (E.coli): ADN không nằm trong nhân mà khu trú ở bào tương, nơi chỉ có 1 cromosom. Nó có dạng cấu trúc vòng (không có ý nghĩa về hình học mà về tính liên tục của chuỗi ADN). Cấu trúc ADN ở E.coli gồm khoảng 4 triệu cặp nucleotid dài hơn virus khoảng 1000 lần.

Plasmid là những mẩu ADN nhỏ cũng có cấu trúc vòng nằm ở cạnh cromosom mà không phụ thuộc vào ADN chính.

+ *Ở eukaryot*: ADN khu trú ở nhân tế bào; mỗi cromosom chứa một phân tử rất dài ADN, tất cả đều có cấu trúc helix. Tổng số nucleotid trong một tế bào ở người lớn (gấp 1000 lần so với vi khuẩn). Người ta đã tìm thấy khoảng 3 tỷ cặp nucleotid trong các phân tử ADN gồm 46 cromosom ở người. ADN này kết hợp với protein để tạo thành cromatin. Tuy nhiên cũng không nên nghĩ có sự tương quan giữa số lượng ADN và tính phức tạp của một cơ thể. Ví dụ, một số vi khuẩn (Batraciens), một số cây có số ADN trong tế bào nhiều gấp 30 lần so với người. Ở eukaryot, ADN còn được tìm thấy ở ngoài nhân như trong mitochondri (ty thể) và chloroplast (viên lục).

c. ADN của mitochondri (mt ADN):

Mitochondri là những tiểu phân có trong bào tương của tế bào eukaryot, chứa chủ yếu các protein của chuỗi hô hấp tham gia vào quá trình tổng hợp ATP.

Protein của mitochondri có 2 nguồn gốc: phần lớn được mã hoá bởi ADN của nhân, được tổng hợp trong bào tương rồi vận chuyển vào mitochondri; còn một số protein cấu tạo màng nội tế bào (đóng vai trò quan trọng trong các phản ứng phosphoryl hoá) được mã hoá bởi mt ADN có nhà máy tổng hợp protein riêng.

mt ADN ở người có những đặc điểm sau đây:

- Gồm 2 sợi và một trong 2 sợi chứa nhiều gen hơn.
- Có cấu trúc vòng kín (16.569 db).
- Mã hoá các rARN, tARN và mARN của mitochondri.
- Không chứa các intron (đoạn gen không được mã hoá trong quá trình phiên bản). Ở nấm men mt ADN có chứa intron.
- Có 2 gen chùm có khung nucleotid khác nhau (gen mã hoá tiểu đơn vị 8 và 6 của ATPase).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Do những đặc điểm trên, mã di truyền ở mitochondri hơi khác mã di truyền ở nhân. Mặt khác tính di truyền của mt ADN thực hiện ở bào tương: một bào thai được di truyền từ ADN của nhân tinh trùng và của nhân trứng nhưng đồng thời cũng được di truyền từ mt ADN của bào tương trứng mặc dù không có sự di truyền mitochondri của tinh trùng; do các mitochondri ở con chỉ được di truyền bởi mẹ, cho nên khi có đột biến mt ADN của mẹ thì chuỗi hô hấp của con cũng có thể bị rối loạn. Đó là nguyên nhân của các bệnh do mitochondri truyền bởi mẹ.

d. Topoisomer và topoisomerase:

Vấn đề này có nhiều liên quan đến cơ chế tác dụng của thuốc.

- *Topoisomer* là chỉ 2 dạng phân tử ADN vòng có trình tự base giống hệt nhau, nhưng có số vòng xoắn khác nhau. Số vòng xoắn này được biểu thị bằng hằng số Topo, nghĩa là, nếu giữ nguyên được các đầu tận thì dù ADN có bị biến dạng hay không cũng không thể làm thay đổi số vòng xoắn trong phân tử ADN. Đó là vì mỗi khi thay đổi số đôi base trong 1 vòng ở 1 đoạn ADN nào đó thì ngay lập tức sẽ có một quá trình "siêu xoắn" ngược lại (gọi là siêu xoắn dương hay siêu xoắn âm) xảy ra ở đầu hay cuối đoạn để bù trừ lại.

Trong tế bào, ở một số vi khuẩn, thực khuẩn thể và rất nhiều virus, ADN làm thành một vòng kín (các nhóm 3' và 5' hydroxyl và phosphoryl tự do đều bị loại, không còn các đầu tự do) và tồn tại ở 2 trạng thái:

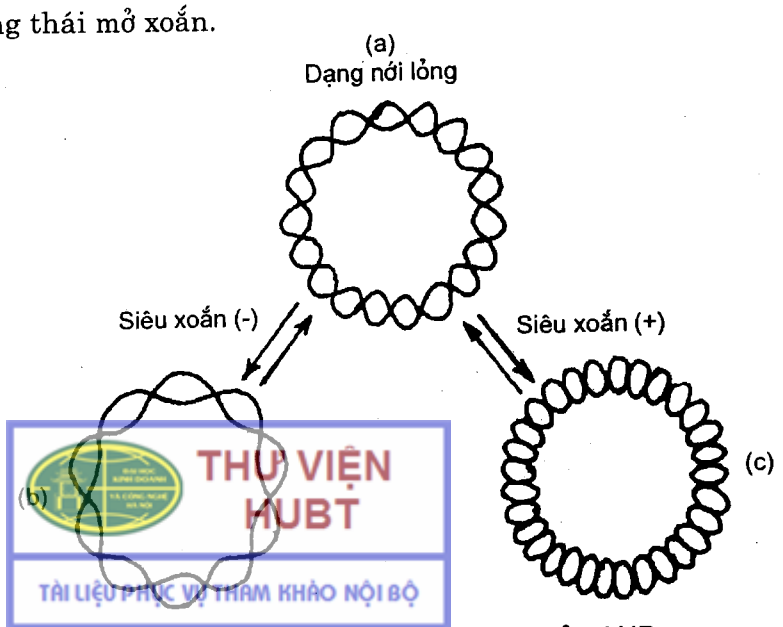
– *ADN nới lỏng* (relâche): là dạng có lực nén nhỏ nhất, đồng thời là cấu hình bền vững nhất của phân tử. Ở trạng thái này, mỗi vòng xoắn có 10db. Đối với ADN trong tế bào có dạng gần với B - ADN, mỗi vòng xoắn bao giờ cũng có 10,5db (Klug, Prix Nobel về hoá học - 1982) thay cho 10db.

– *ADN siêu xoắn (surenroulé):* là dạng có lực nén lớn do trục của mỗi chuỗi xoắn kép có thể tự quay xung quanh tạo thành một trạng thái siêu xoắn (supercoiling).

Có thể có 2 dạng siêu xoắn (hình 4.45).

+ Siêu xoắn dương: có số vòng xoắn nhiều hơn, cả 2 sợi đều xoắn theo cùng chiều kim đồng hồ tạo thành dạng siêu xoắn "phải";

+ Siêu xoắn âm: có số vòng xoắn ít hơn, trục của 2 sợi quay theo chiều "trái" kích thích mở xoắn và tách 2 sợi theo từng đoạn. Vì vậy siêu xoắn âm cũng chính là trạng thái mở xoắn.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 4.45. Ba dạng topoisomer của AND
(a): Dạng nới lỏng, (b): Dạng siêu xoắn âm, (c): Dạng siêu xoắn dương

• *Topoisomerase*: là những enzym xúc tác làm biến đổi số vòng xoắn của phân tử ADN. Chúng có khả năng tạo thành hay loại bỏ các dạng siêu xoắn trong mỗi chuỗi xoắn kép ADN bằng cách cắt tạm thời 1 hay 2 sợi của ADN rồi sau đó lại hàn lại.

Có 2 loại topoisomerase chính:

– Topoisomerase I: tác động chủ yếu vào các siêu xoắn (-) (không có tác dụng nới lỏng các siêu xoắn (+)), gây biến đổi ADN từ trạng thái siêu xoắn nén trở lại dạng nới lỏng ban đầu (thí nghiệm trên E.coli).

– Topoisomerase II: trong đó có gyrase của vi khuẩn là enzym đặc trưng nhất của loại này có tác dụng xúc tác cảm ứng hiện tượng siêu xoắn (-) trong ADN. Nói cách khác enzym này kích thích tạo siêu xoắn (-), mở xoắn của chuỗi xoắn kép ADN. Đây là điều kiện tiên quyết cho quá trình phiên bản và sao chép của ADN (trong trường hợp nói trên nó rất cần cho sự phát triển của vi khuẩn). Điều đó cũng chứng minh ADN siêu xoắn là dạng ưu việt trong các hệ thống sinh học nói chung.

Một enzym khác được phát hiện ở Archeobacteries (1984): enzym "gyrase đảo" ("gyrase reverse") có khả năng gây siêu xoắn (+) cho ADN. Nó đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ ADN của vi khuẩn này không bị biến tính ở nhiệt độ cao (Archeobactesries có thể sống được ở nhiệt độ > 80°C).

Hiện nay người ta đã chứng minh được cơ chế của nhiều thuốc có liên quan đến những enzym nói trên. Ví dụ:

+ Urotrate (Négram) hay noroxin được sử dụng trong điều trị nhiễm khuẩn đường tiết niệu do Colibacille là dựa trên cơ chế ức chế gyrase của Colibacille, do đó ngăn cản hiện tượng siêu xoắn (-) (bình thường do gyrase tạo ra rất cần cho quá trình sao chép ADN của vi khuẩn); kết quả là kìm hãm sự phát triển của Colibacille.

+ Topoisomerase II là đích của nhiều thuốc chống ung thư: các dẫn xuất adriamycin và của etoposide (VP - 16, VN - 26) tác động lên các khối u bằng cách làm bền vững (không hàn nối được) những chỗ đứt tạm thời của ADN ở chỗ u do topoisomerase II tạo ra ở trạng thái bình thường, do đó ngăn chặn khối u phát triển.

e. Z - ADN:

Z - ADN là ADN có cấu trúc xoắn kép "trái" được Rich phát hiện ở Mỹ năm 1979 trong môi trường có nhiều muối (ADN "phải" được tìm thấy vào cuối những năm 70). Từ 1982 mới thu được Z - ADN trong những điều kiện sinh lý (metyl hoá chuỗi ADN ở cytosin hay với sự có mặt của một số polyamin). Cuối 1982 nhờ sử dụng kháng thể đặc hiệu kháng Z - ADN đã phát hiện thấy Z - ADN trong cromosom của côn trùng và loài gặm nhấm, một năm sau phát hiện thấy trong cromosom ở người.

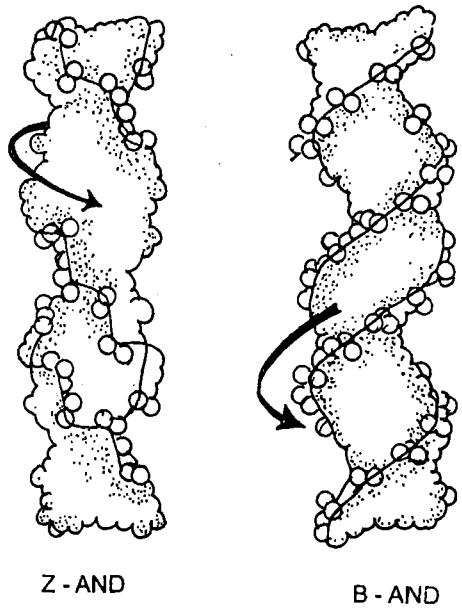
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Z - ADN không phải là hình ảnh của ADN "phải" qua gương mà có một cấu dạng khác hẳn (hình 4.46).

– Khung đường phosphat không tạo thành sợi xoắn đều đặn như trong B - ADN mà có hình dích - dắc (theo đúng tên gọi).

– Sợi xoắn hẹp và vặn ít hơn B - ADN, số db trên mỗi vòng xoắn nhiều hơn (12db trong khi B - ADN có 10 - 10,5db), chu kỳ xoắn là 4,6nm (B - ADN: 3,4nm) và khoảng cách giữa 2 sợi là 1,8nm (B - ADN: 2,4nm).

– Có sự xen kẽ 2 cấu dạng anti - syn (anti đối với C hay T và syn đối với G hay A), do đó tạo hình dích - dắc cho khung sợi xoắn Z. Sự xen kẽ của pyrimidin và purin tạo điều kiện hình thành cấu dạng Z - ADN.



Hình 4.46. Z - ADN và B - ADN

f. Chức năng sinh học của ADN:

Thông tin di truyền được lưu giữ trong chuỗi nucleotid xoắn kép là nguồn thông tin để tổng hợp mọi protein của tế bào cơ thể, đồng thời chúng là nguồn thông tin di truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Hai chức năng này đòi hỏi phân tử ADN phải là khuôn mẫu để sao chép thông tin cho ARN (trong trường hợp đầu) và để phiên bản thông tin trong các phân tử con của ADN (trong trường hợp sau).

Ngày nay người ta phát hiện thấy ADN không chỉ mang thông tin mã hoá theo trình tự nhất định của các nucleotid để chỉ huy quá trình tổng hợp protein, mà còn mang một thông tin "về cấu dạng" do một số trình tự nucleotid đem lại (ví dụ trình tự lặp lại của C - G). Nhờ có những thông tin về cấu dạng này mà các đoạn ADN có thể chấp nhận những cấu dạng khác nhau (B - ADN, Z - ADN...) và đóng vai trò quan trọng trong một số quá trình điều hoà sinh học đặc biệt là ở khâu sao chép. Vì vậy ADN không còn là một phân tử tĩnh theo quan niệm trước kia nữa mà còn là một phân tử có cấu trúc động có khả năng linh hoạt thay đổi cân bằng giữa các cấu dạng với nhau.

2.2.2. ARN

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

a. Đặc điểm về cấu tạo: ARN có một số đặc điểm khác với ADN (hình 4.48), acid ribonucleic được đặc trưng chủ yếu bởi:

– Đường pentose: ribose

– Các base: ACGU

– Một chuỗi nucleotid ngắn hơn nhiều so với ADN.

b. Quy luật kết hợp đôi base:

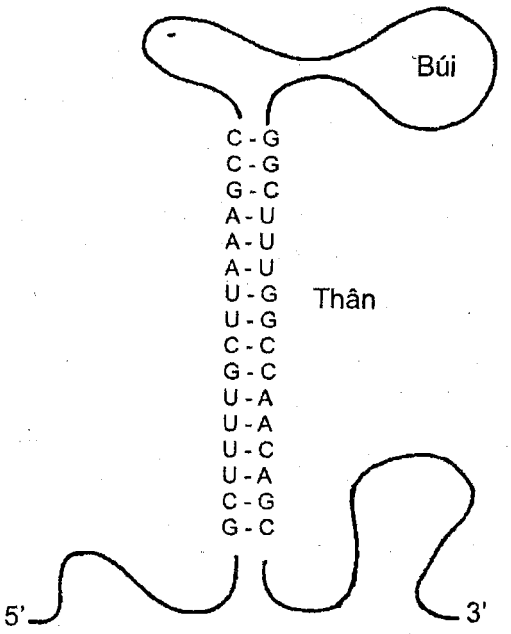
Sự kết hợp đôi base bổ sung thường gặp trong những trường hợp hoặc giữa 2 phân tử ARN khác nhau (vì 1 phân tử ARN chỉ có một sợi), hoặc trên cùng một phân tử ARN ở đoạn gập lại thành dạng "kẹp tóc" là nơi xảy ra hiện tượng "tự bổ sung" (hình 4.47).

Quy luật bổ sung giữa 2 sợi ARN giống như quy luật đôi base giữa 2 sợi ADN, chỉ khác U thay thế cho T khi cặp đôi với A:

A ⋮⋮ U

A ⋮⋮ U

Vì phân tử ARN là sợi đơn và chỉ bổ sung cho một trong hai sợi của một gen nên số lượng G không nhất thiết phải bằng C và A cũng không nhất thiết phải bằng U.

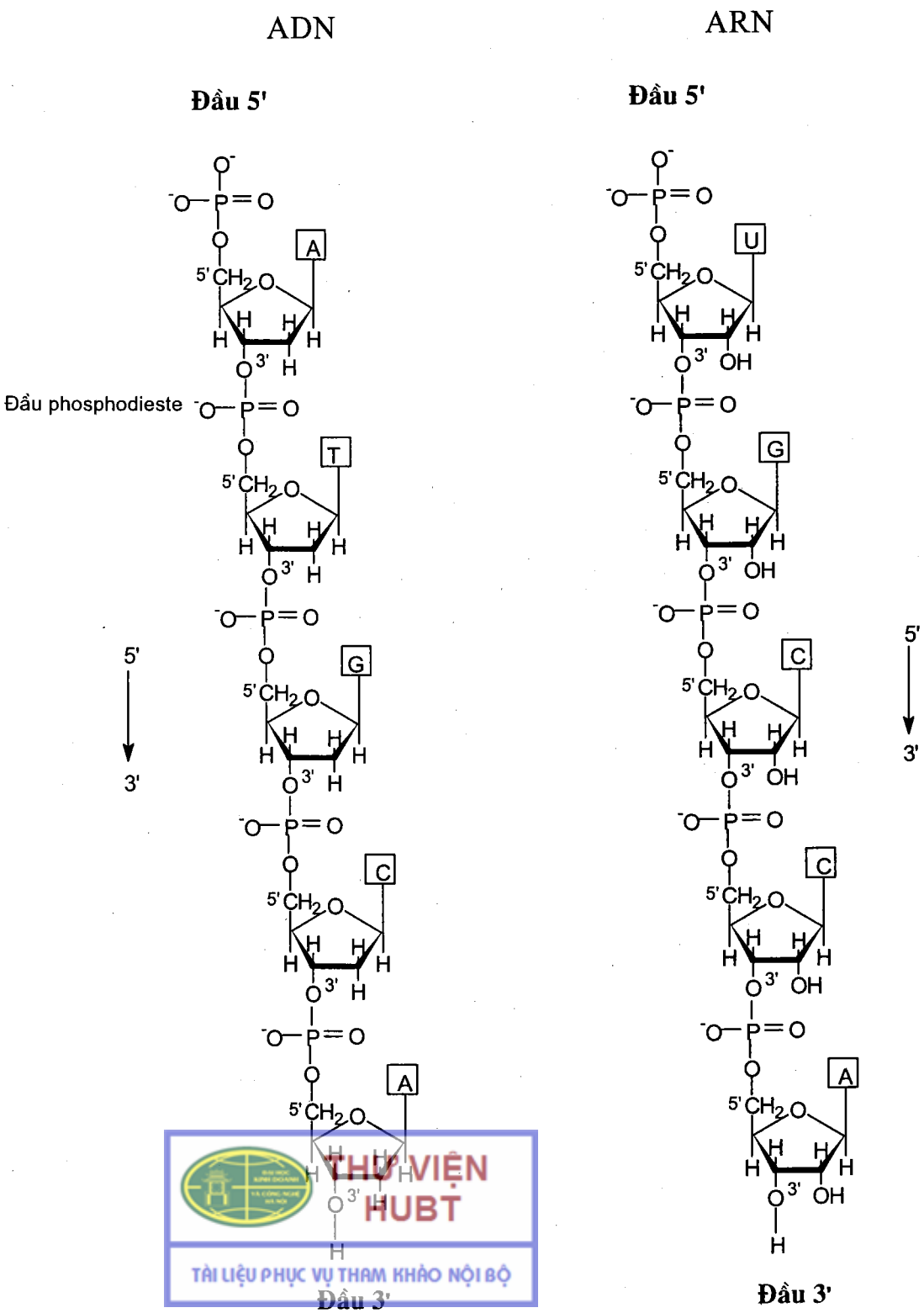


Hình 4.47. Cấu trúc dạng "kẹp tóc" của ARN

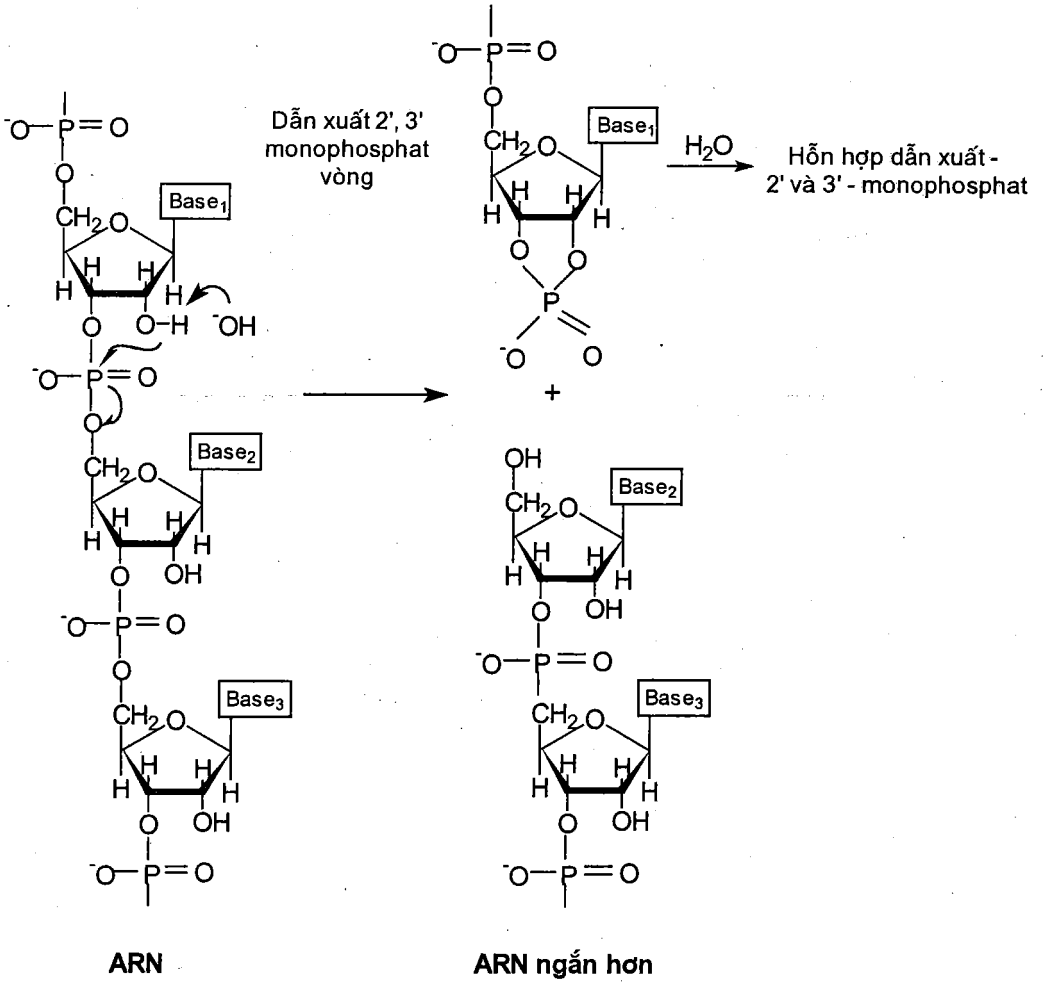
c. Phản ứng thuỷ phân ARN bởi kiềm:

Nhóm 2' hydroxyl của ARN (ADN không có nhóm chức này) tác động trực tiếp vào cơ chế phản ứng thuỷ phân ARN trong môi trường kiềm. Sản phẩm đầu tiên là dẫn xuất 2', 3'- monophosphat vòng, chất này được thuỷ phân nhanh chóng tạo hỗn hợp nucleosid 2' và 3' - monophosphat (hình 4.49). Như vậy 2', 3', 5' triester là chất trung gian cần cho quá trình thuỷ phân này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 4.48. So sánh cấu tạo của ADN và ARN



Hình 4.49. Phản ứng thuỷ phân ARN trong môi trường kiềm

d. Các loại ARN và chức năng sinh học:

Tế bào có 4 loại ARN chính:

- ARN ribosom (rARN) chiếm nhiều nhất (khoảng 82% tổng số ARN tế bào)
- ARN vận chuyển (tARN) = ARN hoà tan (sARN khoảng 16%)
- ARN thông tin (mARN) (khoảng 2%)
- ARN nhỏ ở nhân (sn ARN) (< 1%).

- *ARN ribosom (rARN):*

– Ribosom khu trú ở bào tương và thật sự là "nhà máy sản xuất protein" của tế bào. Người ta cũng tìm thấy ribosom trong mitochondri.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU CHỈ DÙNG THAM KHẢO NỘI BỘ

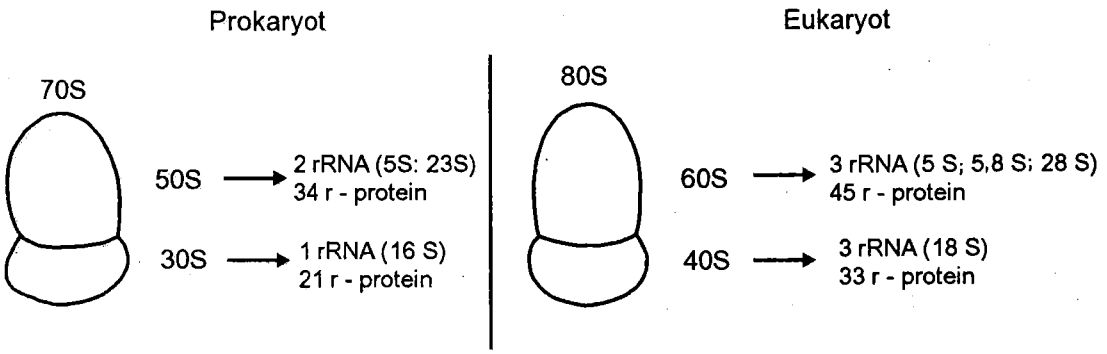
Hình 4.50 là sơ đồ cấu trúc của ribosom ở E. coli (prokaryot và eukaryot) dựa vào những kết quả nghiên cứu bằng các kỹ thuật hoá sinh, miễn dịch và kính hiển vi điện tử.

Một ribosom được tạo từ 2 tiểu đơn vị:

+ Một tiểu đơn vị lớn

+ Một tiểu đơn vị nhỏ.

Đơn vị đo tốc độ lắng được biểu thị bằng chữ s (svedberg). Hệ số lắng của một ribosom không chỉ phụ thuộc vào khối lượng hình thái mà còn phụ thuộc cả độ rắn của nó; vì vậy khi kết hợp 2 tiểu đơn vị 50s và 30s sẽ cho một ribosom 70s, cũng như vậy 60s + 40s → 80s.



Hình 4.50. Các rARN và r - protein

Mỗi tiểu đơn vị của ribosom bao gồm hỗn hợp protein ("r - protein) và ARN ("r - ARN) trong đó rARN là thành phần chính chiếm khoảng 65%. Khi 2 tiểu đơn vị lớn và nhỏ của ribosom kết hợp với nhau sẽ tạo ra một rãnh để cho mARN đi qua.

Như vậy so với prokaryot, ở eukaryot ribosom hơi lớn hơn (80s gồm 40s + 60s), thành phần hơi khác hơn (có nhiều protein hơn) và rARN hơi dài hơn. Có 4 loại rARN 5s; 5,8s; 28s và 18s). Sự khác nhau về cấu tạo này có ý nghĩa lớn. Ví dụ một số kháng sinh tác động vào khâu ribosom nhưng chỉ tác dụng đặc hiệu lên ribosom của vi khuẩn mà không hề gây tổn thương ribosom ở người.

– Nói chung ribosom ở bào tương khá bền vững và có nhiều khả năng phiên mã.

Người ta chưa biết chính xác vai trò của rARN nhưng có thể kể đến:

+ Vai trò cấu tạo (tham gia một phần chất liệu của ribosom)

+ Vai trò tạo điều kiện cố định dễ dàng các ARN khác (tARN, mARN) lên ribosom để thực hiện nhiệm vụ phiên mã.

+ Vai trò nhận dạng vị khuẩn trên mARN ở vị trí mở đầu của quá trình phiên mã (AUG): lại tạo một trình tự nucleotid ở đầu 3' của rARN 16s với một chuỗi nucleotid ngắn (gọi là Shine - Degarno) nằm ở phía trên của AUG.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thành phần ribosom ở động vật có vú được nêu trong bảng 4.3 gồm khối lượng, kích thích và số lượng base nucleotid.

Bảng 4.3. Thành phần của ribosom ở động vật có vú

Thành phần		Protein		ARN		
	(P.M)	Số lượng	Khối	Loại	Khối	Bases
Tiểu đơn vị 40S	$1,4 \times 10^6$	~ 35	7×10^5	18S	7×10^5	1900
Tiểu đơn vị 60S	$2,8 \times 10^6$	~ 50	1×10^6	5S	35000	120
				5,8S	45000	160
				28S	$1,6 \times 10^6$	4700

- *ARN vận chuyển (tARN):*

tARN gồm khoảng 100 nucleotid có trọng lượng phân tử ≈ 25000 và cũng được sinh ra do biến đổi một tiền chất ở nhân.

tARN có vai trò vận chuyển các acid amin ở bào tương tới ribosom để tổng hợp protein. Có thể coi đó là "yếu tố thích nghi" để phiên dịch thông tin chứa trong trình tự nucleotid của mARN.

Trong mỗi tế bào có ít nhất 20 phân tử tARN và mỗi một tARN (cũng có thể là nhiều tARN) có nhiệm vụ vận chuyển cho một acid amin trong số 20 acid amin cần để tổng hợp protein.

Mặc dù mỗi tARN đặc hiệu có thể phân biệt các acid amin khác nhau, song chúng vẫn có những đặc điểm chung về cấu trúc. Trình tự nucleotid trong chuỗi tARN (cấu trúc bậc I) cùng với quy luật tự bổ sung tạo ra cấu trúc bậc II giống như hình một cái lá của cây hoa nhép (lá chẽ ba) (hình 4. 51). Các tARN đều gồm có 4 "cánh tay" chính.

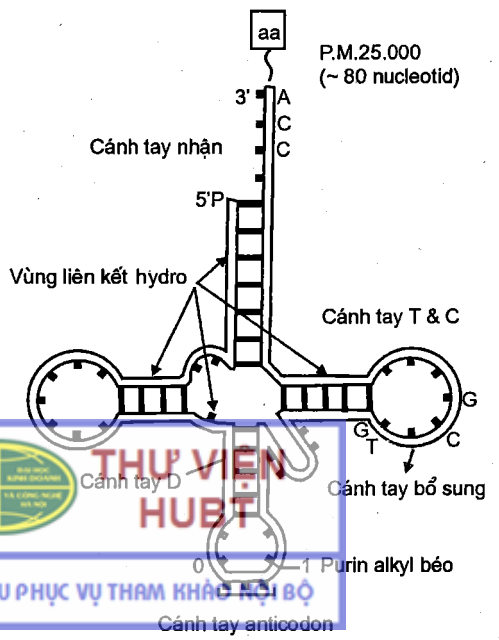
– Cánh tay nhận: tạo bởi những đôi base và tận cùng bằng chuỗi CCA (5'→ 3'). Nhóm carboxyl của acid amin gắn vào nhóm 3' hydroxyl của adenosin bằng liên kết este.

– Cánh tay anticodon (đối mã) tạo bởi những đôi base và một vòng có base không cặp đôi trên đó có một nhóm anticodon gồm 3 nucleotid (gọi là triplet) đóng vai trò rất quan trọng trong việc nhận dạng bộ 3 nucleotid (codon) trên mARN.

Liên kết codon - anticodon dựa trên nguyên tắc đối song và bổ sung giữa các base.

– Cánh tay D có tên như vậy là do có mặt của base dihydro uridin.

– Cánh tay T ψ C có chứa chuỗi T, pseudouridin và C.



Hình 4.51. Một aminoacyl tARN điển hình

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

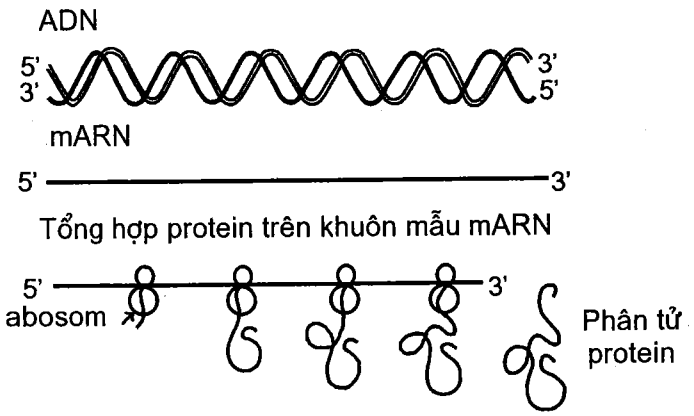
– Cánh tay bổ sung là đặc điểm thay đổi nhất của tARN và đó là cơ sở cho sự phân loại 2 nhóm tARN: nhóm I (chiếm khoảng 75% tổng số tARN) gồm 3 - 5db và nhóm 2 gồm 13 - 21db có thêm cấu trúc vòng.

Cấu trúc bậc II của tARN chính là sự ghép đôi base trong các "cánh tay" này, đó cũng là đặc điểm không thay đổi của tARN.

tARN ở eucaryot ít bền vững hơn ở prokaryot.

- *ARN thông tin (mARN):*

Sở dĩ gọi ARN "thông tin" vì nó mang một phần thông tin di truyền chứa trong ADN để chuyển tới ribosom làm nhiệm vụ tổng hợp protein. Hình 4.52 là sự biểu thị thông tin di truyền của ADN nhờ mARN. Thông tin này được các ribosom dịch mã tạo thành một phân tử protein đặc hiệu. Khái niệm về thông tin do F. Jacob và J Monod đề xướng năm 1961 (prix Nobel về sinh lý và y học 1965).



Hình 4.52. Vai trò là khuôn mẫu truyền thông tin từ ADN của mARN trong quá trình tổng hợp protein

Đời sống của mARN rất ngắn, ngược với tARN có đời sống dài hơn nhiều (vì sau khi giải phóng aa ở ribosom nó được sử dụng lại rất nhiều lần). Ở vi khuẩn mARN sống khoảng vài phút, còn ở eukaryot, mARN bền vững hơn (từ vài phút đến vài ngày). mARN được đổi mới rất nhanh, chúng nhanh chóng được tổng hợp nhưng cũng nhanh chóng bị thoái hoá. Giống như những bông hồng chúng chỉ sống cho tới khi truyền được một thông tin.

Tuy nhiên mARN vẫn có thể kịp đọc được nhiều lần ở khâu ribosom.

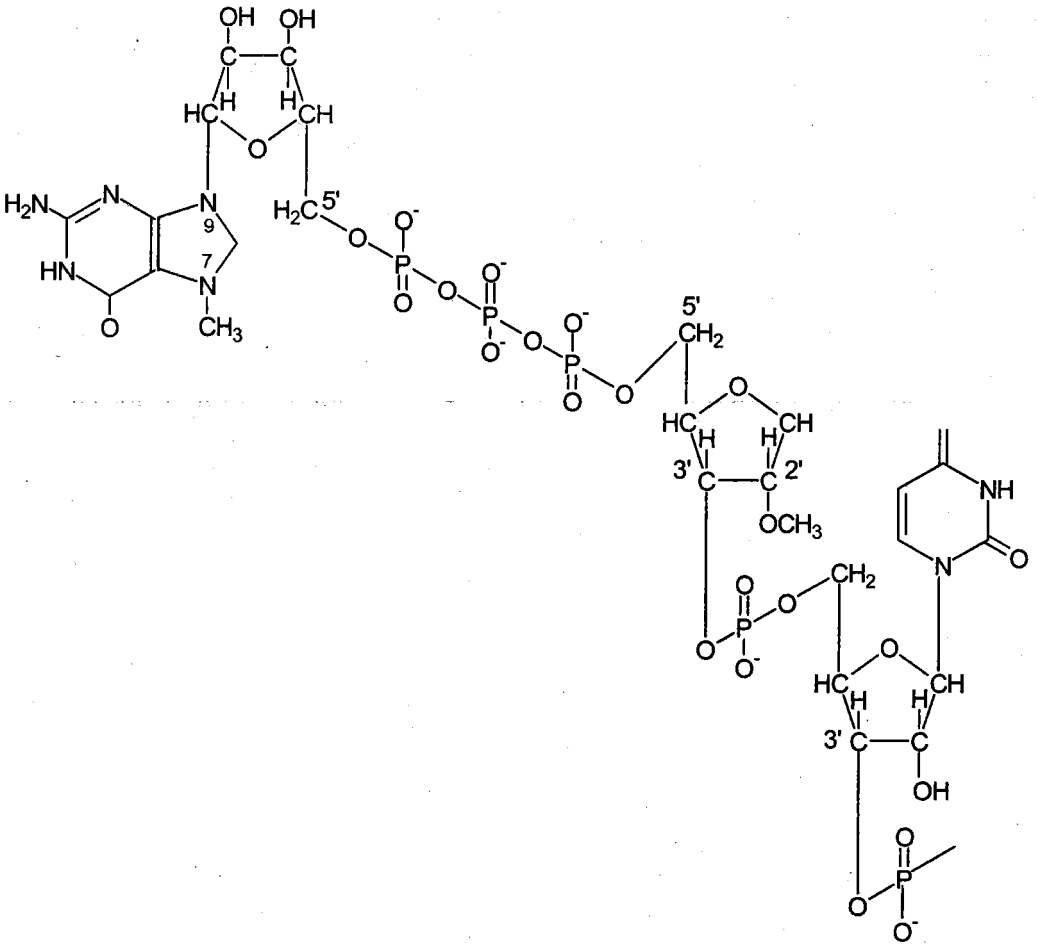
Các mARN đặc biệt là ở eukaryot có những đặc điểm hoá học giống nhau.

+Đầu 5' của mARN được kết thúc bởi 7 - metyl guanosin triphosphat (cấu trúc "mũ"). Nhóm này gắn vào 5' - hydroxyl của 2' - O - metyl ribonuleosid (hình 4.53).

Thông thường các mARN chứa trong phân tử các dẫn xuất 6 - metyl adenylat và các nucleotid khác có 2' - O ribose đã gắn metyl. Cấu trúc này có thể tham gia vào sự nhận dạng của mARN bởi các hệ thống phiên mã.

Sự tổng hợp protein chỉ thực sự bắt đầu bằng quá trình phiên mã này.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 4.53. Cấu trúc "mũ" gắn vào đầu 5' của mARN

+ Đầu 3' - hydroxyl của phần lớn mARN được gắn vào một chuỗi poly adenylat gồm từ 20 đến 250 gốc nucleotid. "Đuôi" poly A này có thể đóng vai trò duy trì tính ổn định nội tế bào của mARN đặc hiệu. Phản ứng kết hợp đôi base của "đuôi poly A" với các oligo desoxy thymidin gắn trên cellulose được sử dụng để phân biệt mARN với các loại ARN khác.

Trong tế bào động vật kể cả người, mARN trong bào tương cũng được sản xuất từ một tiền chất ở nhân.

- *ARN nhỏ bền vững:*

Đặc điểm chủ yếu của những phân tử này là được phân bố ở nhân, bào tương hay ở cả 2 nơi, kích thước của chúng thay đổi từ 90 - 300 nucleotid và có mặt trong khoảng từ 100.000 đến 1.000.000 phiên bản cho mỗi tế bào.

THƯ VIỆN HUBT

Có lẽ các tiểu phần nhỏ ARN này tham gia một cách có ý nghĩa vào quá trình điều hoà gen. ARN U_7 tham gia tạo các đầu 3' của mARN của histon; ARN U_4 và U_6 cần cho việc tổng hợp poly A; ARN U_1 tham gia nuôi dưỡng các intron và sự trưởng thành của mARN. Một số đặc điểm của các ARN nhỏ bền vững được ghi trong bảng 4.

Bảng 4.4. Một số ARN nhỏ bền vững trong tế bào động vật

Tên	Độ dài (nucleotid)	Số phân tử / tế bào	Khu trú
U1	165	1×10^6	snARN nucleoplasmic
U2	188	5×10^5	Nucleoplasm
U3	216	3×10^5	Nucleol
U4	139	1×10^5	Nucleoplasm
U5	118	2×10^5	Nucleoplasm
U6	106	3×10^5	Hạt quanh nhiễm sắc
4,5S	91 - 95	3×10^5	Nhân và bào tương
7S	280	5×10^5	
7 -2	290	1×10^5	
7 - 3	300	2×10^5	Nhân

e. Chức năng sinh học của ARN:

Hầu hết các loại ARN đều tham gia vào một số khâu trong quá trình tổng hợp protein. Ở bào tương, ARN thông tin (mARN) đóng vai trò là khuôn mẫu để tổng hợp protein, ARN ribosom (rARN) tham gia tạo ribosom là nơi tổng hợp protein, ARN vận chuyển (còn gọi là ARN hoà tan - tARN hay sARN) đóng vai trò phiên dịch thông tin của ARN thành các trình tự acid amin đặc hiệu trùng hợp thành protein.

Nhiều ARN được tổng hợp từ các khuôn mẫu của ADN bị thoái hoá ở nhân và không thể có những vai trò về cấu trúc và thông tin ở bào tương. Tuy nhiên trên tế bào người nuôi cấy người ta phát hiện thấy một loại ARN nhỏ ở nhân (snARN) mặc dù không tham gia trực tiếp vào quá trình tổng hợp protein nhưng đóng vai trò trong sự chuyển dạng mARN và trong cấu trúc của tế bào.

Một số virus động vật và thực vật mang chất liệu di truyền là ARN nhiều hơn là ADN. Nhiều virus ở động vật đặc biệt là Retrovirus được sao chép nhờ một enzym ADN polymerase phụ thuộc ARN gọi là enzym sao chép ngược (reverse transcriptase) để sản xuất ra bản sao ADN 2 sợi từ genom ARN của chúng. Bản sao này được chuyển vào vật chủ và sau đó đóng vai trò là khuôn mẫu để biểu thị gen và để sao chép các genom mới của ARN virus từ khuôn mẫu này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 5

ENZYM

MỤC TIÊU

1. *Nêu được đặc điểm sinh học và bản chất hoá học của enzym*
2. *Trình bày được cách đọc tên và phân loại enzym theo cấu tạo nguồn gốc, theo kiểu xúc tác của enzym.*
3. *Kể được 5 đặc điểm cấu trúc phân tử và 2 tính chất đặc hiệu của enzym*
4. *Giải thích được cơ chế xúc tác của enzym*
5. *Trình bày được động học enzym*
6. *Nêu được cấu tạo và vai trò của 6 loại coenzym*
7. *Vẽ và giải thích được 3 kiểu biểu diễn động học enzym bằng đồ thị*

1. Lịch sử và định nghĩa

Năm 1814 Kirchhoff phát hiện ra dịch chiết lúa đại mạch nẩy mầm thuỷ phân được tinh bột, đến năm 1833 Paien và Pecxo tủa được amylase rồi sau đó Bucne đã đặt cơ sở cho nghiên cứu enzym. Đầu thế kỷ XX enzym được nghiên cứu mạnh mẽ, một số enzym được kết tinh như urease (1926 - Summer) pepsin, trypsin, chymotrypsin (1930 - Northrop). Đến nay đã xác định hơn 2000 enzym khác nhau trong đó có hàng trăm enzym được tinh chế dưới dạng kết tinh. Tuy vậy nhiều tồn tại đáng được chú ý trong nghiên cứu như điều hoà ở mức độ gen và cơ chế tự điều hoà của gen.

Enzym được định nghĩa như sau: enzym là chất xúc tác sinh vật học có bản chất protein.

2. Cấu tạo phân tử

Enzym có khả năng và hiệu lực xúc tác rất lớn ở nhiệt độ thường và có tính đặc hiệu rất cao cho nên cấu tạo phân tử của enzym rất tinh vi và phức tạp. Enzym có bản chất protein, phân tử lượng lớn thường là 10.000 đến 1.000.000. Ví dụ phân tử lượng của ribonuclease là 12.000, glutamat dehydrogenase là 1.000.000, urease là 483.000; đa số enzym có hình dạng phân tử thuộc loại protein hình cầu. Có loại enzym đơn nguyên nhưng cũng có loại enzym đa nguyên do nhiều đơn vị nhỏ tạo nên, mỗi đơn vị nhỏ là một chuỗi polypeptit. Dung dịch enzym có tính chất dung dịch keo. Enzym không bền với nhiệt, ở nhiệt độ cao enzym mất tính xúc tác. Các yếu tố gây biến tính protein như acid hay kiềm, muối kim loại nặng làm cho enzym mất hoạt tính.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.1. Thành phần cấu tạo của enzym

Enzym có thể chia hai loại theo cấu tạo hoá học: enzym đơn giản và enzym phức tạp. Loại đơn giản chỉ là những phân tử protein đơn thuần, sản phẩm thuỷ phân chỉ gồm các acid amin, thí dụ enzym thuộc loại hydrolase. Enzym phức tạp

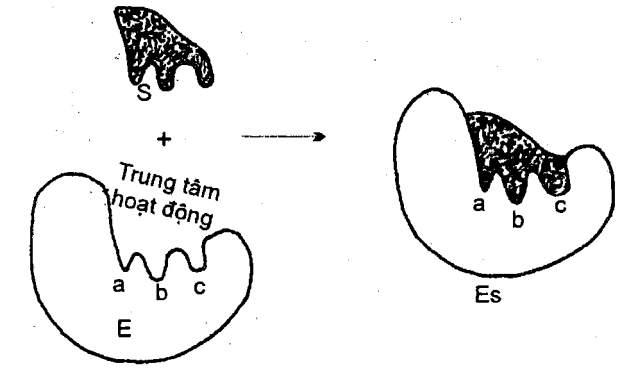
ngoài phần protein còn có phần khác không phải protein: phần protein gọi là apoenzym thể hiện tính chất cơ bản của enzym và tính đặc hiệu của enzym; phần không phải protein được gọi là coenzym (còn gọi là nhóm ngoại) thường có chứa vitamin, phần này chung cho nhiều enzym, trong quá trình xúc tác thì biến đổi. Trong thành phần cấu tạo của nhiều enzym có chứa kim loại. Một số enzym được gọi là protein thuần như trypsin, chymotrypsin cùng chứa kim loại (ví dụ: sắt trong phân tử enzym cytocrom oxydase, catalase, peroxydase). Các ion kim loại là thành phần cấu tạo của enzym nhưng có thể dễ dàng tách khỏi phân tử enzym. Ví dụ: polyphenol oxydase chứa đồng, carbonic anhydratase chứa Zn, một số peptidase chứa Mn hoặc, Fe hay Mg, phosphatase chứa Mg, arginase chứa Mn. Những trường hợp kể trên, khi mất ion kim loại, enzym sẽ mất hoạt tính và hoạt tính được phục hồi khi cung cấp lại các ion trên. Vai trò ion kim loại có thể liên kết giữa enzym với cơ chất, liên kết giữa apoenzym với coenzym. Zn nối coenzym NAD với alcol dehydrogenase và cơ chất. Kim loại còn tham gia vào chuyển điện tử như Fe trong cytocrom. Nhiều trường hợp kim loại còn ổn định cho phân tử enzym giữ vững sự kết hợp giữa các đơn vị nhỏ với nhau trong phân tử enzym.

2.2. Trung tâm hoạt động của enzym

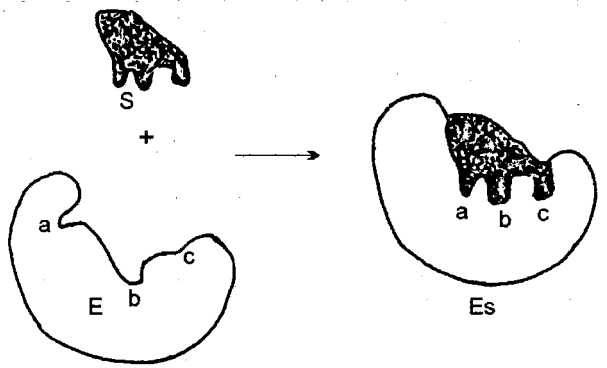
Mỗi hoạt động xúc tác của enzym đều thông qua bộ phận đặc biệt của phân tử enzym gọi là trung tâm hoạt động của enzym. Trung tâm này gồm những nhóm hoá học, những liên kết peptit tiếp xúc trực tiếp với cơ chất. Một phần hoặc toàn bộ phân tử enzym được coi là có khung cấu trúc thích hợp để duy trì hình dạng cần thiết đối với tính chất đặc hiệu và hiệu lực xúc tác. Do vậy khi làm thay đổi hình dạng của chúng dẫn đến khả năng xúc tác bị thay đổi. Trung tâm hoạt động của enzym thường bao gồm những acid amin có nhóm hoá học có hoạt tính cao như serin (-OH), histidin (vòng imidazol), cystein (- SH), lysin (-NH_2), tryptophan (indol), glutamic (- COOH). Các gốc acid amin tạo nên trung tâm hoạt động không nhất thiết sắp xếp ở cạnh nhau trong cấu trúc bậc I nhưng gần nhau trong cấu trúc bậc 2, 3 và 4. Ion kim loại có vai trò trong trung tâm hoạt động. Coenzym là thành phần quan trọng của trung tâm hoạt động.

Có enzym có một trung tâm hoạt động nhưng có enzym có hai hay nhiều trung tâm hoạt động, có thể giống nhau hoặc khác nhau về cấu tạo hoặc chức năng. Chỉ có cơ chất đặc hiệu có cấu trúc thích hợp với trung tâm hoạt động của enzym để tạo thành phức hợp enzym - cơ chất, quá trình xúc tác chỉ xảy ra khi cơ chất gắn vào trung tâm hoạt động. Fisher (1894) cho rằng trung tâm hoạt động được hình thành sẵn với một cấu tạo nhất định và chỉ cho phép cơ chất có cấu tạo tương ứng kết hợp vào, có thể ví như "ổ khoá" và "chìa khoá". Thuyết này đã giải thích được một số trường hợp nhưng không giải thích đầy đủ nhiều kết quả thu được trong thực nghiệm. Do vậy Koshland (1958) đã đưa ra giả thuyết khác là mô hình "tiếp xúc cảm ứng". Theo thuyết này thì đặc điểm của vùng trung tâm hoạt động là rất mềm dẻo và linh hoạt, chưa ở tư thế sẵn sàng hoạt động, chỉ khi tiếp xúc với cơ chất gây tác dụng cảm ứng không gian làm biến đổi hình dạng phân tử enzym tạo nên trung tâm hoạt động định hướng một cách chính xác để gắn với cơ chất. Trong quá trình này cấu trúc enzym bị biến đổi đã làm cho một số tính chất lý hoá tính của enzym thay đổi theo (hình 5.1 và hình 5.2).

THƯ VIỆN HUBT



Hình 5.1. Tác dụng của cơ chất (S) với trung tâm hoạt động của enzym (E) theo Fisher



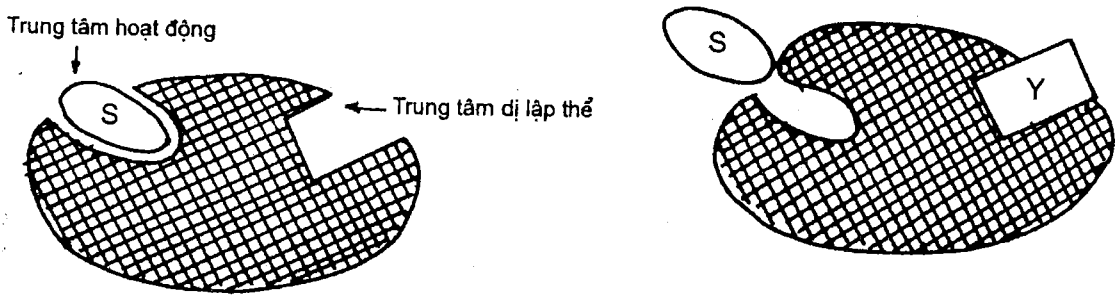
Hình 5.2. Tác dụng tiếp xúc cảm ứng cơ chất (S) đối với trung tâm hoạt động của enzym (E) theo Koshland.

Ghi chú: a, b, c là những vị trí tương ứng giữa cơ chất và trung tâm hoạt động của enzym

2.3. Trung tâm dị lập thể

Trong quá trình xúc tác của phân tử enzym, ngoài trung tâm hoạt động làm chức năng xúc tác còn có một loại trung tâm khác làm nhiệm vụ điều chỉnh hoạt tính của enzym gọi là trung tâm điều chỉnh hay trung tâm dị lập thể. Trung tâm dị lập thể ở khác vị trí trung tâm hoạt động. Cơ chế tác dụng của yếu tố dị lập thể là ở chỗ khi nó tác động vào trung tâm dị lập thể của enzym làm thay đổi hình dạng không gian của enzym chuyển trạng thái hoạt động của enzym hoạt động hay không hoạt động. Sự kết hợp yếu tố dị lập thể vào trung tâm dị lập thể của enzym thường là sự kết hợp thuận nghịch. Cơ chế tác dụng của yếu tố dị lập thể là ở chỗ khi nó tác động vào trung tâm dị lập thể của enzym làm thay đổi hình dạng không gian của enzym đưa đến làm biến đổi trung tâm hoạt động làm cho hoạt tính xúc tác của enzym bị thay đổi tăng lên hay giảm đi. Trung tâm dị lập thể đóng vai trò quan trọng trong cơ chế điều chỉnh enzym thường hay nói đến cơ chế của sự ức chế ngược là cơ chế điều chỉnh dị lập thể mà thông thường enzym của phản ứng đầu tiên của quá trình chuyển hoá là enzym dị lập thể và sản phẩm cuối cùng của quá trình phản ứng là yếu tố dị lập thể âm. Tác dụng của yếu tố dị lập thể âm được mô tả như hình sau (hình 5.3).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 5.3. Sơ đồ mô tả tác dụng của yếu tố dị lập thể âm

Ghi chú: S = cơ chất, Y - yếu tố dị lập thể âm
Khi Y gắn vào trung tâm dị lập thể, trung tâm hoạt động sẽ bị biến dạng, do đó cơ chất S không gắn được vào TTHĐ của enzym.

2.4. Enzym polyme

Là enzym có cấu tạo bởi nhiều đơn vị nhỏ, mỗi đơn vị nhỏ là một chuỗi polypeptit và được gọi là protome. Enzym polyme thường có từ 2 đến 4 đơn vị nhỏ, có trường hợp có tới 10 - 12 đơn vị nhỏ. Malat dehydrogenase có 2 đơn vị nhỏ, urease có 8 đơn vị nhỏ, catalase có 6 đơn vị nhỏ, ATPase của ty thể tim bò có 10 đơn vị nhỏ. Enzym polyme thường chỉ thể hiện hoạt tính xúc tác cao khi phân tử nguyên vẹn, khi các đơn vị nhỏ bị tách rời ra thì hoạt tính của enzym bị giảm hay mất hẳn.

2.5. Các dạng phân tử của enzym (isozym)

Enzym cùng xúc tác một loại phản ứng hoá học nhưng có thể tồn tại nhiều dạng phân tử khác nhau và có một số tính chất lý, hoá, miễn dịch khác nhau. Các dạng phân tử khác nhau của một enzym thường được gọi là isozym. Lactat dehydrogenat có phân tử lượng khoảng 130.000 do 4 đơn vị nhỏ tạo nên, mỗi đơn vị nhỏ là một chuỗi polypeptit có trọng lượng phân tử khoảng 35.000. Các chuỗi polypeptit này được sinh tổng hợp do 2 gen khác nhau ký hiệu H và M, có nguồn gốc ở tim (H) và cơ (M), được xếp thành 5 dạng phân tử:

LDH_1: HHHH

LDH_2: HHHM

LDH_3: HHMM

LDH_4: HMMM

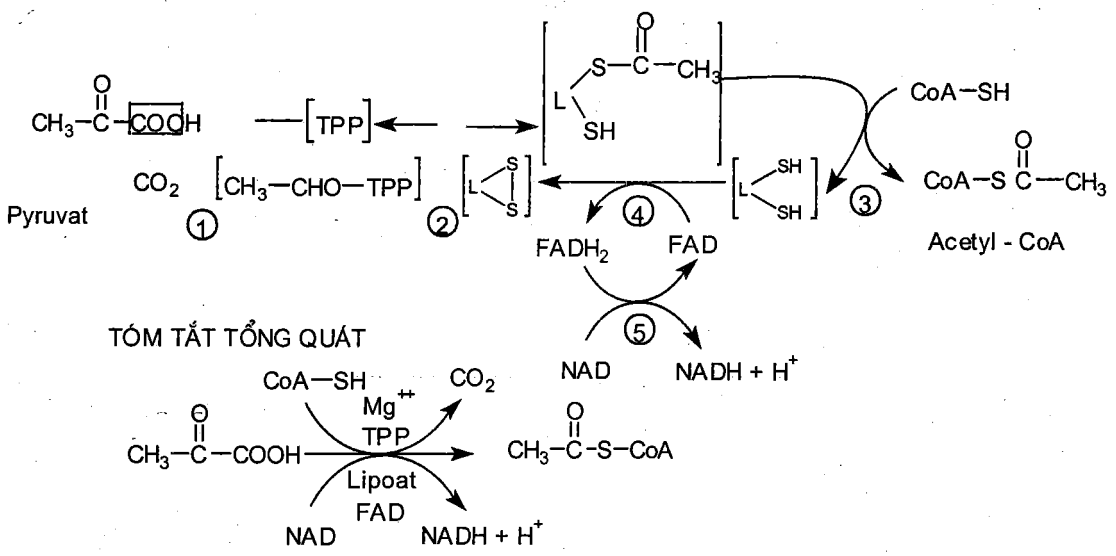
LDH_5: MMMM

Tỷ lệ của các dạng phân tử còn có thể thay đổi tuỳ theo tuổi tác, trạng thái sinh lý và bệnh lý.

THƯ VIỆN HUBT

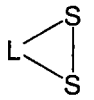
2.6. Phức hợp enzym (multienzym)

Trong cơ thể còn gặp phức hợp đa enzym gồm nhiều phân tử enzym có liên quan với nhau trong một quá trình chuyển hoá, ví dụ: quá trình khử carboxyl-oxy hoá acid pyruvic thành acetyl coenzym A như mô hình sau (hình 5.4).

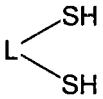


Hình 5.4. Quá trình khử carboxyl oxy hoá của acid pyruvic

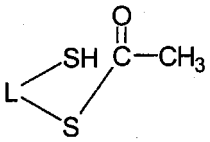
Ghi chú:



Acid lipoic dạng oxy hoá



Acid lipoic dạng khử



Acid S - acetyl - lipoic

[TPP]	Thiamin pyrophosphat
CH_3 -CHO-TPP	Acetaldehyd hoạt động
CoA - SH	Coenzym A
FAD, $FADH_2$	Flavin adenin dinucleotid dạng oxy hoá và dạng khử
NAD^+, NADH	Nicotinamid adenin dinucleotid dạng oxy hoá và dạng khử

Các enzym xúc tác quá trình phản ứng theo thứ tự sau:

Phản ứng 1	Pyruvat dehydrogenase
Phản ứng 2 và 3	Transacetylase
Phản ứng 4	Dihydrolipoat dehydrogenase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU LƯU HÀNH NỘI BỘ

Phức hợp enzym của quá trình này gồm 3 loại enzym là pyruvat dehydrogenase, transacetylase, dihydrolipoat dehydrogenase tạo thành phức hợp chứa 24 phân tử của mỗi loại enzym. Hệ thống kể trên là của E. coli, còn ở cơ thể bậc cao thì phức hợp này còn phức tạp hơn nhiều. Ngoài 3 enzym trên, trong E. coli còn thêm pyruvat dehyldrogenase phosphatase và pyruvat dehydrogenase kinase làm nhiệm vụ điều chỉnh hoạt động hệ thống phức hợp enzym. Khi nồng độ ATP cao, pyruvat dehydrogenase kinase sẽ gắn hai nhóm este phophoric vào phân tử pyruvat dehydrogenase làm cho enzym mất hoạt tính, ngừng quá trình khử carboxyl oxy hoá acid pyruvic thành acetyl coenzym A. Khi thiếu ATP, enzym pyruvat dehydrogenase phosphatase sẽ thuỷ phân các liên kết este phosphoric, khôi phục hoạt tính phức hợp multienzym và tăng cường quá trình đường phân ái khí. Ngoài phức hợp multienzym kể trên còn nhiều phức hợp multienzym trong nhiều quá trình chuyển hoá khác như quá trình khử carboxy oxy hoá acid α cetoglutaric, quá trình tổng hợp acid béo ngoài ty lạp thể, quá trình tổng hợp peptid có hoạt tính kháng sinh như gramixidin, tyroxidin.

2.7. Các tiền chất enzym (proenzym, zymogen)

Hầu hết các enzym được tổng hợp trong cơ thể đều thông qua giai đoạn đầu tiên là những tiền chất enzym không có hoạt động xúc tác gọi là zymogen hay proenzym. Những tiền chất enzym này bị biến đổi bằng quá trình thuỷ phân liên kết peptid loại bỏ đi những đoạn peptid có tác dụng kìm hãm hoặc che lấp trung tâm hoạt động của enzym. Do đó phân tử lượng của enzym có hoạt tính thường nhỏ hơn phân tử lượng của proenzym. Ở người và động vật có vú các enzym thuỷ phân protid trong ống tiêu hoá được tổng hợp ra dưới dạng proenzym. Ví dụ: pepsinogen, chymotrypsinogen, trypsinogen, trong quá trình hoạt hoá pepsinogen đã giải phóng 5 chuỗi peptid ngắn có trọng lượng phân tử 4.000 và một peptid có trọng lượng phân tử 3.200 có tác dụng ức chế hoạt tính của enzym khi còn kết hợp với enzym. Quá trình hoạt hoá trypsinogen xảy ra sự thuỷ phân liên kết peptid giữa gốc acid amin thứ 6 và thứ 7, loại bỏ một hexapeptid đã làm thay đổi hình dạng bộc lộ trung tâm hoạt động của enzym. Đối với chymotrypsinogen chuyển thành chymotrypsin bằng sự thuỷ phân giải phóng 2 dipeptid làm thay đổi hình dạng phân tử, làm cho His ở vị trí 57 xích gần gốc Ser ở vị trí 195, tạo trung tâm hoạt động cho enzym.

2.8. Sự phân bố enzym trong tế bào

Tế bào bậc cao thường có những cấu trúc dưới tế bào có chức năng riêng biệt với những enzym đặc hiệu. Những enzym này ở dạng hoà tan hay dạng gắn chặt vào màng của các cấu trúc đó. Sự cư trú, sắp xếp các enzym như vậy làm cho các phản ứng enzym có tính định hướng phối hợp tác dụng với nhau tạo ra hệ thống phản ứng dây chuyền liên tục, nhịp nhàng, ăn khớp với nhau.

– Enzym trong nhân tế bào là loại nicotinic - mono nucleotit adenylyl transferase 5' nucleotidase, arginase, ATPase và một số enzym khác tồn tại một lượng rất nhỏ.

– Enzym trong ty lạp thể: chứa hầu hết các enzym có liên quan đến quá trình chuyển hoá năng lượng, hệ thống enzym của chuỗi hô hấp tế bào, của quá trình phosphoryl hoá tạo ATP.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Enzym trong lysozom: gồm nhiều loại enzym thuỷ phân có tác dụng phá huỷ nhiều loại protein có phân tử lượng lớn như acid nucleic, protein, chất béo thành những phân tử nhỏ có khả năng được chuyển hoá dưới tác dụng của các enzym ty thể. Bình thường các enzym được bọc kín trong màng lipoprotein của lysozom nên không có tác dụng với cơ chất trong bào tương.

– Enzym trong ribosom: các hạt ribosom đính trên hệ thống lưới nội chất nguyên sinh, nơi tổng hợp protein, có hệ thống enzym của quá trình tổng hợp protein.

– Enzym trong bào tương: chứa rất nhiều loại enzym có tất cả enzym của con đường đường phân, chuyển hoá protein, lipid.

3. Danh pháp và phân loại

3.1. Danh pháp

– Dựa vào tên cơ chất đặc hiệu của enzym

– Dựa vào tên và kiểu phản ứng enzym xúc tác. Cuối cùng cộng thêm tiếp đuôi ase.

Ví dụ urease, ATP: D hexo 6 phosphotransferase xúc tác sự vận chuyển nhóm phosphat từ ATP sang nhóm hydroxyl trên carbon 6 của glucose.

3.2. Phân loại

Hội nghị Hoá sinh Quốc tế lần thứ V (1962) chia enzym làm 6 loại ký hiệu E. C.

1. Oxydoreductase là enzym	Oxy hoá khử
2. Transferase	Vận chuyển nhóm
3. Hydrolase.....	Thuỷ phân
4. Lyase.....	Phân cắt
5. Isomerase	Đồng phân
6. Ligase	Tổng hợp

Sau đây là một số thí dụ minh họa sự phân loại quốc tế của enzym

1. Enzym oxy hoá khử (oxydoreductase)

Loại này gồm tất cả các enzym oxy hoá (dehydrogenase) - xúc tác sự vận chuyển hydro từ cơ chất, các enzym oxydase, các enzym hydroxylase, peroxidase và catalase...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU CHỈ DÙNG ĐỂ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.1. Tác dụng lên nhóm > CH - OH (chất cho hydro)

1.1.1. Với NAD^+ loại $NADP^+$ là chất nhận hydro

Thí dụ: 1.1.1.37: L - malat NAD. oxydoreductase

1.1.2. Với cytocrom là chất nhận hydro

1.2. Tác dụng lên nhóm > C = O

1.2.1. Với oxy là chất nhận

Thí dụ: 1.2.3.2 = xanthin oxygen oxydoreductase

2. Enzym vận chuyển nhóm (transferase)

2.1. Vận chuyển nhóm có một carbon

2.1.1. Metyltransferase

Thí dụ: 2.1.1.10 = L.homocystein - S - metyl - transferase

2.2. Acyltransferase

2.3. Glucosyltransferase

2.3.1. Glucosyltransferase

Thí dụ: 2.3.1.13 = UDPG - glucose: D.fructose glucosyltranferase

3. Enzym thuỷ phân (hydrolase)

3.1. Cắt các liên kết este

3.1.3. Phosphomonoesterase

Thí dụ: 3.1.3.1 = phosphatase kiềm

3.2. Cắt các liên kết osid

Thí dụ: 3.2.1.21 = β.D. glucosid glucohydrolase

4. Enzym phân cắt (lyase)

4.1. Phân cắt liên kết C - C:

4.1.1. Decarboxylase

Thí dụ: 4.1.1.12 = aspartat decarboxylase

4.1.2. Aldehydlyase

Thí dụ: 4.1.2.7. = cetose.1.phosphat aldehydlyase hay aldolase

5. Enzym chuyển đồng phân (isomerase)

5.1. Racemerase và epimerase

5.1.1. Tác động lên acid amin

Thí dụ: 5.1.1.1. Alanin racemase

5.1.2. Tác động lên các ose

Thí dụ 5.1.3. = D.ribulose - 5 phosphat.3.epimerase.

6. Enzym tổng hợp (ligase, synthetase)

6.1. Tạo thành các liên kết C - O

6.1.1. Aminoacyl - ARN_t synthetase

Thí dụ: 6.1.1.7 = Alanin - ARN_t synthetase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.2. Tạo thành liên kết C - N

6.2.1. Acid amoniac ligase

Thí dụ: 6.2.1.2 = glutamat amoniac hay glutamin synthetase

4. Những nét cơ bản của động học enzym

Ảnh hưởng của enzym đối với năng lượng hoạt hoá. Enzym làm giảm năng lượng hoạt hoá của phản ứng hoá học. Quá trình này được thấy như sơ đồ mô tả tác dụng của chất xúc tác (hình 5.5).

A. Trạng thái mở đầu

B. Trạng thái hoạt hoá (trạng thái chuyển tiếp)

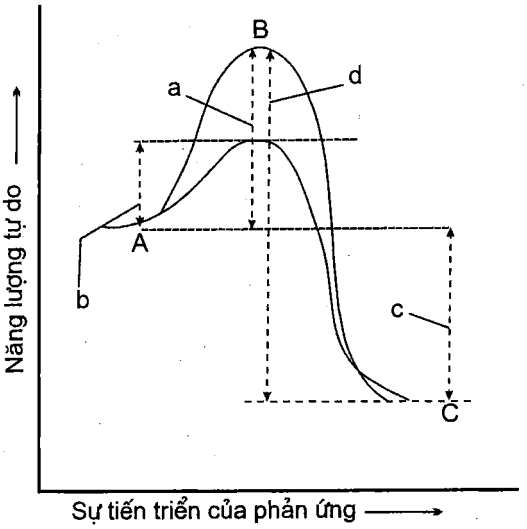
C. Trạng thái cuối

a. Năng lượng hoạt hoá của phản ứng không có chất xúc tác.

b. Năng lượng hoạt hoá của phản ứng có chất xúc tác.

c. Biến thiên năng lượng tự do (ΔF).

d. Biến thiên năng lượng tự do toàn phần = năng lượng hoạt hoá của phản ứng ngược chiều.



Hình 5.5.

Enzym có đầy đủ những tính chất cơ bản của chất xúc tác, ngoài ra còn có những đặc điểm riêng của nó là tính đặc hiệu rất cao và hiệu lực xúc tác rất lớn. Enzym làm giảm năng lượng hoạt hoá nhiều hơn so với các chất xúc tác hoá học. Thí dụ: sự phân huỷ H_2O_2 cần 18Kcal/mol nếu không có chất xúc tác, cần 11,7 Kcal/mol nếu có mặt chất bạch kim, nhưng chỉ cần 2 Kcal/mol nếu có mặt của enzym catalase.

Ở điều kiện thích hợp, hầu hết các phản ứng enzym xảy ra với tốc độ nhanh, gấp từ 10^8 đến 10^{11} lần so với những phản ứng cùng loại mà không có sự xúc tác của enzym. Có loại enzym trong một phút, một phân tử enzym có thể làm biến đổi hàng triệu phân tử cơ chất.

4.1. Tốc độ của phản ứng hoá học

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ NHÀM KHẢO NỘI BỘ

Tốc độ của phản ứng hoá học được biểu thị bởi sự biến đổi nồng độ chất tham gia phản ứng theo thời gian (t). Nồng độ được tính bằng mol theo lít và thời gian là giây. Do đó, nếu C là nồng độ ban đầu của cơ chất giảm theo thời gian, thì tốc độ phản ứng sẽ là - dc/dt. Tốc độ này phụ thuộc vào trị số tức thời của nồng độ C theo nhiều cách do nhiều kiểu phản ứng và cũng có thể độc lập với nồng độ C. Ta có thể phân biệt tốc độ phản ứng theo từng loại phản ứng như sau:

– Phản ứng bậc zero:

$$\approx \frac{d_c}{d_t} = K_0 = K_0C$$

Tốc độ phản ứng không phụ thuộc nồng độ cơ chất và thời gian.

– Phản ứng bậc 1:

$$\approx \frac{d_c}{d_t} = K_1C = K_1C^1$$

Tốc độ phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ cơ chất khi tham gia phản ứng.

– Phản ứng bậc 2:

$$- \frac{d_c}{d_t} K_2 (C \times C) = K_2C^2$$

Tốc độ của phản ứng tỷ lệ với luỹ thừa bậc 2 của nồng độ cơ chất khi tham gia phản ứng.

Trong các trường hợp trên, K được gọi là hằng số tốc độ của phản ứng. Thứ nguyên K phụ thuộc bậc phản ứng. K_0 phản ứng bậc không, K_1 = phản ứng bậc 1, K_2 = phản ứng bậc 2.

4.2. Tốc độ của phản ứng enzym

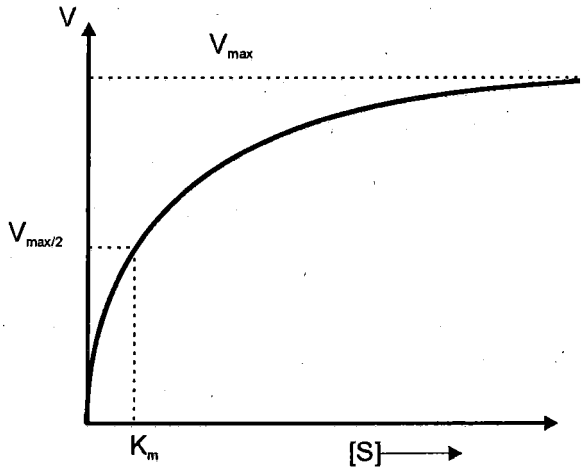
Trong nhiều trường hợp khó xác định nồng độ thực của enzym nên người ta xác định đơn vị hoạt độ của enzym.

Đơn vị enzym là lượng enzym xúc tác sự chuyển hoá của 1 micromol cơ chất (10^{-6} mol) thời gian 1 phút ở điều kiện tiêu chuẩn.

Hiện nay đơn vị enzym được quy định theo đơn vị S.I. (systeme international) là sự chuyển 1 mole cơ chất trong 1 giây gọi là Katal (Kat), 10^{-9} Kat = 1nKat cho lít. Hoạt tính đặc hiệu của enzym là lượng đơn vị enzym cho 1mg protein. Hoạt tính đặc hiệu cho phép đánh giá mức độ tinh khiết của enzym.

Tốc độ của phản ứng enzym thường được xác định bằng sự biến đổi nồng độ cơ chất hoặc sự biến đổi nồng độ sản phẩm của phản ứng theo đơn vị thời gian. Trong những điều kiện hằng định tốc độ của phản ứng phụ thuộc vào nồng độ enzym và nồng độ cơ chất của nó. Khi nồng độ enzym hằng định, tốc độ của phản ứng (V) phụ thuộc vào nồng độ enzym và nồng độ cơ chất tăng dần lên thì tốc độ của phản ứng tăng dần đến tốc độ cực đại (V_{max}) và đồ thị có dạng hyperpol (hình 5.6)

THƯ VIỆN HVBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 5.6. Đồ thị lý thuyết mô tả mối quan hệ giữa tốc độ phản ứng enzym đối với nồng độ cơ chất. Các điều kiện khác của phản ứng được giữ hằng định

V_{max} là tốc độ cực đại

[S] là nồng độ phân tử cơ chất.

Hình 5.6 cho thấy tốc độ của phản ứng không tăng theo đường thẳng khi nồng độ cơ chất tăng dần. Ở những nồng độ cao của cơ chất thì tốc độ phản ứng tiến gần đến tốc độ giới hạn (tốc độ cực đại), tại những thời điểm này có sự bão hoà cơ chất đối với enzym, tất cả các trung tâm hoạt động của enzym đều được gắn với cơ chất đều đã tham gia vào quá trình xúc tác. Cho nên dù có tăng nồng độ cơ chất cao hơn nữa thì tốc độ phản ứng không thể tăng lên được nữa. Để đạt tốc độ cực đại của phản ứng do enzym xúc tác, nồng độ phân tử của cơ chất phải lớn hơn nồng độ phân tử của enzym hàng triệu lần, nghĩa là bao giờ cũng ở trạng thái thừa cơ chất. Tốc độ phản ứng enzym thường rất nhanh, cho nên nồng độ cơ chất giảm đi theo thời gian một cách nhanh chóng đồng thời nồng độ sản phẩm tăng lên. Bên cạnh đó, sau một thời gian phản ứng, pH và nhiệt độ của môi trường cùng thay đổi làm cho tốc độ phản ứng giảm xuống. Do đó, khi nghiên cứu bao giờ cũng phải xác định tốc độ của phản ứng enzym trong thời gian mở đầu gọi là tốc độ ban đầu khi các yếu tố trên ảnh hưởng chưa đáng kể đến tốc độ của phản ứng.

4.3. Thuyết Michaelis - Menten

Qua nhiều chặng của quá trình xúc tác của enzym biến các chất tham gia phản ứng thành sản phẩm $S \xleftrightarrow{E} P$ có thể viết như sau:

$$E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow EX \leftrightarrow EY \leftrightarrow EZ \leftrightarrow E - P \leftrightarrow P + E$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trước tiên enzym (E) kết hợp với cơ chất (S) để hình thành phức hợp ES. Trên bề mặt của enzym, cơ chất có thể trải qua một hay nhiều dạng biến đổi và cuối cùng sản phẩm được tạo ra. Sản phẩm sau khi được tách ra thì enzym (E) tự do bắt đầu tác dụng lại.

Đơn giản hơn, tất cả các quá trình phản ứng xúc tác bởi enzym có thể chia làm hai: (a) = Sự hình thành phức hợp enzym - cơ chất [ES]; (b) = Sự phân huỷ

phức hợp enzym - cơ chất [ES] để tạo thành sản phẩm (P) và giải phóng enzym dạng tự do (E). Quá trình này có thể biểu diễn như sau:

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftarrows}} [ES] \underset{K_4}{\overset{K_3}{\rightleftarrows}} P + E$$

Ở trạng thái ổn định của quá trình trên (sau ít phần trăm giây của phản ứng) nồng độ của phức hợp (ES) được tạo thành bởi enzym và cơ chất không thay đổi. Do đó tốc độ hình thành và phân huỷ bằng nhau, phương trình có thể viết với hằng số tốc độ ổn định như sau:

[ES] được hình thành từ hai quá trình

$E + S \rightarrow [ES]$ và $E + P \rightarrow [ES]$

$K_1 [E][S] + K_4 [P][E]$ = Tốc độ của sự hình thành [ES]

[ES] có thể bị phá huỷ bởi hai quá trình $[ES] \rightarrow E$ và $[ES] \rightarrow P + E$

$K_2[ES] + K_3[ES]$ = Tốc độ phá huỷ của [ES]

Bởi vì tốc độ hình thành ES bằng tốc độ phá huỷ [ES] ta có thể viết:

$$K_1[E][S] + K_4[P][E] = K_2[ES] + K_3 [ES]$$

Sắp xếp E và ES phương trình có thể viết:

$$[E](K_1[S] + K_4[P]) = [ES] (K_2 + K_3)$$

$$\frac{|ES|}{|E|} = \frac{K_1|S| + K_4|P|}{K_2 + K_3}$$

Phương trình trên có thể chia làm hai phần

$$\frac{|ES|}{|E|} = \frac{K_1|S|}{K_2 + K_3} + \frac{K_4|P|}{K_2 + K_3}$$

Nồng độ chất sản phẩm [P] trong giai đoạn đầu, thời gian rất ngắn, nên rất thấp có thể bỏ qua được, hằng số K_4 và [P] được loại trừ phương trình có thể viết:

$$\frac{|ES|}{|E|} = \frac{K_1|S|}{K_2 + K_3}$$

Nghịch đảo:

$$\frac{|E|}{|ES|} = \frac{K_2 + K_3}{K_1|S|}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tất cả những hằng số còn lại có thể viết ở dạng đơn giản hơn (K_m) là hằng số Michaelis, đặc trưng cho mỗi enzym và là một thông số đặc biệt có ích trong enzym học.

$$\frac{K_2 + K_3}{K_1} = K_m$$

Kết hợp với phương trình trên, ta có thể viết

$$\frac{|E|}{|ES|} = \frac{K_m}{|S|}$$

Gọi $[E]_t$ = Nồng độ enzym toàn phần thì

$$[E]_t = [E] + [ES]$$

$$[E] = [E]_t - [ES]$$

Chia phương trình với [ES]:

$$\frac{|E|}{|ES|} = \frac{|E|_t - |ES|}{|ES|}$$

$$\frac{|E|_t - |ES|}{|ES|} = \frac{|E|_t}{|ES|} - \frac{|ES|}{|ES|} = \frac{|E|_t}{|ES|} - 1$$

$$\frac{|E|_t}{|ES|} - 1 = \frac{K_m}{|S|}$$

$$\frac{|E|_t}{|ES|} = \frac{K_m}{|S|} + 1$$

Trong thực tế nồng độ enzym toàn phần ($[E]_t$) và phức hợp enzym - cơ chất (ES) không dễ xác định. Tuy vậy những thông số này có thể biểu thị được qua xác định tốc độ phản ứng (v) ở bất kỳ nồng độ cơ chất (S), tốc độ cực đại của phản ứng (V_{max}) ở nồng độ cơ chất bão hoà, cần phải lập được một biểu thức liên hệ K_m với $[E]_t$ và [S] là những thông số có thể đo được dễ dàng.

Tốc độ cực đại (V_{max}) tương ứng với toàn bộ enzym toàn phần và được quan sát khi enzym ở dạng phức hợp ES. Tốc độ ở bất kỳ một nồng độ cơ chất tương ứng với số lượng enzym có mặt ở phức hợp ES, ta có thể viết:

V_{max} tương ứng $[E]_t$

v tương ứng [ES]

Như vậy chúng ta có thể chia tỷ lệ của $\frac{V_{max}}{v}$ cho tỷ lệ của [E] + /[ES]:

$$\frac{V_{max}}{v} = \frac{K_m}{|S|} + 1$$

Nhân cả hai vế của phương trình với [S]:

$$\frac{V_{max}|S|}{v} = \frac{K_m + |S|}{|S|} + |S|$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Khử bỏ [S] và kết hợp làm gọn:

$$\frac{V_{max}|S|}{v} = \frac{K_m + |S|}{1}$$

Nghịch đảo phương trình:

$$\frac{v}{V_{max}|S|} = \frac{1}{K_m + |S|}$$

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{|S|}{K_m + [S]}$$

Giá trị K_m không đơn thuần là hằng số phân ly của phức hợp ES vì nó còn chứa tham số K_3. Hằng số phân ly thực sự K_D, cho sự phân ly là tỷ lệ K_2/K_1. K_m được biểu thị bằng mol/lit là nồng độ cơ chất đủ làm cho tốc độ phản ứng đạt đến nửa tốc độ cực đại ($V_{max}/2$). Muốn cho phản ứng enzym đạt đến tốc độ cực đại thường phải có nồng độ cơ chất lớn vào khoảng 100 lần K_m. Trị số K_m không phụ thuộc vào nồng độ enzym, nhưng có thể phụ thuộc vào pH, nhiệt độ và những yếu tố bên ngoài khác. Trị số K_m thường nằm trong khoảng 10^{-2} đến 10^{-5} mol/lit. Nếu một enzym có thể tác dụng nhiều cơ chất thì đối với mỗi cơ chất, enzym có một K_m riêng biệt, thể hiện ái lực của enzym đối vơi cơ chất, K_m càng lớn thì ái lực của enzym đối với cơ chất càng nhỏ.

Trị số K_m có thể giúp cho việc xác định tính đặc hiệu và các nhóm gần cơ chất của enzym.

Phương trình Michaelis - Menten thay đổi theo giới hạn của cơ chất [S]. Khi nồng độ cơ chất [S] rất lớn so với K_m tốc độ v là hằng số thiết yếu và cân bằng với V_{max}, đó là động học phản ứng bậc không.

Khi nồng độ cơ chất [S] rất nhỏ so với K_m, tốc độ phản ứng v tỷ lệ trực tiếp với nồng độ cơ chất [S] rất nhỏ so với K_m, tốc độ phản ứng v tỷ lệ trực tiếp với nồng độ cơ chất [S]. Đó là phản ứng bậc 1.

Khi [S] = K_m, $v = \frac{V_{max}}{2}$ ta có thế viết:

$$v = \frac{V_{max}|S|}{K_m|S|} \xrightarrow[K_m << |S|]{|S| >> K_m} \frac{V_{max}|S|}{|S|} = V_{max} \text{ (hằng định)}$$

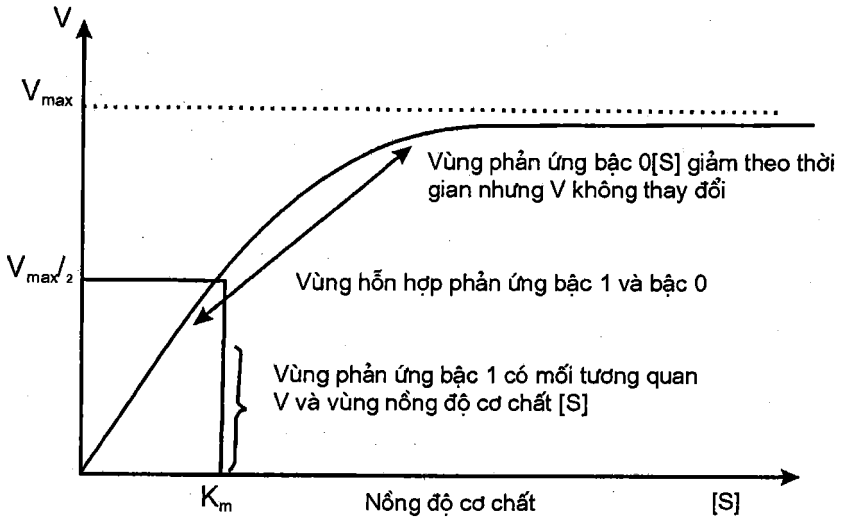
$$v = \frac{V_{max}|S|}{K_m + |S|} \xrightarrow[K_m >> |S|]{|S| << K_m} \frac{V_{max}|S|}{|S|}$$

$\frac{V_{max}}{K_m} = K$ = Hằng số tốc độ phản ứng bậc 1

$$v = K[S]$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong tất cả các trường hợp thực nghiệm, chúng ta có thể tóm tắt rằng v = V_{max} (phản ứng bậc không) với khi nồng độ cơ chất [S] ≥ $100K_m$; và khi v = K [S], phản ứng bậc 1 nồng độ cơ chất [S] ≤ $0,01K_m$. Tóm tắt quá trình này như sơ đồ sau (hình 5.7)



Hình 5.7. Đồ thị Michaelis - Menten minh họa bậc phản ứng của enzym

Tốc độ của phản ứng enzym được tính theo phương trình Henri - Michaelis - Menten:

$$V = \frac{V_{max}|S|}{K_s + |S|}$$

Ở đây K_s là hằng số phân ly của phức hợp enzym - cơ chất [ES], $K_s = \frac{|E||S|}{|ES|}$.

Phương trình Henri - Michaelis Menten liên quan giữa tốc độ v và tốc độ cực đại V_{max} của phản ứng, nồng độ cơ chất, hằng số phân ly phức hợp enzym- cơ chất ES. Phương trình này còn được tính theo K_m thay K_s như sau:

$$V = \frac{V_{max}|S|}{K_m + |S|}$$

Biến dạng phương trình trên, Briggs - Haldane đã tính như phương trình xác định K_m là:

$$K_m = [S]\left(\frac{V_{max}}{v} - 1\right)$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

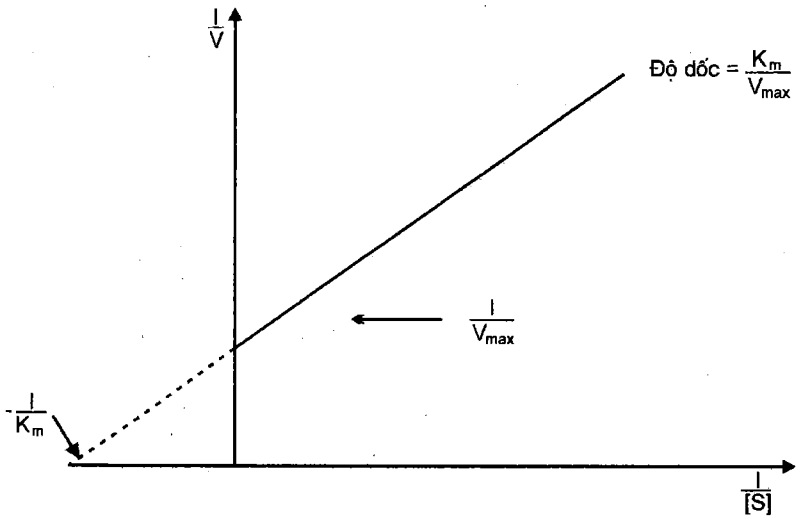
Nghịch đảo phương trình Henri - Michaelis - Menten là phương trình Lineweaver - Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}}$$

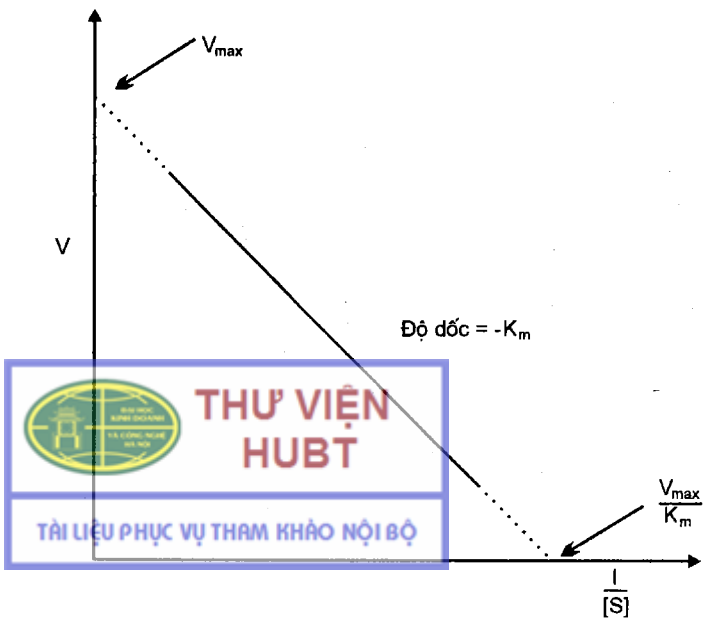
Phương trình này khi đặt $\frac{1}{v}$ ở trục tung và $\frac{1}{S}$ ở trục hoành ta có dạng đường thẳng (hình 5.8). Phương trình Lineweaver - Burk còn có thể biểu diễn theo cách khác như sau:

$$v = V_{max} - \frac{K_m.v}{[S]}$$

Khi đặt v ở trục tung và V/[S] ở trục hoành thì sẽ có dạng đồ thị kiểu Eadie - Hofstee có độ dốc bằng - K_m (hình 5.9).



Hình 5.8. Đồ thị phương trình Lineweaver – Burk



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 5.9. Đồ thị phương trình Eadie - Hofstee

Ngoài hằng số enzym K_m, K_s, còn có hằng số K_{cat} là số lượng cực đại của những phân tử cơ chất được tạo thành sản phẩm cho vị trí xúc tác theo đơn vị thời gian. Như vậy K_{cat} gọi là hằng số xúc tác của enzym cho phép đo khả năng xúc tác ở vị trí xúc tác của enzym. Hằng số xúc tác liên quan đến tốc độ phản ứng được Briggs - Haldane xác lập phương trình như sau:

$$V = \frac{K_{cat}|E|_t|S|}{K_m + |S|}$$

Ở điều kiện nồng độ cơ chất S thấp, $K_m >> [S]$ và nồng độ enzym toàn phần bằng nồng độ enzym tự do thì phương trình có thể viết:

$$v = \frac{K_{cat}}{K_m}|E||S|$$

Phương trình này cho phép đo ảnh hưởng xúc tác ở những enzym khác nhau ở nồng độ cơ chất dưới mức bão hoà. Mối liên quan K_{cat} và K_m được thấy ở bảng 1.5.

Bảng 5.1. *Giá trị K_{cat}, K_m và tỷ lệ của chúng*

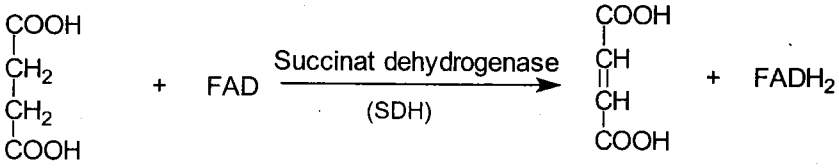
Enzym	Cơ chất	K_{cat} (gy^{-1})	K_m (M)	K_{cat}/K_m ($gy^{-1} M^{-1}$)
Acetylcholin eterase	Acetylcholin	$1,4.10^{+4}$	9.10^{-5}	$1,6 \times 10^8$
Carbonic Anhydratase	CO_2	$1,6 \times 10^6$	0,012	$8,3 \times 10^7$
	HCO^{3-}	$4,0 \times 10^5$	0,026	$1,5 \times 10^7$
Catalase	H_2O_2	$4,0 \times 10^7$	1,10	$4,0 \times 10^7$
Fumarase	Fumarat	800	5×10^{-6}	$1,6 \times 10^8$

Số liệu từ: A. Fersht. Enzym structure and mechanism. 2ed., Freeman, New York 1985, p. 152.

4.4. Ức chế cạnh tranh

Chất ức chế là những chất làm giảm tốc độ phản ứng xúc tác bởi enzym. Ức chế cạnh tranh là những chất kết hợp với enzym ngăn chặn enzym kết hợp với cơ chất. Thông thường, chất gây ức chế cạnh tranh là những chất tương tự không chuyển hoá được hoặc là dẫn chất của cơ chất. Chất ức chế có cấu trúc giống như cơ chất thật cho nên nó kết hợp với enzym ở vị trí trung tâm hoạt động của enzym. Cho nên ở vị trí xúc tác, enzym có thể liên kết với cơ chất thì chất ức chế không thể liên kết được. Ngược lại chất ức chế chiếm vị trí hoạt động của enzym thì cơ chất không thể gắn vào trung tâm hoạt động được, do vậy sẽ làm cho tốc độ xúc tác của enzym bị giảm đi. Ví dụ kinh điển về sự ức chế succinat dehydrogenase có chứa coenzym là FAD bởi acid succinic thành acid fumaric như sau:

THƯ VIỆN HUBT
HỆ THỐNG PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Acid succinic Acid fumaric

Acid malonic giống acid succinic đã kết hợp với enzym

HOOC - CH_2 - COOH Acid malonic (MA)

Tuy vậy acid malonic kém acid succinic một nhóm - CH_2 - nên quá trình oxy hoá bởi succinat dehydrogenase không xảy ra mà chỉ có kết hợp với enzym tạo phức hợp EI như dạng sau:

$$FAD - SDH + MA \underset{K2_i}{\overset{K1_i}{\rightleftharpoons}} FAD - SDH - MA$$

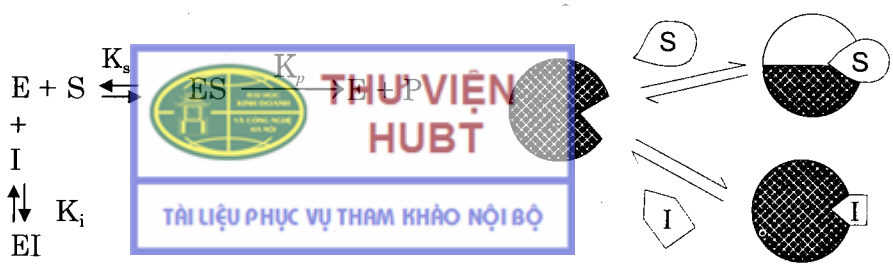
(E) (I) (EI)

Hằng số phân ly K_i có thể viết:

$$K_D = \frac{K_2}{K_1} = \frac{|E||I|}{|EI|}$$

Một ví dụ khác là sự ức chế hexokinase xúc tác phản ứng giữa glucose và ATP bởi fructose và manose. Ba loại đường này là cơ chất của enzym hexokinase có thể tạo thành sản phẩm hexose - 6 - photphat. Cả ba đường hexose kết hợp với enzym ở cùng vị trí xúc tác cho nên một loại hexose này ức chế loại hexose kia. Trong một số trường hợp chất ức chế được sản sinh ra không liên quan đến cấu trúc của cơ chất, thường là sản phẩm cuối hay gần cuối của quá trình chuyển hoá tác động lên một enzym hay một phản ứng nhánh của quá trình chuyển hoá. Hiện tượng này gọi là ức chế ngược "feedback". Chất ức chế "hiệu ứng" hay điều hoà kết hợp với enzym ở một vị trí có thể khác so với vị trí xúc tác của cơ chất gây ra sự thay đổi hình dạng enzym như cấu trúc bậc 3 hay bậc 4 dẫn đến làm giảm ái lực đối với cơ chất.

Quá trình ức chế cạnh tranh có thể mô hình hoá như sau:



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong sự có mặt của chất ức chế, sự liên quan v, V_{max}, [S] và K_m của phương trình Michaelis - Menten ở bất kỳ thời gian nào của phản ứng cùng tồn tại ba dạng, enzym tự do E, phức hợp enzym cơ chất ES và phức hợp enzym chất kìm hãm EI. Cho nên enzym toàn phần là:

$$[E]_t = [E] + [ES] + [EI]$$

$$[E] = [E]_t - [ES] - [EI]$$

Chia với [ES]:

$$\frac{E}{|ES|} = \frac{|E|_t - |ES| - |EI|}{|ES|}$$

Như đã biết từ trước

$$\frac{|E|}{ES} = \frac{K_m}{|S|}$$

$$\frac{K_m}{|S|} = \frac{|E|_t}{|ES|} - \frac{|ES|}{|ES|} - \frac{|EI|}{|ES|}$$

Cũng như đã biết từ trước

$$|EI| = \frac{|E||I|}{K_i}$$

và

$$\frac{1}{|ES|} = \frac{K_m}{|E||S|}$$

$$\frac{K_m}{|S|} = \frac{|E|_t}{|ES|} - 1 - \frac{|E||I|}{K_i} \times \frac{K_m}{|E||S|}$$

$$\frac{|E|_t}{|ES|} = \frac{K_m}{|S|} + 1 + \frac{K_m|I||E|}{|S|K_i|E|}$$

Thay $\frac{V_{max}}{v}$ cho $\frac{|E|_t}{|ES|}$

$$\frac{V_{max}}{v} = \frac{K_m}{|S|} + \frac{K_m|I|}{|S|K_i} + 1$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhân cả hai phía phương trình với [S]:

$$\frac{V_{max}|S|}{v} = \frac{K_m|S|}{|S|} + \frac{K_m|I||S|}{|S|K_i} + |S|$$

Khi bỏ tham số [S] và đưa K_m ra ngoài ta có:

$$\frac{V_{max}|S|}{v} = K_m\left(1+\frac{|I|}{K_i}\right)+|S|$$

Nghịch đảo phương trình:

$$\frac{v}{V_{max}|S|} = \frac{1}{K_m\left(1+\frac{|I|}{K_i}\right)+|S|}$$

Nhân hai vế phương trình với [S]:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{S}{K_m\left(1+\frac{|I|}{K_i}\right)+|S|}$$

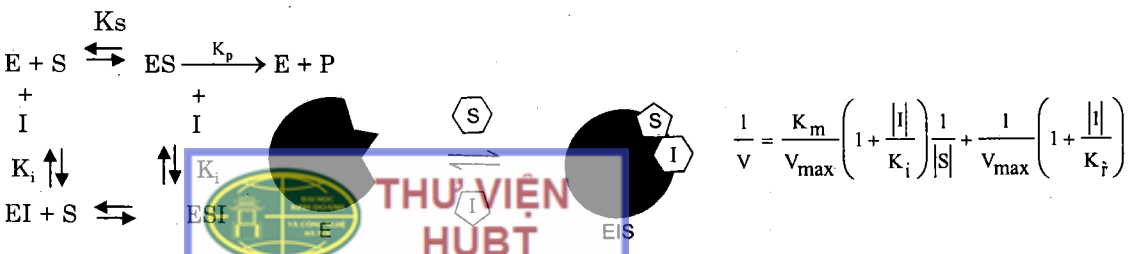
Đặt $K_{mapp} = K_m\left(1+\frac{|I|}{K_i}\right)$ ta có phương trình:

$$\boxed{\frac{v}{V_{max}} = \frac{|S|}{K_{mapp}+|S|}}$$

Từ những phương trình trên, chúng ta có thể thấy rằng tốc độ và mức kìm hãm của phản ứng xúc tác bằng enzym trong sự có mặt của chất ức chế cạnh tranh phụ thuộc vào nồng độ cơ chất S, chất ức chế I và liên quan đến ái lực của cơ chất cũng như chất kìm hãm đối với enzym. Trong sự có mặt của chất kìm hãm, tốc độ V_{max} của phản ứng không thay đổi khi nồng độ cơ chất S rất cao, yêu cầu cần đạt đến tốc độ của phản ứng.

4.5. Ức chế không cạnh tranh

Ức chế không cạnh tranh là sự ức chế thể hiện qua sự liên kết chất ức chế với enzym tự do hay phức hợp enzym và cơ chất. Quá trình này như mô hình sau:



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thông thường chất ức chế không cạnh tranh thường kết hợp với enzym ngoài vị trí xúc tác của trung tâm hoạt động, mức độ ức chế thì không phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Dạng hình thành phức hợp với chất ức chế được ghi như sau:

$$E + I \leftrightarrow EI$$

Với phức hợp enzym - cơ chất, chất ức chế cũng có thể kết hợp để thành phức hợp 3 thành phần:

$$[ES] + I \leftrightarrow [ESI]$$

Để thuận lợi cho quá trình tính toán. [EI] và [ESI] được xem chung là [EI] ta có hằng số phân ly K_i của phức hợp [EI] là:

$$K_i = \frac{|E||I|}{|EI|} = \frac{(|E| + |ES|)\ I}{|EI|}$$

Nồng độ enzym toàn phần có mặt trong cả ba dạng:

$$[E]_t = [E] + [ES] + [EI]$$

$$[E] + [ES] = [E]_t - [EI]$$

Thay $[E] + [ES]$ bằng $[E]_t - [EI]$ ta có:

$$K_i = \frac{(|E|_t - |EI|)\ |I|}{|EI|}$$

Tốc độ phản ứng enzym ở bất kỳ nồng độ cơ chất nào trong sự có mặt của chất ức chế tỷ lệ với nồng độ của enzym mà nó không gắn với chất ức chế.

$$\text{Vì } \alpha\ [E]_t - [EI]$$

$$\text{vậy} \qquad \frac{v}{v_i} = \frac{|E|_t}{|E|_t - |EI|}$$

Thay số hạng [EI] bằng $[E]_t$, [I] và K_i ta có:

$$K_i = \frac{(|E|_t - |EI|)\ |I|}{|EI|}$$

$$K_i|EI| = (|E|_t - |EI|\ |I|)$$

$$K_i\ |EI| = |E|_i|I| - |EI||I|$$

$$K_i|EI| + |EI||I| = |E|_t|I|$$

$$|EI|(K_i + |I|) = |E|_t|I|$$

$$|EI| = \frac{|E|_t|I|}{K_i + |I|}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thay số hạng [EI] cho phương trình $\frac{v}{v_i}$ ta có:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{|E|_t}{|E|_t - \frac{|E|_t|I|}{K_i + |I|}}$$

Chia đều cả tử số và mẫu số cho số lượng enzym toàn phần $[E]_t$ ta có:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{\frac{|E|_t}{|E|_t}}{\frac{|E|_t}{|E|_t} - \frac{|E|_t|I|}{|E|_t(K_i + |I|)}} = \frac{1}{1 - \frac{|I|}{K_i + |I|}}$$

Thay số hạng 1 bằng tỷ số $\frac{K_i + |I|}{K_i + |I|}$ có phương trình sau:

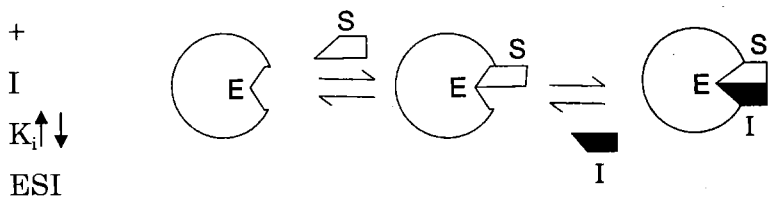
$$\frac{v}{v_i} = \frac{1}{\frac{K_i + |I|}{K_i + |I|} - \frac{|I|}{K_i + |I|}} = \frac{1}{\frac{K_i + |I| - |I|}{K_i + |I|}} = \frac{K_i + |I|}{K_i + |I| - |I|} = \frac{K_i + |I|}{K_i}$$

Trong sự có mặt của chất ức chế không cạnh tranh, mức độ kìm hãm không phụ thuộc nồng độ cơ chất mà chỉ phụ thuộc vào [I] và K_i. Giá trị K_m không thay đổi, tuy vậy V_{max} bị giảm xuống.

Ức chế không cạnh tranh một phía (uncompetitive) chỉ xảy ra khi E + S thành ES như mô hình sau:

$$E + S \underset{}{\overset{Ks}{\rightleftharpoons}} ES \overset{Kp}{\rightarrow} E + P$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}}\frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}\left(1 + \frac{|I|}{K_i}\right)$$



4.6. Cách biểu diễn động học enzym bằng đồ thị

Có những cách xác định đường cong ảnh hưởng của nồng độ cơ chất và chất ức chế đối với tốc độ phản ứng xúc tác của enzym. Những đồ thị đường cong từ hình 5.10 đến 5.15 là cơ sở các dạng khác nhau của phương trình Michaelis - Menten:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{|S|}{K_m + |S|}$$

v = Tốc độ phản ứng ở nồng độ cơ chất bất kỳ

V_{max} = Tốc độ cực đại

[S] = Nồng độ cơ chất

K_m = Hằng số Michaelis - Menten, nồng độ cơ chất yêu cầu để tốc độ đạt được $V_{max}/2$.

Chẳng hạn đồ thị 5.11 (đồ thị Lineweaver - Burk) được chuyển thành dạng thẳng từ phương trình Michaelis- Menten.

$$\frac{V_{max}}{v} = \frac{K_m + |S|}{|S|}$$

Nhân chéo, chuyển dạng.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + |S|}{V_{max}|S|}$$

Tách riêng từng số hạng của vế thứ 2 phương trình:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}|S|} + \frac{|S|}{V_{max}|S|} \text{ hoặc } \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}}\frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}}$$

Dạng này là phương trình cho đồ thị đường thẳng (y = mx + b). Như vậy, hàm số y với đối số x ở đây là: $y = \frac{1}{v}$ và $x = \frac{1}{|S|}$, do vậy độ dốc m sẽ là $\frac{K_m}{V_{max}}$ và b (điểm cắt trên trục tọa độ) $y = 1/V_{max}$. Chúng ta có thể thấy khi y = 0 (nghĩa là 1/v = 0), mx = – b (nghĩa là $\frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{|S|} = -\frac{1}{V_{max}}$); khi $x = \frac{-b}{m}$ (nghĩa là $\frac{1}{|S|} = \frac{-1}{V_{max}} \times \frac{V_{max}}{K_m}$ hoặc $\frac{1}{|S|} = -\frac{1}{K_m}$). Như vậy sự cắt trên trục hoành $\frac{1}{|S|}$ là $\frac{1}{K_m}$. Đồ thị dựa trên cơ sở tính toán khéo léo của phương trình Lineweaver - Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{|S|} + \frac{1}{V_{max}}$$

Nhân phương trình với [S]

$$\frac{|S|}{v} = \frac{|S|K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{|S|} + \frac{|S|}{V_{max}}$$

$$\frac{|S|}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{|S|}{V_{max}} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}}|S|$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\boxed{\frac{|S|}{v} = \frac{1}{V_{max}}|S| + \frac{K_m}{V_{max}}}$$

Phương trình trên có dạng đồ thị đường thẳng y = mx + b ở đây

$$y = \frac{|S|}{v};\ m = \frac{1}{V_{max}};\ x = |S|;\ b = \frac{K_m}{V_{max}}$$

Khi $\frac{|S|}{v} = 0, \frac{1}{V_{max}}|S| = -\frac{K_m}{V_{max}}, \frac{[S[}{V_{max}} = \frac{-K_m}{V_{max}};\ [S] = -K_m$

Cũng tương tự khi [S] = 0, điểm cắt trên trục tung có độ dài là $\frac{K_m}{V_{max}}$.

Phương trình đồ thị có dạng:

$$v = \frac{V_{max}|S|}{K_m + |S|}$$

Chia tử số và mẫu số [S] ta có:

$$v = \frac{\frac{V_{max}|S|}{|S|}}{\frac{K_m + |S|}{|S|}} = \frac{V_{max}}{\frac{K_m + |S|}{|S|}} = \frac{V_{max}}{\frac{K_m}{|S|} + 1}$$

Nhân chéo phương trình

$$v\left[\frac{K_m}{|S|} + 1\right] = V_{max}$$

$$v + \frac{vK_m}{|S|} = V_{max}$$

$$\frac{v}{|S|}K_m + v = V_{max}$$

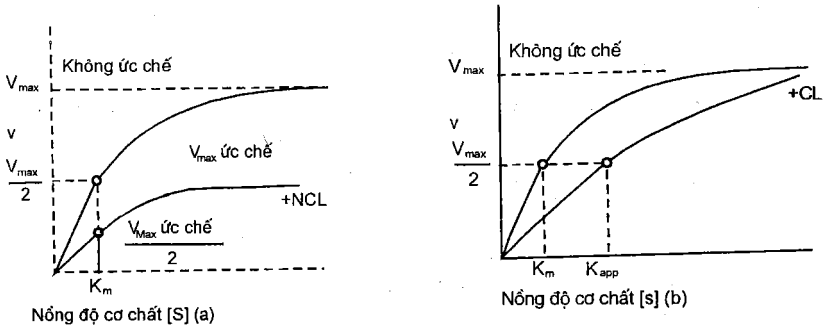
$$v = V_{max} - K_m\frac{v}{|S|}$$

$$v = -K_m\frac{v}{|S|} + V_{max}$$

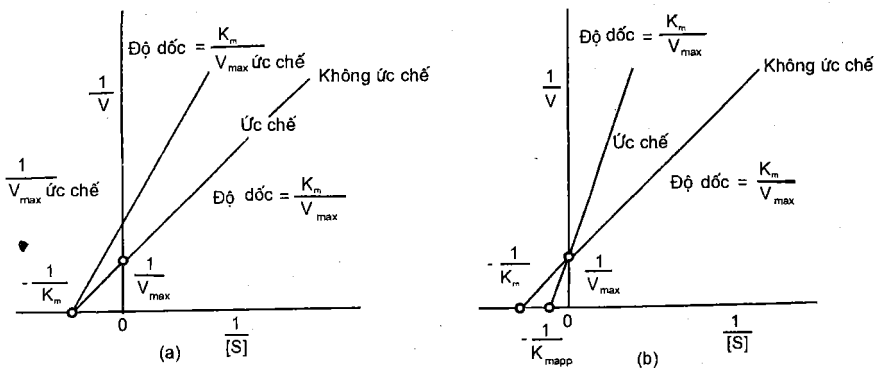
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Dạng phương trình này y = 0; m = $-K_m$; x = v/[S] và b = V_{max}

Chúng ta thấy rằng khi v/[S] = 0, v = V_{max}; khi v = 0, v/[S] = V_{max}/K_m.

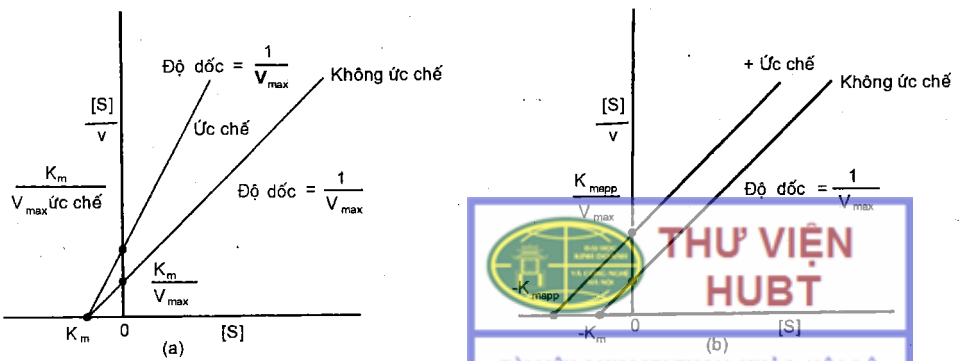


Hình 5.10. Đồ thị của tốc độ phản ứng đối với nồng độ cơ chất [S] trong sự vắng mặt và có mặt của chất ức chế không cạnh tranh (a) và chất ức chế cạnh tranh (b)
NCI = Chất ức chế không cạnh tranh, CI = Chất ức chế cạnh tranh



Hình 5.11. Đồ thị hàm số ngược 1/v đối với [S] trong sự có mặt và vắng mặt chất ức chế không cạnh tranh (a) và chất ức chế cạnh tranh (b)

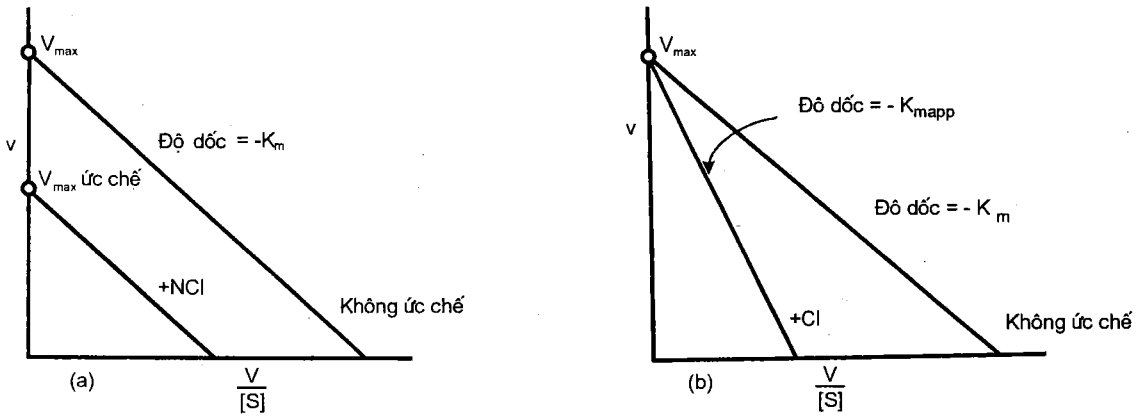
$$K_{mapp} = K_{xuất\ hiện} = \left[1 + \frac{I}{K_i}\right]$$



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

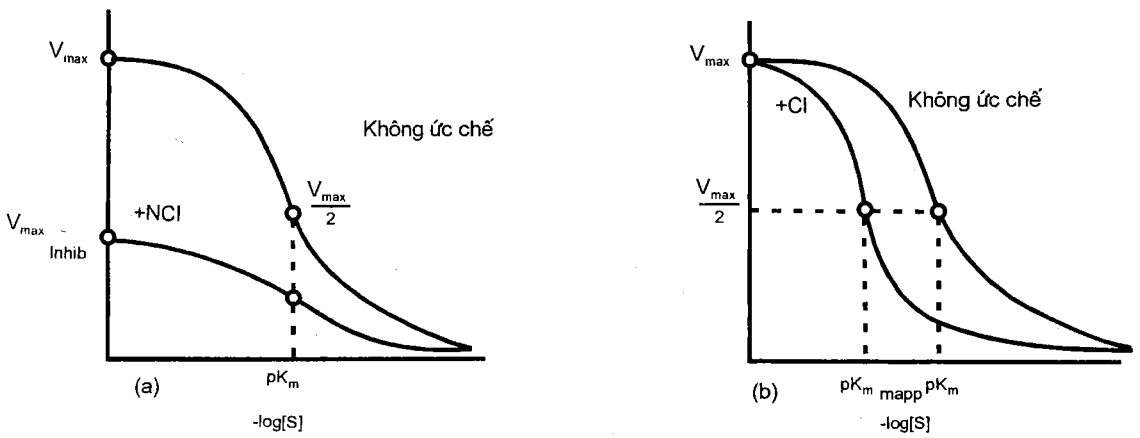
Hình 5.12. Đồ thị của [S]/v đối với [S] (đồ thị Woof) trong sự có mặt và vắng mặt của chất ức chế không cạnh tranh (a) và chất ức chế cạnh tranh (b). K_{mapp} là K_m xuất hiện. V_{max} inhib là tốc độ cực đại khi có mặt chất ức chế

Đồ thị của tốc độ v với [S] là dạng đồ thị của Hoftstee được diễn tả trong hình 5.13. Dạng khác biệt về sự có mặt chất ức chế không cạnh tranh (NCI) và chất ức chế cạnh tranh (CI).



Hình 5.13. Đồ thị của v đối với v/[S] trong sự có mặt và vắng mặt chất ức chế không cạnh tranh (a) và chất ức chế cạnh tranh (b)

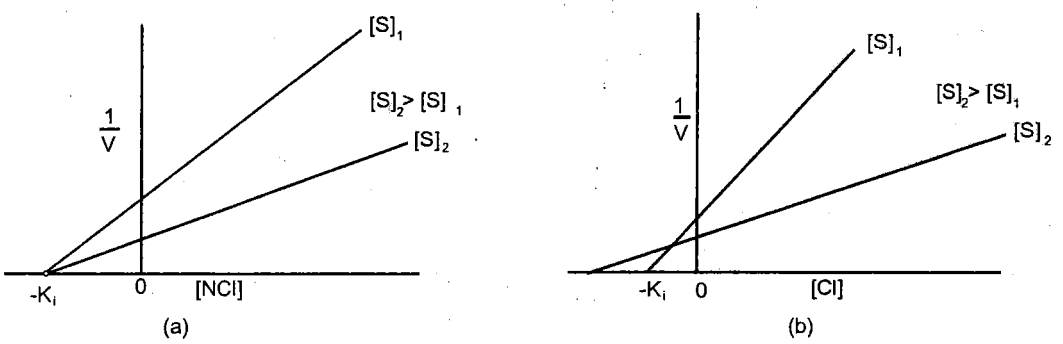
Đồ thị của sự liên quan tốc độ v đối với - log [S] như ở hình 5.14.



Hình 5.14. Đồ thị của tốc độ v đối với - log [S] trong sự có mặt và vắng mặt chất ức chế không cạnh tranh (NCI) (a); hay chất ức chế cạnh tranh (CI) (b)

Đồ thị của nghịch đảo tốc độ đối với nồng độ chất ức chế được miêu tả trong hình 5.15. Trong vài điều kiện nghiên cứu có thể thay đổi nồng độ chất ức chế và giữ nguyên nồng độ cơ chất. Nếu tốc độ ban đầu được xác định cho 2 hay nhiều nồng độ cơ chất và thay đổi nồng độ chất ức chế thì trạng thái tự nhiên của chất ức chế cạnh tranh hay không cạnh tranh có thể được xác định từ đồ thị và K_i cũng có thể được xác định.

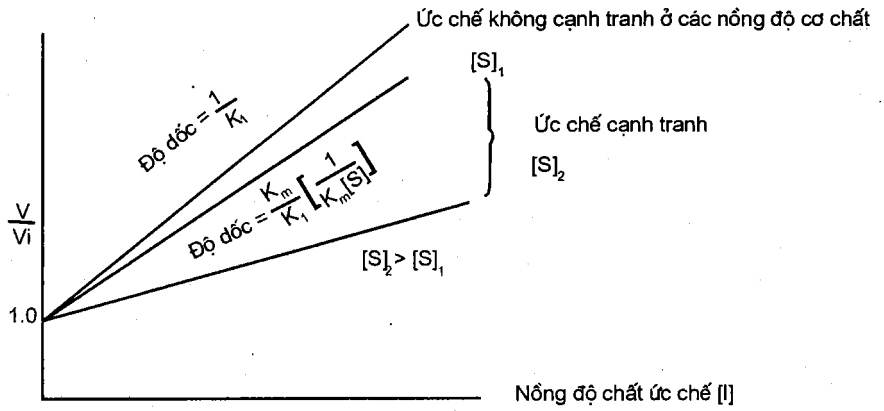
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 5.15. Đồ thị Dixon

a. Đồ thị của 1/v đối với nồng độ chất ức chế không cạnh tranh (NCI)
b. Đồ thị của 1/v đối với nồng độ chất ức chế cạnh tranh (CI)

Đồ thị về mối tương quan giữa v/v_i đối với chất ức chế được thấy ở hình 5.16. Đối với chất ức chế không cạnh tranh đồ thị được biểu diễn giống nhau ở một nồng độ cơ chất thử nghiệm, điều này có thể giải thích mức độ của sự kìm hãm không phụ thuộc vào nồng độ cơ chất cho chất ức chế không cạnh tranh ở bất kỳ nồng độ chất ức chế. Nếu mức độ chất ức chế không phụ thuộc vào nồng độ cơ chất [S] thì sự liên quan về tốc độ biểu hiện lẫn nhau là tỷ lệ v_i/v hoặc v/v_i cũng sẽ không phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Đối với trường hợp ức chế cạnh tranh thì mức độ của sự kìm hãm giảm với việc tăng nồng độ cơ chất [S] hay nói một cách khác sự liên quan về tốc độ biểu thị bởi v_i/v tăng và v/v_i giảm khi tăng nồng độ cơ chất [S].



Hình 5.16. Đồ thị về mối tương quan giữa tỷ lệ tốc độ v/v_i đối với nồng độ chất ức chế [I]

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.7. Động học enzym dạng hình cong kiểu sigma

Nhiều enzym không biểu hiện động học theo kiểu Michaelis - Menten dạng hyperbol đối với nồng độ cơ chất bão hoà. Thay vào đó, đồ thị của tốc độ đối với cơ chất cho những loại enzym này là đường cong dạng sigma. Nhìn chung đồ thị động học enzym dạng này biểu hiện vào nhiều yếu tố và cộng đồng liên kết ở những vị trí của cơ chất, có thể trên những vị trí khác của tiểu đơn vị làm thay đổi đặc tính của apoenzym, ảnh hưởng đến vị trí tác dụng của

enzym được tăng lên. Vị trí xúc tác và vị trí ảnh hưởng có thể khác nhau. Hình 6.17 và hình 6.18 chỉ cho thấy, tỷ lệ của nồng độ cơ chất yêu cầu cho 90% và 10% của tốc độ cực đại V_{max} là 81 theo động học Michaelis - Menten, nhưng động học dạng cong sigma thì ít hơn.

Động học dạng sigma được biểu diễn bằng phương trình Hill có thể được sắp xếp thành dạng đường thẳng: y = mx + b như sau:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{|S|^n}{K' + |S|^n}$$

$$V_{max}[S]^n = vK' + v[S]^n$$

$$V_{max} = [S]^n - v[S]^n = vK'$$

$$[S]^n (V_{max} - v) = vK'$$

$$K' = \frac{|S|^n (V_{max} - v)}{v}$$

$$\log K' = \log |S|^n \frac{V_{max} - v}{v}$$

$$\log K' = n\log |S| + \log \frac{V_{max} - v}{v}$$

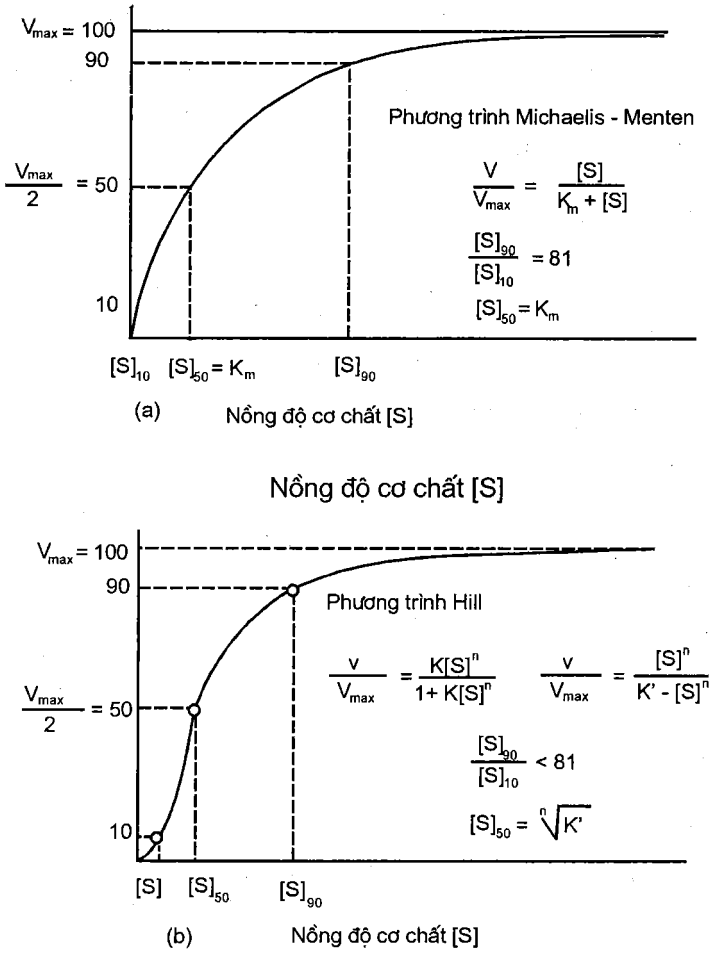
$$\log \frac{V_{max} - v}{v} = \log K' - n \log |S|$$

Nhân 2 vế với - 1 ta có:

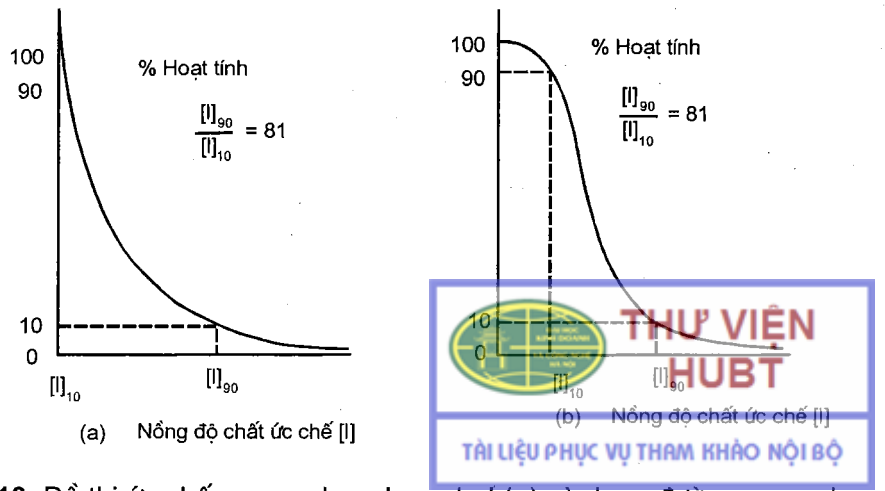
$$-\log \frac{V_{max} - v}{v} n \log |S| - \log K'$$

$$\boxed{\log \frac{V_{max} - v}{v} = n \log |S| - \log K'}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



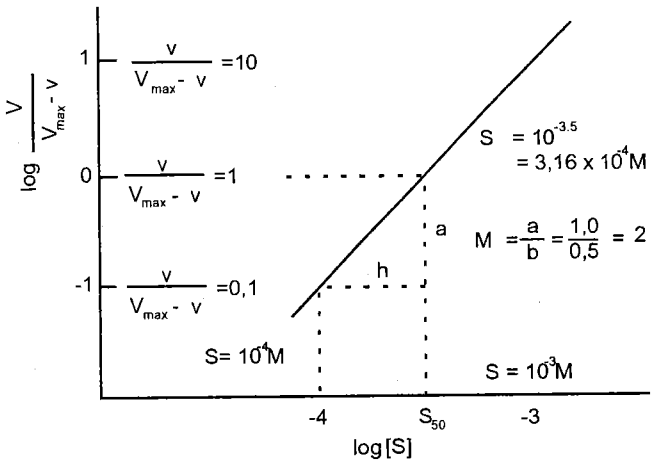
Hình 5.17. Động học enzym dạng hyperbol (a) và dạng đường cong sigma (b)



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 5.18. Đồ thị ức chế enzym dạng hyperbol (a) và dạng đường cong sigma (b)

Đồ thị của log $v/(V_{max} - v)$ đối với log [S] là đường thẳng như ở hình 5.19 có độ dốc là n. Khi $v = \frac{1}{2} V_{max}$; $v/(V_{max} - v) = 1$ và $\log \frac{v}{V_{max} - v} = 0$. Khi tỷ lệ tương ứng đối với log[S] đạt đến log [S]50 nghĩa là logarit của nồng độ cơ chất đạt được 50% của tốc độ cực đại. Động học dạng cong sigma ($n \neq 1$), K' không cân bằng với nồng độ cơ chất đã đạt 50% của V_{max}.



Hình 5.19. Đồ thị đường thẳng của phương trình Hill. Giá trị $K' = |S|^n_{50}$ khi

$$\log \frac{v}{V_{max}} = 0; [S] = [S]_{50} \text{ thì } n \log [S]_{50} = \log K'$$

Đối với chất ức chế có đồ thị đường cong dạng sigma thì đường thẳng của đồ thị được biểu diễn như phương trình sau:

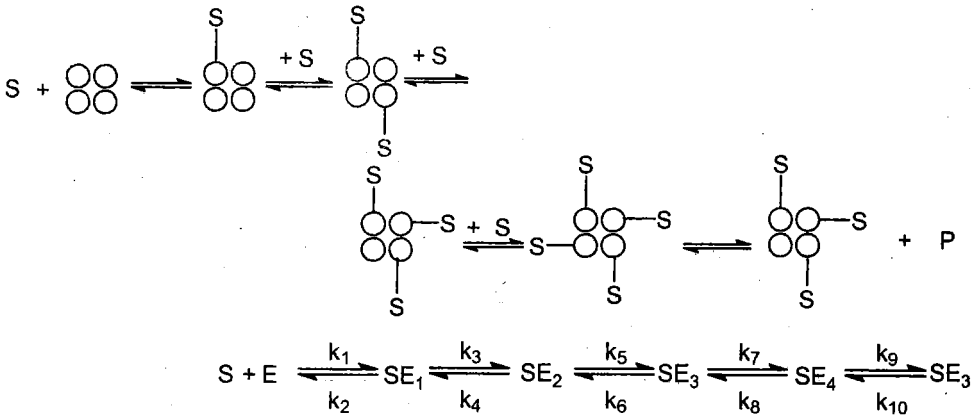
$$\log \frac{v}{V_{max} - v} = \log K_i' - n \log |I|$$

Phương trình Hill biểu thị tốc độ của phản ứng tăng lên như là n lần của nồng độ cơ chất khi nồng độ cơ chất rất thấp so với giá trị K. Trong trường hợp enzym là dạng terame mà mỗi đơn vị có một vị trí xúc tác, chúng ta có thể mô phỏng hằng số liên kết cho tất cả các dạng ESn như sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\frac{|ES_1|}{|E||S|} = \frac{|ES_2|}{|ES_1||S|} = \frac{|ES_3|}{|ES_2||S|} = \frac{|ES_4|}{|ES_3||S|} = K_D$$

Xa hơn nữa, chúng ta có thể thấy rằng chỉ một sản phẩm sinh ra từ ES_4 và mỗi một vị trí xúc tác trên terame có thể chuyển S thành P.



$$S + E \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} SE_1 \underset{k_4}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} SE_2 \underset{k_6}{\overset{k_5}{\rightleftharpoons}} SE_3 \underset{k_8}{\overset{k_7}{\rightleftharpoons}} SE_4 \underset{k_{10}}{\overset{k_9}{\rightleftharpoons}} SE_3 + P$$

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{k_3}{k_4} = \frac{k_5}{k_6} = \frac{k_7}{k_8} = K_B$$

Gọi [E] là giá trị có thể xác định được (ví dụ 10^{-10M}), K_B là giá trị có thể xác định cho hằng số liên kết (ví dụ 10^{+4}) và [S] là nồng độ cơ chất được sử dụng rất thấp invitro (ví dụ 10^{-6M}); tốc độ của phản ứng tỷ lệ với nồng độ của vị trí tác dụng dạng ES_4 ở nồng độ cơ chất 10^{-6M} như sau:

$$\frac{|ES_1|}{|E||S|} = 10^{+4} \qquad |ES_1| = (10^4)(10^{-10})(10^{-6}) \qquad \boxed{|ES_1| = 10^{-12}\,M}$$

$$\frac{|ES_2|}{|ES_1||S|} = 10^{+4} \qquad |ES_2| = (10^4)(10^{-12})(10^{-6}) \qquad \boxed{|ES_2| = 10^{-14}\,M}$$

$$\frac{|ES_3|}{|ES_2||S|} = 10^{+4} \qquad |ES_3| = (10^4)(10^{-14})(10^{-6}) \qquad \boxed{|ES_3| = 10^{-16}\,M}$$

$$\boxed{|ES_4| = 10^{-18}M}$$

Giá trị $[ES_4]$ được xác định bằng cách sau:

$E + S \rightleftarrows ES_1$ $\qquad K_{D1} = 10^4$

$ES_1 + S \rightleftarrows ES_2$ $\qquad K_{D2} = 10^4$

$ES_2 + S \rightleftarrows ES_3$ $\qquad K_{D3} = 10^4$

$ES_3 + S \rightleftarrows ES_4$ $\qquad K_{D4} = 10^4$

$E + 4S \rightleftarrows ES_4$ $\qquad K_D = K_{D1} \times K_{D2} \times K_{D3} \times K_{D4}$

$= (10^4)^4 = 10^{16}$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\frac{|ES_4|}{|E||S|^4} = K_D = 10^{16}$$

$$|ES_4| = (10^{16})\ (10^{10})(10^{-6})^4 = * (10^6)(10^{-24})$$

$$\boxed{|ES_4| = 10^{-18}M}$$

Nếu tính [ES4] khi nồng độ cơ chất gấp đôi ta có?

$$\frac{|ES_1|}{|E||S|} = 10^4 \qquad |ES_1| = (10^4)\ (10^{-10})\ (2 \times 10^{-6})$$

$$\boxed{|ES_1| = 3 \times 10^{-12}M}$$

$$\frac{|ES_2|}{|ES_1||S|} = 10^4 \qquad |ES_2| = (10^4)\ (2 \times 10^{-12})\ (2 \times 10^{-6})$$

$$\boxed{|ES_2| = 4 \times 10^{-14}M}$$

$$\frac{|ES_3|}{|ES_2||S|} = 10^4 \qquad |ES_3| = (10^4)\ (4 \times 10^{-14})\ (2 \times 10^{-6})$$

$$\boxed{|ES_3| = 16 \times 10^{-16}M}$$

Tương tự như vậy:

$$\boxed{|ES_4| = 10^{-18}M}$$

Cùng cách tương tự như trên ở những nồng độ khác, người ta có thể tính được các giá trị của phức hợp enzym và cơ chất.

4.8. Động học về bậc phản ứng enzym

Thông thường bậc động học phản ứng enzym gồm động học phản ứng bậc không và động học phản ứng xúc tác bậc 1.

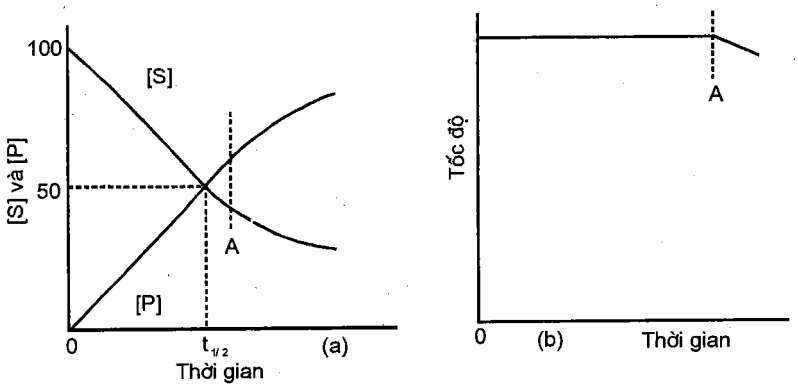
4.8.1. Động học phản ứng xúc tác enxym bậc không

Tốc độ phản ứng đối với nồng độ cơ chất được thấy ở phương trình phản ứng bậc không ở nồng độ cơ chất [S] lúc đầu rất lớn so với giá trị K_m. Tốc độ phản ứng không phụ thuộc nồng độ cơ chất, trong quá trình tạo thành sản phẩm. Tốc độ được xác định như phương trình sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$v = \frac{\Delta|S|}{\Delta t} = \frac{\Delta|P|}{\Delta t} = K$$

Khi $t_{1/2}$ là thời gian yêu cầu để tạo thành được 50% sản phẩm từ nồng độ cơ chất [S]. Đồ thị tương quan của quá trình này có thể biểu diễn như hai dạng đồ thị sau:



Hình 5.20. (a). Nồng độ cơ chất [S] và sản phẩm [P] tỷ lệ tương quan theo thời gian của phản ứng bậc một (b). Tốc độ phản ứng đối với thời gian của phản ứng bậc không

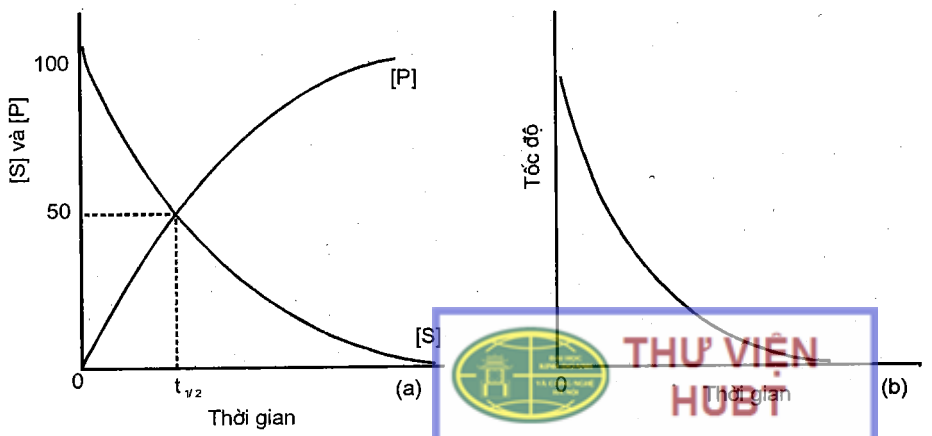
4.8.2. Động học phản ứng bậc 1

Khi nồng độ cơ chất ở dưới mức bão hoà, tốc độ phản ứng xúc tác bởi enzym phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Trong khoảng nồng độ cơ chất là 0 đến [S] = 0,01 K_m, thì tốc độ tỷ lệ thuận với nồng độ cơ chất và có thể tính được [S], [P] và v như hình 5.21 theo thời gian.

$$v = \frac{\Delta|S|}{\Delta_t} = \frac{\Delta|P|}{\Delta_t} \neq K$$

Khi v ∞ [S] và [S] không thay đổi.

$$v = -\frac{dS}{dt} = K|S| \rightarrow v = -\frac{dS}{S} = Kdt$$



THƯ VIỆN HUBT

Hình 5.21. Mối tương quan giữa sản phẩm, cơ chất và thời gian

a = Nồng độ cơ chất và sản phẩm (P) tương quan đối với thời gian.

b = Tốc độ phản ứng tương quan với thời gian của phản ứng bậc 1.

Tích phân giữa hai nồng độ cơ chất S_1 và S_2 tương ứng với thời gian t_1 và t_2 ta có phương trình:

$$-\int_{S_1}^{S_2}\frac{dS}{S} = k\int_{t_1}^{t_2}dt$$

$$-\ln\frac{S_2}{S_1} = k\,(t_2 - t_1)$$

$$\ln\frac{S_1}{S_2} = k\,(t_2 - t_1)$$

$$2{,}3\log\frac{S_1}{S_2} = k\,(t_2 - t_1)$$

Nếu S_1 là nồng độ ban đầu của cơ chất, S_0 và t_1 thời gian bằng không thì phương trình trên có thể viết:

$$\boxed{2{,}3\log\frac{S_0}{S_t} = kt}$$

Ở đây t là thời gian và S_t là nồng độ cơ chất ở thời gian t; phương trình trên có thể viết:

$$\boxed{S_t = S_0 e^{-kt}}$$

Phương trình còn có thể sắp xếp ở dạng đường thẳng: y = mx + b

$$2{,}3\log\frac{S_0}{S_t} = kt$$

$$\log\frac{S_0}{S_t} = \frac{kt}{2{,}3}$$

$$\log S_0 - \log S_t = \frac{kt}{2{,}3} \rightarrow \log S_t = -\frac{kt}{2{,}3} - \log S_0$$

$$\boxed{\log S_t = \log S_0 - \frac{k}{2{,}3}t}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đồ thị của phương trình trên được mô tả ở hình 5.22. Khi nồng độ cơ chất [S] = $1/2S_0$, t là thời gian một nửa ($t_{1/2}$) thì phương trình sẽ là:

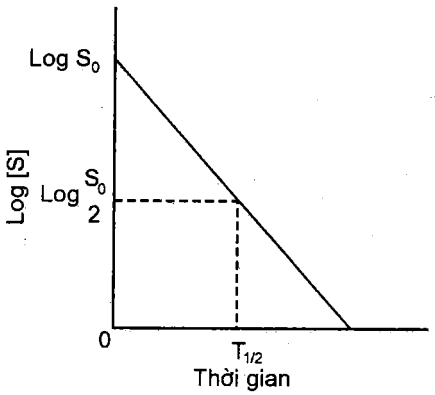
$$2{,}3\log\frac{1}{0{,}5} = kt_{1/2}$$

$$2{,}3\log 2 = kt_{1/2}$$

$$2{,}3 \times (0{,}301) = kt_{1/2}$$

$$0{,}693 = kt_{1/2}$$

$$\boxed{\frac{0{,}693}{k} = t_{1/2}}$$



Hình 5.22. Đồ thị logarit của nồng độ cơ chất đối với thời gian cho phản ứng động học bậc 1

4.8.2. Dạng tích phân của phương trình Michaelis - Menten

Tốc độ ban đầu của phản ứng (v) ở bất kỳ nồng độ cơ chất cũng có thể xác định khi biết được V_{max} và K_m như phương trình sau:

$$v = \frac{V_{max}|S|}{K_m + |S|}$$

Tốc độ v còn được xác định $v = \frac{dS}{dt}$, [S] là nồng độ cơ chất ở bất kỳ thời gian nào trong phản ứng ta có phương trình:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{V_{max}|S|}{K_m + |S|}$$

Nhân 2 vế với (-1) ta có:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-V_{max}|S|}{K_m + |S|}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sắp xếp lại phương trình ta có:

$$\frac{1}{V_{max}dt} = -\frac{|S|}{(K_m + [S])dS}$$

Đảo ngược phương trình

$$V_{max}dt = -\frac{K_m + |S|}{|S|}dS$$

Tích phân giữa hai thời gian bất kỳ, ví dụ thời gian t_0 và thời gian t tương ứng với hai nồng độ cơ chất S_0 và S_t ta có phương trình:

$$V_{max}\int_{t_0}^{t} dt = -\int_{S_0}^{S_t}\frac{K_m + |S|}{|S|}dS$$

$$= -\int_{S_0}^{S_t} K_m \frac{dS}{dt} - \int_{S_0}^{S_t}\frac{S}{S}dS$$

$$= -\int_{S_0}^{S_t} K_m \frac{dS}{dt} - \int_{S_0}^{S_t} dS$$

$$V_{max}t = -K_m \ln\frac{S_t}{S_0} - (S_t - S_0)$$

$$= K_m \ln\frac{S_0}{S_t} + (S_0 - S_t)$$

$$\boxed{V_{max}t = 2{,}3K_m \log\frac{S_0}{S_t} + (S_0 - S_t)}$$

S_0 - S_t = Nồng độ cơ chất được sử dụng thời gian t bằng nồng độ sản phẩm sinh ra trong thời gian t.

Phương trình trên có thể nghiên cứu chia theo thời gian t và được viết như sau:

$$\frac{V_{max}t}{t} = \frac{2{,}3K_m \log\frac{S_0}{S_t}}{t} + \frac{(S_0 - S_t)}{t}$$

$$V_{max} - \frac{(S_0 - S_t)}{t} = 2{,}3K_m \log\frac{S_0}{S_t}$$

$$\frac{V_{max}}{K_m} - \frac{(S_0 - S_t)}{K_m t} = \frac{2{,}3}{t}\log\frac{S_0}{S_t}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ta có phương trình:

$$\frac{2,3}{t}\log\frac{S_0}{S_t} = -\frac{1}{K_m}\frac{(S_0 - S_t)}{t} + \frac{V_{max}}{K_m}$$

Phương trình trên có thể viết dưới dạng đường thẳng y = mx + b, ở đây:

$$y = \frac{2,3}{t}\log\frac{S_0}{S_t} \text{ và } x = \frac{(S_0 - S_t)}{t};\ m = -\frac{1}{K_m}$$

Khi y = 0; x = V_{max} ta có thể viết:

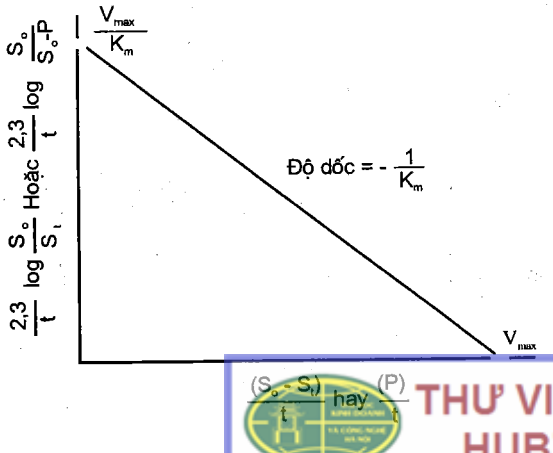
$$0 = -\frac{1}{K_m}\frac{(S_0 - S_t)}{t} + \frac{V_{max}}{K_m}$$

$$-\frac{V_{max}}{K_m} = -\frac{1}{K_m}\frac{(S_0 - S_t)}{t}$$

$$-\frac{K_m V_{max}}{K_m} = \frac{(S_0 - S_t)}{t}$$

$$V_{max} = \frac{(S_0 - S_t)}{t} = \frac{|P|}{t}$$

Như vậy giá trị K_m và V_{max} có thể được xác định bằng cách đo nồng độ của cơ chất bị sử dụng hay sản phẩm tạo thành ở vài thời điểm của phản ứng và xác định như hình 5.23 sau đây:



Hình 5.23. Phương pháp đồ thị xác định K_m và V_{max} từ nồng độ cơ chất và sản phẩm [P]

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.9. Động học phản ứng enzym có hai cơ chất

Phản ứng enzym có hai cơ chất thường được xúc tác bởi enzym loại transferase. Trong công tác chẩn đoán và theo dõi bệnh hai enzym này thường được sử dụng là creatinkinae (CK) và transaminase. Quá trình xúc tác bởi những

loại enzym này có thể xảy ra một giai đoạn nghĩa là quá trình vận chuyển nhóm không thể phân chia được từng bước và quá trình vận chuyển nhóm được phân chia bởi hai giai đoạn nhờ sự biến đổi gốc hoặc nhóm của coenzym tham gia hoạt động xúc tác của enzym.

4.9.1. Phản ứng hai cơ chất một bước

Thí dụ: phản ứng hai cơ chất một bước là sự xúc tác của CK thực hiện phản ứng:

$$\text{Creatin} + \text{ATP} \xrightleftharpoons[\text{pH7}]{\text{Mg}^{++}\ \text{pH9}} \text{Phosphocreatin} + \text{ADP}$$

Creatinkinase (CK hoặc CPK) là adenosin triphosphat: creatin phosphotransferase EC. 2.7. 3.2. Có phân tử lượng 82.000 dalton gồm có 3 isoenzym là CK-MM; CK - MB; CK - BB. Loại enzym này tăng cao và sớm khi bị bệnh nhồi máu cơ tim. Nếu tỷ lệ CK-MB tăng trên 6% thì có thể khẳng định bệnh nhân đang có triệu chứng nhồi máu cơ tim. Do vậy CK được xem là enzym chẩn đoán sớm nhồi máu cơ tim trong nhiều enzym khác.

Trong phản ứng này ATP (A) hay creatin (B) đều có khả năng kết hợp với enzym CK (E), tạo phức hợp ba thành phần. Sau khi vận chuyển nhóm phospho từ ATP sang creatin, cả hai sản phẩm được tạo thành, chất nào cũng có khả năng tách ra trước. Quá trình tổng quát như sau:

$A + E \leftrightarrow AE$ $\qquad$ $AE + B \leftrightarrow EAB$

$E + B \leftrightarrow EB$ $\qquad$ $EB + A \leftrightarrow EBA$

4.9.2. Phản ứng 2 cơ chất hai bước

Thí dụ cho loại phản ứng này là transaminase, enzym có tác dụng vận chuyển nhóm amin từ một acid α amin cho một acid α cetonic. Kết quả của sự chuyển amin sẽ cho các acid amin mới cần thiết cho cơ thể hoặc giúp cho quá trình khử amin của các acid amin không có enzym hoạt động thích hợp ở điều kiện pH của cơ thể. Trong các tổ chức của cơ thể có nhiều loại transaminase nhưng enzym có hoạt độ cao hơn cả và ứng dụng nhiều trong lâm sàng là glutamat oxaloacetat transaminase (GOT, AST) và glutamat pyruvat transaminase (GPT, ALAT), phần coenzym này có vitamin B_6 tham gia. Enzym này được sử dụng trong xét nghiệm bệnh gan và một phần bệnh tim khi không làm được xét nghiệm CK hay troponin. Trong xét nghiệm enzym về bệnh gan hai loại enzym hay được sử dụng là:

- Glutamat pyruvat transaminase (GPT, ALAT)

  (alanin: 2 oxoglutarat amino transferase, EC. 2.6.1.2.)

  Xúc tác cho phản ứng:

$$\text{L - alanin} + \alpha\text{-cetoglutarat} \xrightarrow{\text{GPT}} \text{pyruvat} + \text{glutamat}$$

THƯ VIỆN HUBT
PHÒNG PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

GPT có phân tử lượng 115.000 dalton, coenzym chứa vitamin B_6 dạng pyridoxal phosphat.

- Glutamat oxaloacetat transaminase (GOT, AST)

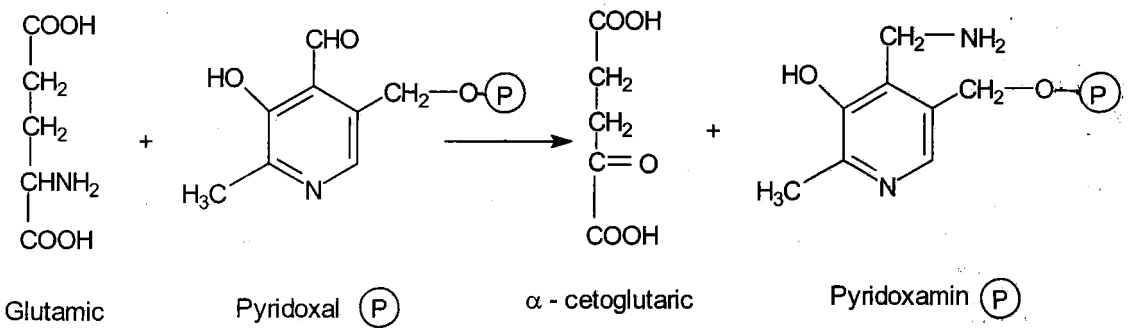
(L - aspartat: 2 oxoglutarat amino transferase, EC. 2.6.1.1.)

Loại này có ở mọi tổ chức nhưng nhiều hơn cả là ở cơ tim, gan và cơ xương. GOT có phân tử lượng 90.000 dalton, xúc tác phản ứng:

$$\text{L - glutamat} + \text{oxaloacetat} \xleftrightarrow{\text{GOT}} \text{L - aspartat} + \alpha\text{-cetoglutarat}$$

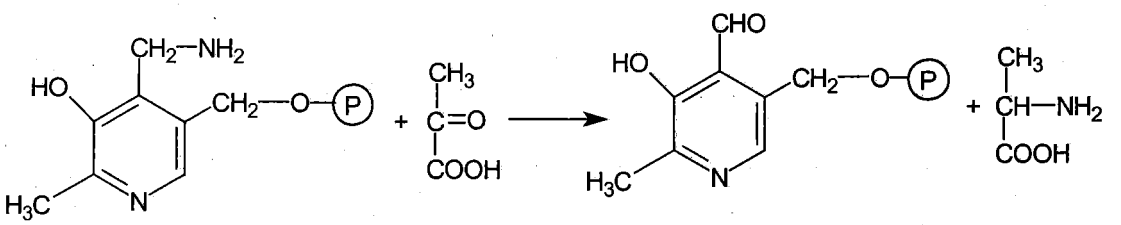
Trong phản ứng loại này, một cơ chất gắn vào enzym và một sản phẩm được giải phóng ra trước khi cơ chất thứ 2 được kết hợp vào enzym và sản phẩm thứ hai được giải phóng ra. Quá trình xảy ra gồm hai giai đoạn như thí dụ phản ứng xúc tác bởi glutamat pyruvat transaminase (GPT):

Giai đoạn 1:



Glutamic Pyridoxal (P) α - cetoglutaric Pyridoxamin (P)

Giai đoạn 2:



Pyridoxamin phosphat Pyruvic Pyridoxal phosphat Alanin

THƯ VIỆN HUBT

5. Tính đặc hiệu của enzym

Tính đặc hiệu của enzym thể hiện tác dụng chọn lọc đối với một cơ chất hay một loại cơ chất nhất định đối với một phản ứng nhất định. Tính chất này do cấu tạo phân tử enzym nhất là trung tâm hoạt động của enzym có tính đặc hiệu rất cao so với những chất xúc tác thông thường khác.

5.1. Tính đặc hiệu gắn liền với cơ chất

Có enzym có tính đặc hiệu tuyệt đối đối với một cơ chất nhất định như urease chỉ xúc tác thuỷ phân urê, arginase chỉ xúc tác thuỷ phân arginin.

Hầu hết các enzym đều có tính đặc hiệu về không gian rất chặt chẽ, trừ trường hợp epimerase và racemase có tác dụng xúc tác quá trình biến đổi lẫn nhau. Tuy vậy nhiều enzym không có tính đặc hiệu tuyệt đối, chúng có thể tác dụng với cả một cơ chất có cấu trúc gần giống nhau hoặc một bộ phận phân tử giống nhau. Chẳng hạn một số esterase có thể tác dụng vào liên kết este của nhiều acid béo với những alcol khác nhau, lactat dehydrogenase tác dụng vào cơ chất lactat và tác dụng cả nhiều chất khác cùng có nhóm - CHOH như lactat.

Tính đặc hiệu kép còn thể hiện ở một số enzym, có tác dụng đặc hiệu với hai cơ chất có cấu trúc hoàn toàn khác nhau như aminocyl - ARN synthetase trong quá trình tổng hợp protein, nó vừa đặc hiệu với acid amin và với ARNt cho nên vừa làm nhiệm vụ hoạt hoá acid amin vừa làm nhiệm vụ vận chuyển acid amin đã được hoạt hoá cho ARNt đặc hiệu.

5.2. Tính đặc hiệu gắn liền với phản ứng

Phần nhiều enzym có tính đặc hiệu đối với một phản ứng, cho nên mỗi một loại phản ứng đều do một enzym xúc tác. Ví dụ phản ứng khử carboxyl của acid amin do enzym decarboxylase xúc tác, phản ứng oxy hoá khử amin của acid amin do amin oxydase, phản ứng trao đổi nhóm amin do aminotransferase xúc tác phản ứng. Có những enzym có khả năng xúc tác nhiều phản ứng như trypsin, chymotrypsin xúc tác đặc hiệu thuỷ phân liên kết peptid và xúc tác phản ứng thuỷ phân liên kết este.

6. Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt động enzym

6.1. Nồng độ cơ chất

Tốc độ phản ứng enzym phụ thuộc nồng độ cơ chất. Nồng độ cơ chất tăng, tốc độ phản ứng xúc tác của enzym tăng, nhưng khi nồng độ cơ chất tăng đến mức cao thì tốc độ phản ứng đạt đến cực đại không tăng nữa. Thời điểm này enzym bão hoà cơ chất.

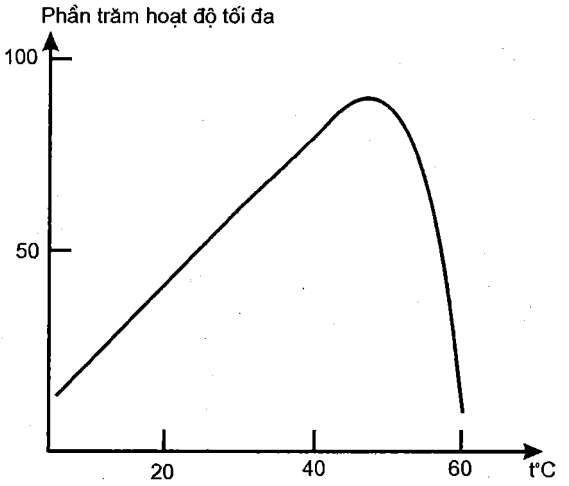
6.2. Nồng độ enzym

Tốc độ phản ứng xúc tác bởi enzym tỷ lệ thuận với hàm lượng enzym nhưng khi tăng cao nồng độ enzym thì tốc độ cũng không tăng nữa do các sản phẩm được tạo ra nhiều sẽ tác dụng vào vị trí dị lập thể của enzym làm cho phản ứng đạt ở mức bão hoà.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.3. Tác dụng của nhiệt độ

Nhiệt độ có tác dụng làm tăng tốc độ của phản ứng enzym lên đến tốc độ cực đại đến chừng nào enzym chưa bị biến tính, mỗi khi tăng nhiệt độ lên 10^0C, tốc độ phản ứng sẽ tăng lên khoảng 2 lần, người ta nói rằng hệ số nhiệt (Q_{10}) của phản ứng nằm trong vùng của 2. Khi nhiệt độ tăng đến khoảng 60 - 70^0C thì phần lớn các enzym mất hẳn hoạt tính và nhiệt độ đó gọi là nhiệt độ tới hạn. Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với hoạt độ của enzym như ở hình 5.24.



Hình 5.24. Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với hoạt độ của một enzym

Tính bền với nhiệt của enzym khác nhau, sự biến tính enzym và protein nói chung bao gồm sự bẻ gẫy nhiều loại liên kết yếu như các liên kết hydro, liên kết kỵ nước, trị số năng lượng cần thiết gây biến tính enzym tính theo mol khá cao, phần lớn vào khoảng 40 ngàn đến 100 ngàn cal/mol.

Sự mất hoạt tính của enzym bởi nhiệt độ cao thường là quá trình bậc 1, nghĩa là tốc độ mất hoạt tính phụ thuộc lũy thừa bậc 1 của nồng độ enzym.

Mỗi enzym yêu cầu một nhiệt độ xúc tác tối ưu riêng, ở nhiệt độ này enzym đạt tốc độ cao nhất. Nhìn chung nhiệt độ thích hợp của enzym gần với nhiệt độ của cơ thể vào khoảng 40°C. Ở các vi sinh vật chịu nhiệt độ cao, enzym của chúng có nhiệt độ thích hợp cao, ví dụ amylase động vật có nhiệt độ thích ứng khoảng 45 - 50°C nhưng α - amylase của vi sinh vật chịu nhiệt có nhiệt độ thích hợp là 70°C, đối với các enzym của các vi sinh vật cảm ứng sống trong các suối nước nóng thì nhiệt độ thích hợp vào khoảng gần nhiệt độ sôi của nước. Nhiều enzym thực vật có nhiệt độ thích hợp khá cao như papain ở 80°C vẫn còn khả năng hoạt động.

Nhiệt độ thích hợp của một enzym không cố định mà phụ thuộc nhiều yếu tố, thời gian tác dụng càng dài thì nhiệt độ thích hợp của enzym thấp dần. Nồng độ enzym, nồng độ cơ chất, dạng tồn tại của enzym cũng có thể làm thay đổi tác dụng của nhiệt độ đối với enzym. Nói chung, enzym ở dung dịch loãng, không có cơ chất, thường kém bền nhất; ở trạng thái khô và có cơ chất thì khá bền với nhiệt.

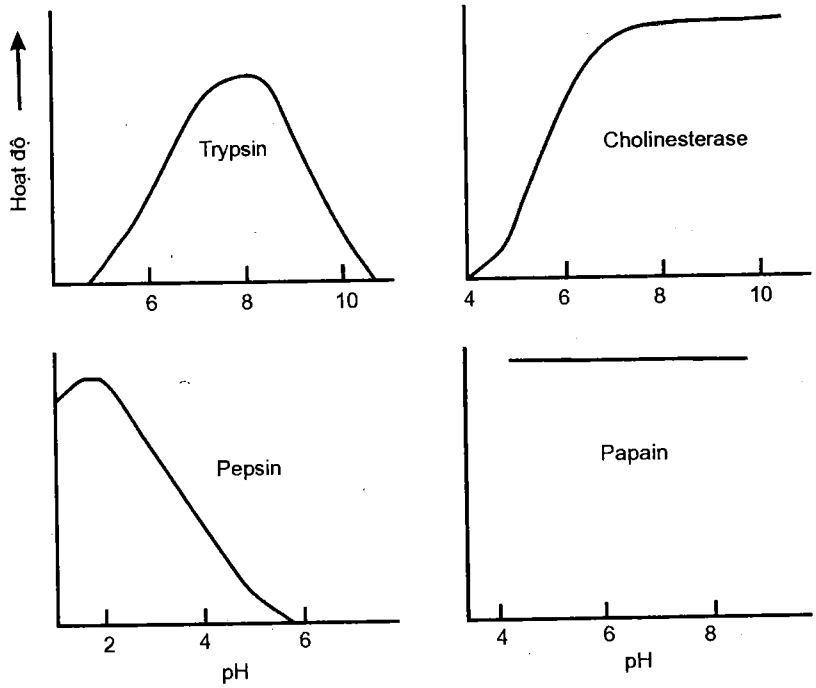
6.4. Tác dụng của pH

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ TRÊM KHÔ NỘI BỘ

Enzym rất nhạy cảm với pH của môi trường; nó ảnh hưởng rất lớn đối với tốc độ của phản ứng enzym. Mỗi enzym có một giá trị pH cho hoạt động của mình. Rất nhiều enzym có pH thích hợp ở vùng trung tính nhưng có enzym hoạt động tốt ở vùng rất acid như pepsin (pH = 1,5) hay ở vùng kiềm như phosphatase kiềm (pH 9 - 10) (hình 5.25).

pH ảnh hưởng đối với các phản ứng của enzym do nhiều tác dụng rất khác nhau do pH tác dụng vào trạng thái ion hoá của phân tử enzym (nhất là do các

nhóm hoạt động của enzym), vào trạng thái ion hoá của cơ chất, vào độ bền vững của phân tử enzym và ảnh hưởng đến sự kết hợp giữa phần protein và phần phụ không phải protein. Đối với enzym có những nhóm hoạt động đặc biệt có thể tồn tại dưới nhiều dạng ion khác nhau và thường chỉ ở một trạng thái có tác dụng xúc tác. pH có tác dụng quyết định đối với trạng thái ion hoá của phân tử enzym nói chung và các nhóm hoạt động của enzym nói riêng nên ảnh hưởng đến hoạt tính của enzym.



Hình 5.25. Ảnh hưởng của pH đối với một số enzym trong quá trình xúc tác

Trong nhiều trường hợp cơ chất là những chất ion hoá và phản ứng phụ thuộc vào một trạng thái ion nhất định của cơ chất. Các phân tử enzym chỉ bền ở một pH nhất định, phần lớn ở vùng pH trung tính. Tuy vậy có enzym bền vững ở vùng pH rất acid như pepsin và mất nhanh chóng hoạt tính ở pH trung tính hay kiềm. pH còn ảnh hưởng đến sự liên kết của phần apoenzym và coenzym, đã làm ảnh hưởng đến hoạt tính của enzym. Chẳng hạn trong dung dịch acid, phân tử peroxydase được hồi phục. pH tối ưu của phản ứng enzym còn phụ thuộc trạng thái cơ chất và nhiệt độ. Ví dụ maltase có pH tối ưu là 6,2 khi cơ chất là metyl glucosid, pH tối ưu là 6,6 khi cơ chất là maltose. Nếu nhiệt độ phản ứng là 47°C thì pH tối ưu của maltose là 4,8 nhưng nếu nhiệt độ ở 37°C thì pH tối ưu là 7,2. Urease có pH tối ưu là 6 khi nồng độ cơ chất urê là 8% nhưng ở dung dịch urê 1% thì pH tối ưu là 7,5.

THƯ VIỆN HUBT

6.5. Tác dụng của ion kim loại

Sự có mặt hay vắng mặt ion kim loại không thể hiện rõ đối với một số enzym nhưng nhiều enzym chịu ảnh hưởng sâu sắc đến nồng độ và bản chất của ion kim loại. Có một số ion kim loại hầu như tuyệt đối cần thiết cho sự hoạt động của một

số enzym; nhưng cũng có những ion kim loại như Ag^+, Hg^+, Pb^{++} có độc tính cao với hầu hết các enzym. Một số ion kim loại ức chế enzym này nhưng lại hoạt hoá enzym kia. Có những ion kim loại ức chế một enzym ở nồng độ này nhưng lại hoạt hoá chính enzym đó ở nồng độ khác. Tác dụng của ion kim loại rất phức tạp vì nó còn tác dụng với cả trung tâm hoạt động và cơ chế xúc tác của enzym.

6.6. Tác dụng của chất hoạt hoá

Chất hoạt hoá có khả năng làm tăng tác dụng xúc tác của enzym. Chất hoạt hoá thường có bản chất rất khác nhau. Ví dụ các anion nhóm halogen như Cl^-, Br^-, I^- có tác dụng hoạt hoá α amylase. Glutathion có tác dụng hoạt hoá nhiều enzym protease thực vật, một số enzym oxy hoá khử có nhóm hoạt động –SH. Cystein là acid amin hoạt hoá nhiều enzym có nhóm –SH hoạt động. Tác dụng hoạt hoá của glutathion, cystein là do khả năng khử liên kết disulfur của phân tử enzym. Các enzym có nhóm – SH hoạt động thường chỉ hoạt động được khi các nhóm này ở dạng khử. Nhiều ion kim loại cũng có tác dụng hoạt hoá enzym.

6.7. Chất ức chế

Là những chất làm giảm tốc độ xúc tác của enzym. Chất ức chế có thể gây ra quá trình ức chế cạnh tranh, ức chế không cạnh tranh và ức chế trên phức hợp enzym cơ chất.

7. Cơ chế hoạt động chung của enzym

Cơ chế xúc tác chung của enzym là làm giảm năng lượng hoạt hoá, làm tăng nhanh tốc độ phản ứng. Hoạt động xúc tác của enzym bao gồm nhiều yếu tố và có thể kể một số yếu tố chính như sau:

– Sự tiếp cận và định hướng: cơ chất được tiếp cận với enzym sao cho liên kết cảm thụ của cơ chất được tiếp cận với các nhóm hoạt động của enzym và được định hướng chính xác với các nhóm ấy. Quá trình này sẽ gây ra sự biến đổi các quỹ đạo liên kết của chúng làm cho phức hợp enzym - cơ chất ở vào trạng thái hoạt hoá.

– Mối quan hệ giữa hình dạng không gian của enzym đối với hoạt động xúc tác: cấu trúc phân tử không gian của enzym có liên quan mật thiết với hoạt động xúc tác của enzym. Sự biến đổi cấu trúc không gian của enzym nhất là trung tâm hoạt động xúc tác của enzym. Người ta cho rằng, sự kết hợp giữa enzym và cơ chất tạo thành phức hợp trung gian [ES] đã gây ra tác dụng cảm ứng tương hỗ tức thời giữa enzym và cơ chất. Cấu trúc enzym luôn luôn được biến đổi sao cho các nhóm hoạt động của enzym được định hướng chính xác và tiếp cận thuận lợi với cơ chất sao cho phân tử cơ chất bị "căng ra" hoặc bị "xoắn lại" và dễ dàng bị bẻ gãy.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO, NỘI BỘ

– Sự tiếp xúc acid - base: nhờ sự xúc tác acid base mà hầu hết các phản ứng xảy ra trong cơ thể thực hiện ở môi trường pH trung tính, nồng độ H^+ và OH^- rất thấp. Nếu không có cơ chế này các phản ứng hoá học thường xảy ra ở môi trường có nồng độ H^+ và OH^- cao. Với những nhóm hoạt động đặc biệt có khả năng nhường hay nhận proton enzym thực hiện được quá trình xúc tác acid - kiềm này. Sự xúc tác này phụ thuộc hai yếu tố quan trọng: thứ nhất là lực của acid base, nghĩa là hằng số phân ly proton của chúng; thứ hai là tốc độ nhường hay nhận

proton base của acid - base. Thí dụ nhóm imidazol của histidin là một trong những chất xúc tác acid base khá mạnh.

– Sự xúc tác đồng hoá trị: nhiều enzym có thể kết hợp với cơ chất bằng liên kết đồng hoá trị tạo phức hợp trung gian có hoạt tính cao, giảm được năng lượng hoạt hoá của phản ứng để cơ chất dễ dàng tham gia phản ứng tạo sản phẩm. Hoạt động của enzym thường thông qua hợp chất trung gian enzym - cơ chất đồng hoá trị được phân biệt theo gốc acid amin của enzym được trực tiếp phản ứng với cơ chất. Nhóm serin bao gồm acetylcholinesterase, chymortrypsin, trypsin, phospho - glucomutase... Trong những enzym này, nhóm hydroxyl của gốc serin đặc hiệu của enzym tham gia tạo thành liên kết este hoặc với nhóm acyl như trong trường hợp của chymotrypsin để tạo phức hợp trung gian acyl - enzym hoặc với nhóm phosphat trong trường hợp phosphoglucomutase để tạo ra một phosphoenzym. Trong nhóm cystein bao gồm phosphoglucomutase dehydrogenase, papain, acetyl CoA acetyl transferase liên kết đồng hoá trị thioeste được hình thành giữa nhóm acyl của cơ chất và nhóm sulfuhydryl của gốc cystein đặc hiệu của enzym. Nhóm histidin bao gồm một số enzym vận chuyển nhóm phosphat như gluco 6 phosphatase, succinyl CoA sythetase. Những enzym này có nhóm imidazol của histidin đặc hiệu của enzym được phosphoryl hoá. Nhóm lysin bao gồm enzym fructodiphosphat aldolase, tranaldolase, D - amino acid oxidase, hợp chất trung gian của chúng là base Schiff giữa nhóm ε - NH_2 của lysin đặc hiệu của enzym và nhóm carbonyl của cơ chất.

Cơ chế tác dụng của enzym không phải do một yếu tố đơn độc mà tác dụng tổng hợp của nhiều yếu tố, nhiều nhóm hoạt động của enzym tạo ra. Cơ chế tác dụng của từng enzym rất phức tạp và có những đặc điểm riêng trong đó có vai trò xúc tác của enzym do các nhóm chức trong phân tử enzym. Bản chất enzym là protein, phân tử của chúng gồm hàng trăm hoặc hàng ngàn gốc acid amin, các acid amin này liên kết với nhau bằng các liên kết peptid qua các nhóm α - carboxyl và α - amin. Tất cả các acid amin (trừ glycin) đều có mạch nhánh. Các mạch nhánh này thường ở trạng thái tự do và tuỳ theo bản chất của nó, có thể tham gia vào những phản ứng hoá học nhất định. Trong số những acid amin cấu tạo nên trung tâm hoạt động của enzym có những acid amin có mạch nhánh với hoạt tính hoá học cao. Các nhóm này tạo nên các nhóm chức năng của trung tâm hoạt động; có những nhóm trực tiếp tham gia vào các hoạt động xúc tác; có những nhóm khác làm nhiệm vụ kết hợp và định hướng cho cơ chất và coenzym và tạo nên bộ phận tiếp xúc của enzym. Tuy nhiên ta không thể xác định được một ranh giới rõ rệt giữa các nhóm "xúc tác" và các nhóm "tiếp xúc" vì những nhóm tiếp xúc cũng thường tham gia vào sự xúc tác. Các nhóm chức năng thường nằm ở những bộ phận khác nhau trong các chuỗi polypetid của phân tử enzym, nhưng do sự cuộn khúc của các mạch peptid, các nhóm đó lại gần kề nhau về không gian và định hướng theo một cách nhất định. Sự phá huỷ hoặc khoá một nhóm chức năng nào đó thường gây ra sự ngừng hẳn hoặc làm chậm phản ứng xúc tác. Khi cấu trúc bậc ba hay bậc bốn của phân tử enzym bị hư hại hoặc rối loạn vì lý do vật lý hay hoá học nào đó, cũng thường gây tổn hại đến cấu trúc tinh vi của trung tâm hoạt động là rối loạn sự định hướng tương hỗ của các nhóm chức năng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA CỨU KHÁCH NỘI BỘ

Các nhóm chức năng thường có trong phân tử enzym bao gồm:

- Các nhóm carboxyl của acid aspartic và acid glutamic
- Nhóm ε - amin của lysin
- Nhóm guanidin của arginin
- Nhóm indol của tryptophan
- Nhóm imidazol của histidin
- Nhóm hydroxyl của serin và threonin
- Nhóm phenol của tyrosin
- Nhóm sulfuhydryl của cystein
- Nhóm thioeste của methionin

Những mạch carbon của những acid amin khác và vòng thơm của phenylalanin, các nhóm chức năng tham gia vào hoạt động xúc tác của enzym bằng nhiều cơ chế. Nhờ khả năng nhường hoặc nhận proton, chúng có thể hoạt động như những chất xúc tác acid hoặc chất xúc tác theo nghĩa rộng. Chúng cũng có thể liên kết bằng liên kết đồng hoá trị với cơ chất tạo thành phức hợp enzym - cơ chất có hoạt tính cao, để thực hiện cơ chế xúc tác đồng hoá trị.

Trong những enzym có chứa kim loại, nhiều trường hợp chính ion kim loại đóng vai trò trung gian giữa những nhóm chức năng của enzym và cơ chất. Ion kim loại là những chất mang điện tích dương, có thể đóng vai trò chất hút điện tử rất mạnh và do đó tham gia vào cơ chế phản ứng rất có hiệu lực. Trong một số enzym loại thuỷ phân nhất là loại thuỷ phân liên kết peptid, thường có chứa những ion kim loại như Mg^{++}, Mn^{++}, Zn^{++}... Những ion này có thể đóng vai trò chất hút điện tử trong cơ chế phản ứng enzym và có thể gây tác dụng phân cực.

8. Hoạt động của một số enzym

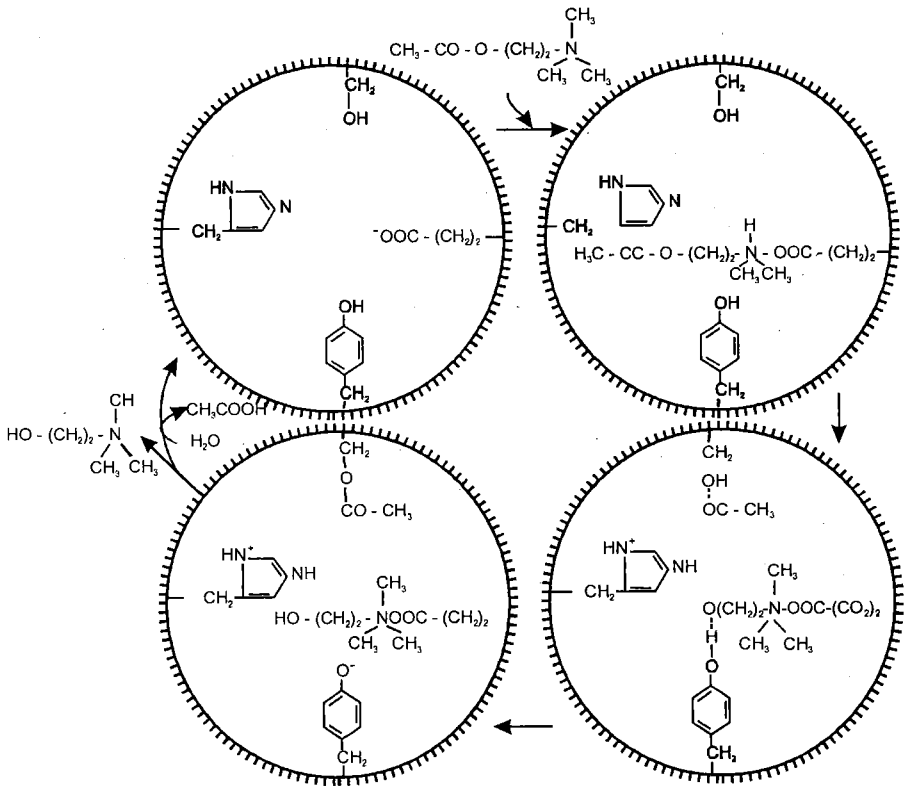
8.1. Ribonuclease

Enzym thuỷ phân acid nucleic gồm 124 acid amin có 4 liên kết disulfur có tác dụng tham gia bảo vệ cấu trúc không gian của phân tử enzym. Ngoài ra His - 12 và His - 119 giữ vai trò quan trọng trong xúc tác của enzym.

8.2. Cholinesterase

Enzym xúc tác thuỷ phân acetyl cholin, chất này giữ vai trò quan trọng là chất trung gian hoá học trong việc dẫn truyền xung động thần kinh. Trung tâm hoạt động của enzym bao gồm chủ yếu 4 acid amin là Glu, Ser, His và Tyr. Trước tiên acetyl cholin gắn vào α carboxyl của Glu để tạo phức hợp rồi tạo thêm liên kết giữa - CO - của acetylcholin với nhóm - OH của serin và xuất hiện thêm liên kết hydro giữa nhóm -OH của tyrosin với oxy của acetyl cholin. Kết quả là liên kết giữa nhóm - CO - với oxy trong phân tử acetyl cholin (H_3C-O-CH_2) bị căng ra ở hai đầu và liên kết bị yếu đi như hình 5.26.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 5.26. Cơ chế tác dụng của cholinesterase

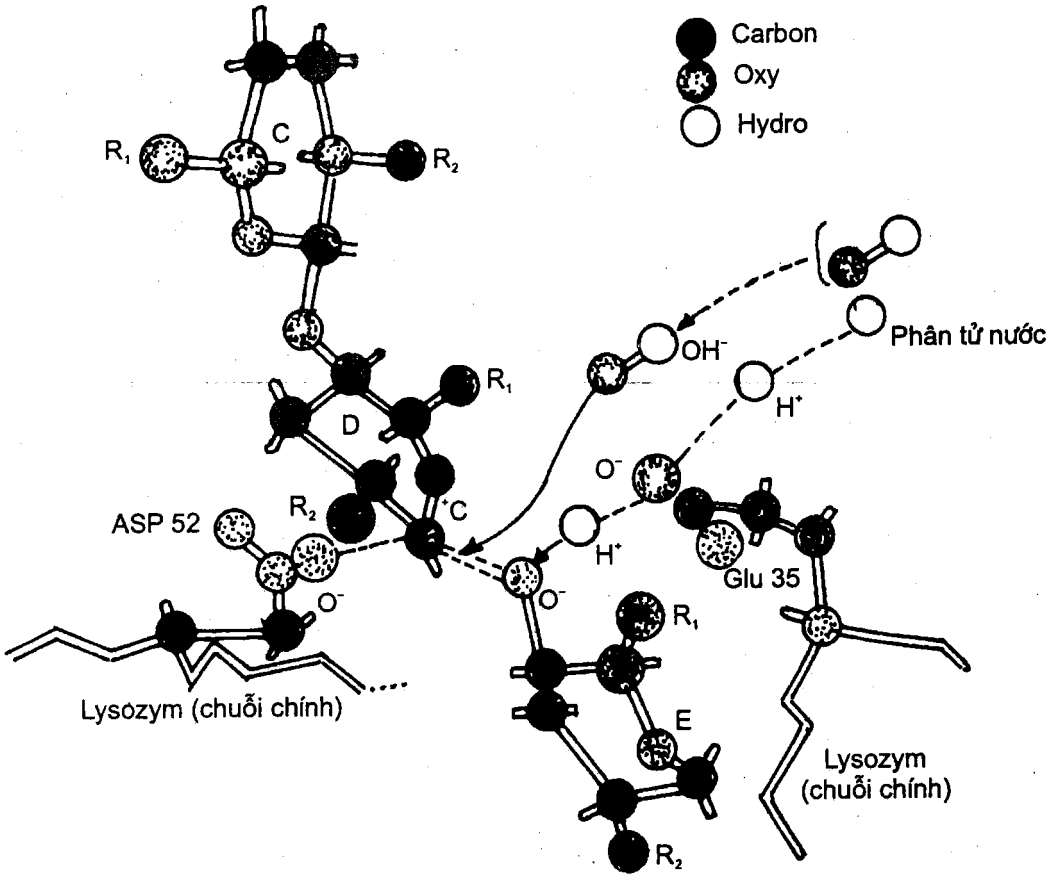
Dưới tác dụng của nhân imidazol của histidin, hydro của nhóm -OH acid amin serin hoạt động được chuyển tới imidazol tạo liên kết este giữa serin với nhóm acetyl của acetyl cholin, cắt đứt liên kết este của acetyl cholin. Hydro của nhóm - OH của tyrosin được chuyển đến gốc cholin. Giai đoạn cuối là sự giải phóng cholin và acid acetic đồng thời kết hợp nước vào trung tâm hoạt động của enzym, khôi phục trạng thái ban đầu.

8.3. Lysozym

Lysozym là một enzym thuỷ phân polysaccarid giữa liên kết β 1.4. glucosidic giữa N acetyl muramic và N - acetyl glucosamin trong thành màng vi khuẩn ký hiệu E.C. 3.2.1.17. Nó là polypeptid dạng hình cầu có 129 acid amin với 4 cầu nối disulfur là hỗn hợp của globulin G_1, G_2 và G_3, chủ yếu loại G_1 có trọng lượng phân tử 14.000 đơn vị. Lysozym được tách chiết từ lòng trắng trứng gà và vịt, có tác dụng phá huỷ màng tế bào của vi khuẩn nên được dùng làm thuốc hay kết hợp với kháng sinh làm thuốc.

Cơ chế tác dụng của lysozym đã được nghiên cứu như hình 5.27.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 5.27. Cơ chế tác dụng của lysozym trong quá trình thuỷ phân polysaccarid

Ghi chú: Trên đây là sơ đồ mô tả cơ chế tác dụng của lysozym trong quá trình thuỷ phân polysaccarid. Các nhóm hoạt động của enzym là mạch nhánh - COOH của glutamin 35 và - COO - của aspartyl - 52. Các monosaccarid được ký hiệu là C, D, E. Các mạch nhánh của đường được ký hiệu như:

$$R_1 = CH_2OH;\ R_2 = -NH-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3$$

Trung tâm hoạt động của lysozym nằm ở các khe trên phân tử enzym. Sự kết hợp enzym - cơ chất là những mạng lưới chằng chịt liên kết hydro và những phản ứng tương hỗ không cực. Tham gia vào phản ứng này bởi nhiều loại nhóm có cực và không có cực như các mạch nhánh của acid amin, các nhóm amid, các nhóm carboxyl của liên kết peptid, đây là phản ứng tương hỗ đa ái lực nghĩa là kết hợp với nhau ở nhiều điểm. Khi cơ chất kết hợp với enzym đã làm cho nguyên tử đường của cơ chất chuyển dạng ghế, thông thường bền vững thành dạng mới có nguyên tử carbon 1 và 2, nguyên tử oxy 5 đều ở cùng trên một mặt phẳng, gây sự biến dạng trong cấu tạo cơ chất làm cho liên kết bị yếu đi đưa đến cắt đứt liên kết ozid giữa oxy và nguyên tử carbon 1 của đường.

THƯ VIỆN HUBT

Mặc dầu cơ chế tác dụng xúc tác của lysozym có tính chất suy đoán nhưng rất phù hợp với cơ chế chung của enzym.

8.4. Chymotrypsin

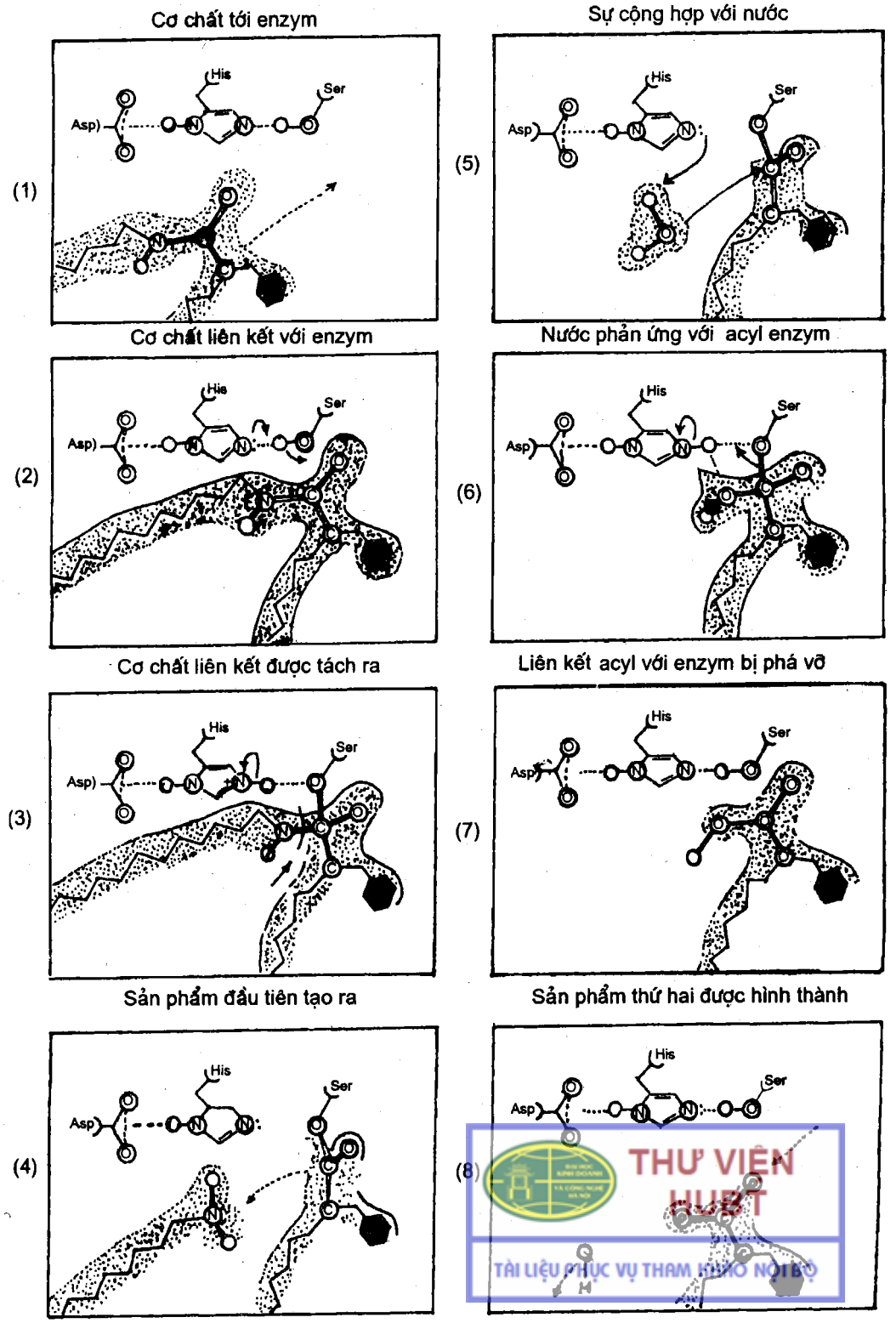
Chymotrypsin và những serin - protease có trung tâm hoạt động gốc histidin 57 được khu trú giữa gốc aspartic 102 và serin - 195. Ba gốc được nối với nhau bằng liên kết hydro thành phức hợp "di chuyển điện tích". Trong phản ứng thuỷ phân này sự gắn cơ chất vào enzym gây ra sự di chuyển proton tạo phức trung gian acyl - enzym để giải phóng sản phẩm acid amin. Tiếp đó phân tử nước tham gia phản ứng, quá trình tiếp tục xảy ra như hình 5.28 để tạo thành sản phẩm thứ 2 và enzym trở về trạng thái ban đầu.

9. Chất cộng tác của enzym (cofactor)

Nhiều loại enzym hoạt động yêu cầu có sự cộng tác của chất hữu cơ đặc hiệu gọi là coenzym hay nhóm phụ, song nhiều trường hợp lại yêu cầu ion kim loại, những chất này có vai trò cộng tác với enzym được gọi là cofactor. Cofactor có thể gắn chặt vào phân tử enzym hay lỏng lẻo có thể tách ra được còn gọi là coenzym. Ngày nay người ta gọi chung những chất cộng tác với enzym là coenzym, thường hoạt động với số lượng rất nhỏ so với số lượng của cơ chất. Sau mỗi phản ứng nhờ tác động của hệ thống enzym khác, coenzym trở lại trạng thái ban đầu để tiếp tục tham gia phản ứng. Coenzym còn có tác dụng giúp cho sự duy trì, ổn định hình dạng và cấu trúc polyme đặc hiệu của enzym. Một coenzym có thể cộng tác với nhiều enzym như NAD^+, $NADP^+$ có thể phối hợp với nhiều enzym khử hydro. Ngoài các coenzym quen thuộc, nhiều chất chuyển hoá đóng vai trò trung gian trong các quá trình chuyển hoá cũng mang những đặc tính của coenzym; thí dụ acid ascorbic, glucose 1 - 6 diphosphat.

Cấu trúc của coenzym thường là nucleotid đơn hay đôi hoặc một phần cấu tạo phân tử là cấu trúc nucleotid, một số coenzym có nhóm hem. Coenzym có liên quan đến nhiều loại vitamin, vitamin là thành phần cấu tạo của coenzym. Coenzym thường gặp nhiều là những coenzym oxy hoá khử và vận chuyển nhóm như bảng sau (bảng 2).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 5.28. Những bước xúc tác thuỷ phân của chymotrypsin

Các coenzym oxy hoá khử gồm 5 nhóm: nicotinamid, flavin, quinon, metaloporphyrin và nhóm sắt không gắn vào porphyrin. Các nhóm này khác nhau về thế năng oxy hoá khử, về số điện tử được vận chuyển trong quá trình chuyển dạng khử sang dạng oxy hoá. Ba nhóm đầu trao đổi ion hydro và các phản ứng do chúng xúc tác đều thuộc loại vận chuyển hydro. Hai nhóm sau chỉ trao đổi điện tử và các phản ứng do chúng xúc tác thuộc nhiều loại khác nhau. Thế năng oxy hoá khử của loại này thay đổi rất nhiều, tuỳ thuộc phân tử protein và chất cộng tác gắn vào.

Các coenzym vận chuyển nhóm chia làm hai nhóm chính. Nhóm thứ nhất gồm có coenzym A, glutathion, acid lipoic và S - adenosyl - methionin. Phần hoạt động chính của các phân tử nhóm này là một nguyên tử lưu huỳnh (S), nguyên tử lưu huỳnh này có khả năng chứa mười điện tử ở lớp điện tử ngoài cùng, có vai trò như cái túi hút điện tử, do đó làm tăng khả năng ion hoá của nguyên tử carbon (C) liên kết với nó, nhóm thứ hai gồm có biotin, thiamin pyrophosphat, pyridoxal phosphat và acid folic. Tác dụng của những chất này chủ yếu là nhờ một hệ thống liên hiệp, bao gồm một dị nguyên tử. Với tác dụng của dị nguyên tử, bộ phận phản ứng của coenzym được ion hoá thành anion. Sự ion hoá này đã tạo ra giai đoạn mở đầu quá trình phản ứng.

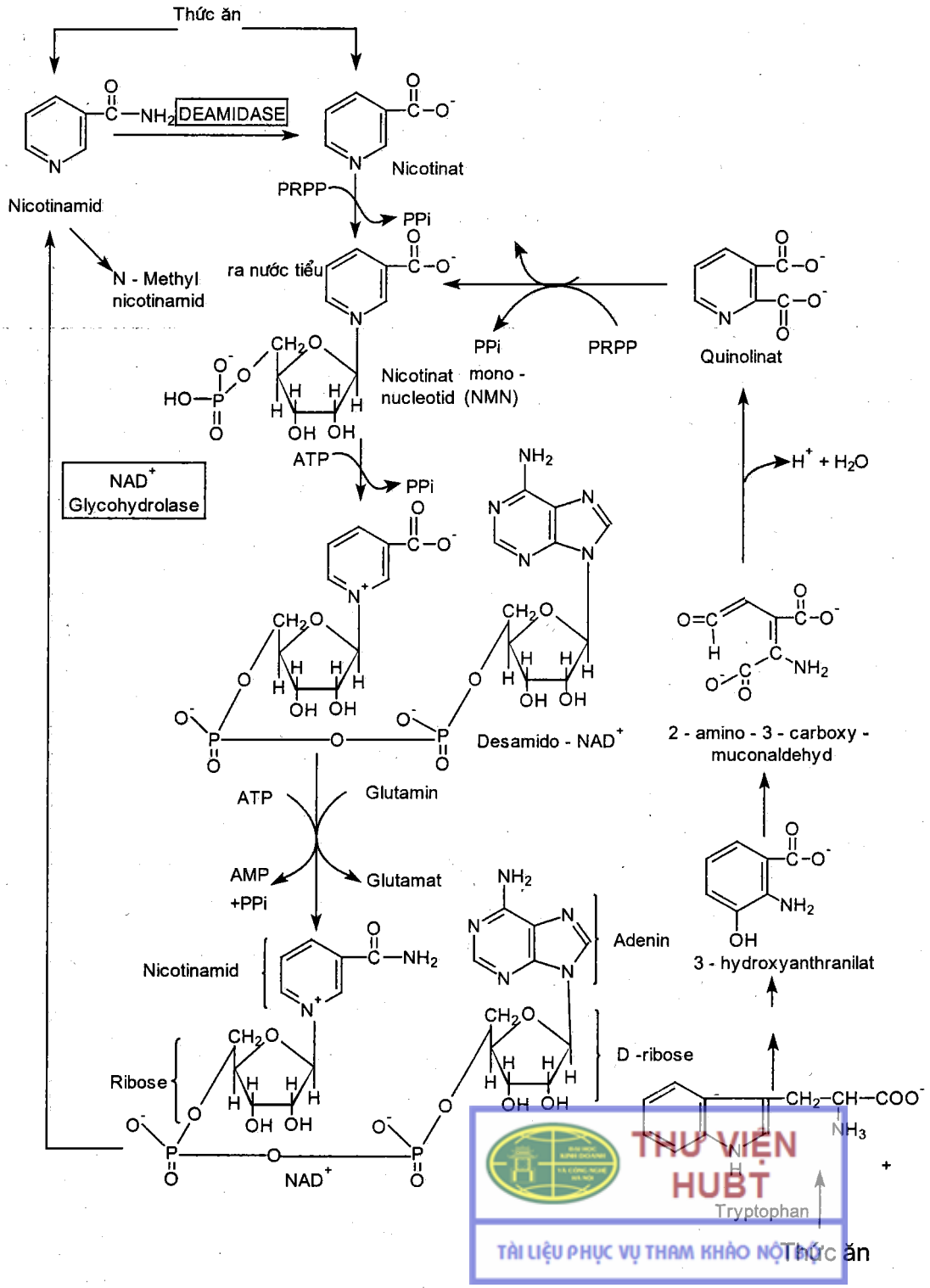
Sau đây là một số coenzym quen thuộc:

– *Coenzym nicotinamid:*

Trong loại này thường gặp hai chất chính là nicotinamid adenin dinucleotid, viết tắt là NAD^+ và nicotinamid adenin dinucleotid phosphat viết tắt là $NADP^+$. Thành phần cấu tạo phân tử của chúng đều có: một phân tử adenin, hai phân tử ribose và hai phân tử acid phosphoric. Riêng $NADP^+$ có thể có một gốc phosphat thứ ba. Hai coenzym có trong tất cả mọi tế bào; NAD^+ thường có số lượng nhiều hơn $NADP^+$ khoảng mười lần.

Hai coenzym này tham gia vào những phản ứng oxy hoá - khử do các enzym dehydrogenase xúc tác. Các enzym này rất đặc hiệu với NAD^+ hoặc $NADP^+$. Một số enzym có thể hoạt động với cả hai coenzym nhưng thường đặc hiệu với coenzym này nhiều hơn so với coenzym kia. Nói chung NAD^+ thường tham gia vào những phản ứng oxy hoá - khử để cung cấp năng lượng cho cơ thể, còn $NADP^+$ thường tham gia vào những phản ứng sinh tổng hợp. Các phản ứng có sự tham gia của các coenzym này thường là những phản ứng liên quan đến liên kết đôi giữa carbon và oxy, giữa carbon và nitơ, và trong một số trường hợp giữa carbon và carbon. Quá trình chuyển hoá coenzym nicotinamid đã được nghiên cứu về sự thoái hoá và tổng hợp như hình 5.29.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 5.29. Sự sinh tổng hợp và thoái hoá của coenzym nicotinamid trong cơ thể

Bảng 5.2. Mối liên quan của một số vitamin với coenzym

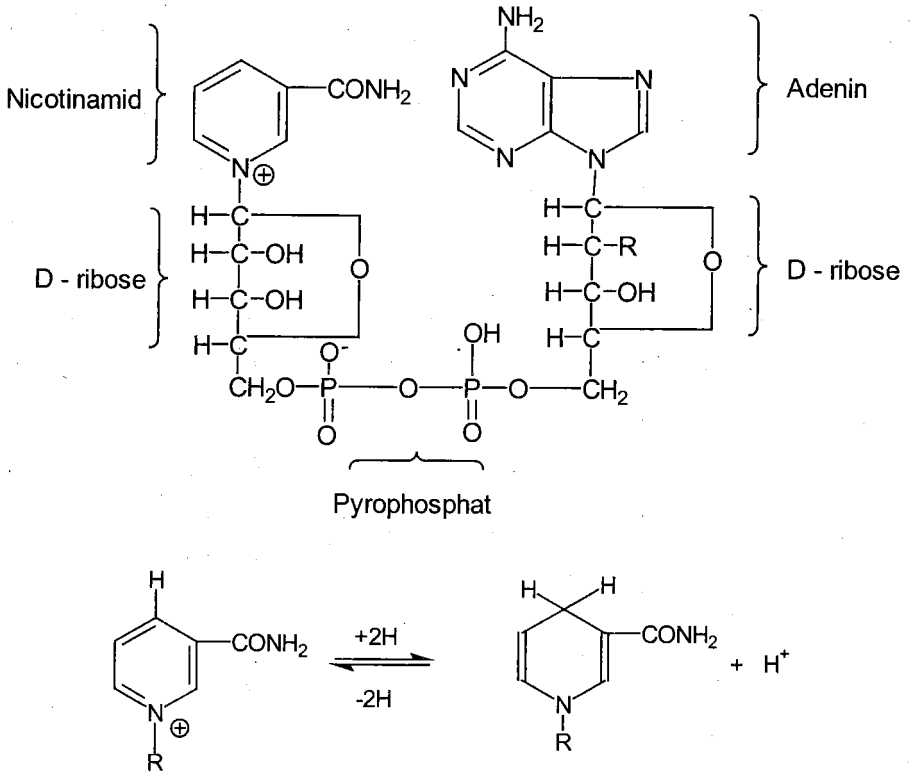
Loại enzym	Coenzym	Vitamin
1. Oxydoreductase	Nicotinamid (NAD^+, $NADP^+$) Flavin ($FADH_2$, $FMNH_2$) Quinon Sắt hem Sắt không hem	Vitamin PP Vitamin B_2
2. Transferase	Coenzym A S. Adenosyl methionin Acid lipoic Glutation Acid tetrahydrofolic Pyridoxal phosphat Thiamin pyrophosphat Biotin Nucleosid triphosphat Metyl cobalamin	Acid pantothenic Acid folic Vitamin B_6 Vitamin B_1 Vitamin H Vitamin B_{12}
3. Hydrolase 4. Lyase	 Thiamin pyrophosphat	 Vitamin B_1
5. Isomerase	Cobamid	Vitamin B_{12}
6. Ligase		

Cơ chế hoạt động của hai coenzym giống nhau. Trong quá trình oxy hoá khử, nhân nicotinamid trực tiếp tham gia phản ứng, carbon ở vị trí 4 của nhân này có khả năng nhường hoặc nhận một nguyên tử hydro, phần còn lại của coenzym là để kết hợp vào enzym. Trong phản ứng này, một nguyên tử hydro của cơ chất đã gắn lên nhân nicotinamid, còn một nguyên tử hydro khác xuất hiện trong môi trường dưới dạng proton vì điện tử của nó đã kết hợp vào nhân nicotinamid và trung hoà điện tích dương của nhân này (hình 5.30).

– *Coenzym flavin:* loại này thường gặp hai chất quen thuộc là flavin mono nucleotid (FMN) và flavin adenin dinucleotid (FAD).

Cấu tạo phân tử của hai chất này đều có nhân flavin. Chính nhân này có bộ phận trực tiếp tham gia vào phản ứng oxy hoá - khử. Các enzym kết hợp với coenzym flavin được gọi dưới tên chung là flavoprotein. Độ bền vững và bản chất của coenzym flavin với các enzym thường rất khác nhau. Trong phần lớn trường hợp, sự kết hợp này khá bền vững, chỉ có thể tách rời coenzym ra trong môi trường acid hoặc qua phương pháp kết tủa bằng amoni sulfat. Ngoài tác dụng vào liên kết giữa carbon với một di nguyên tử như S, O, N... các enzym flavoprotein còn tác dụng vào nhiều loại liên kết khác (hình 5.31).

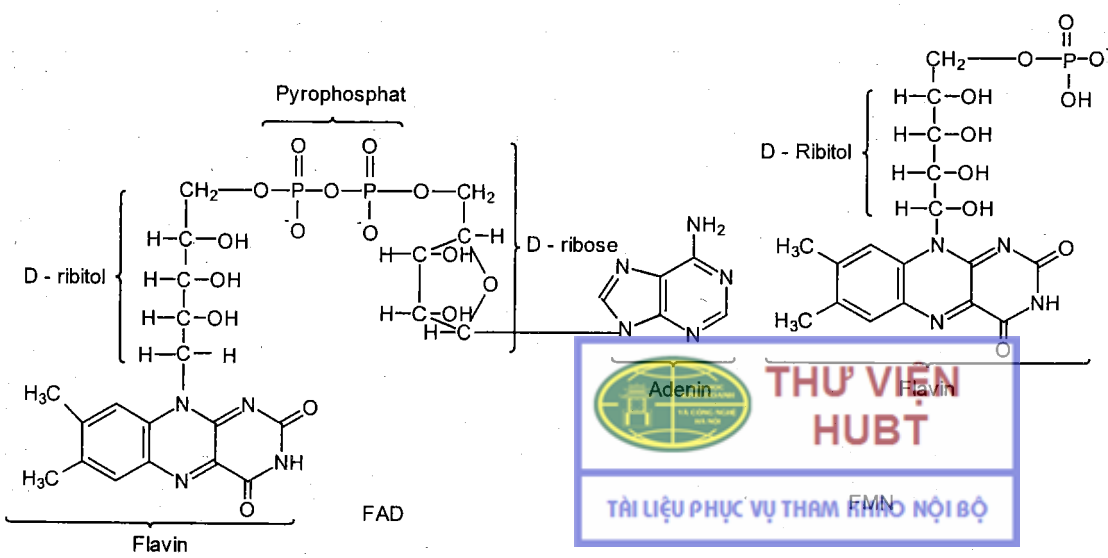
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 5.30. Cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym nicotinamid

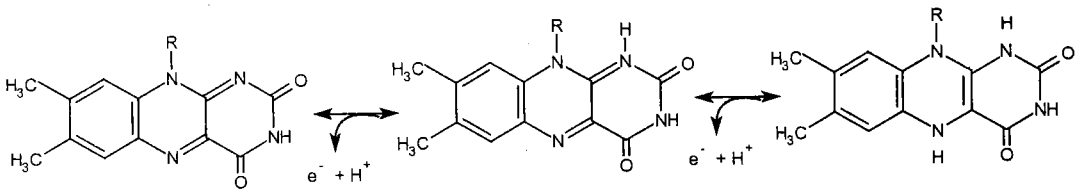
Ghi chú: trong cấu tạo của NAD^+ thì R = -OH

Trong cấu tạo của $NADP^+$ thì R = $-O-PO_3H_2$



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 5.31. Cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym flavin

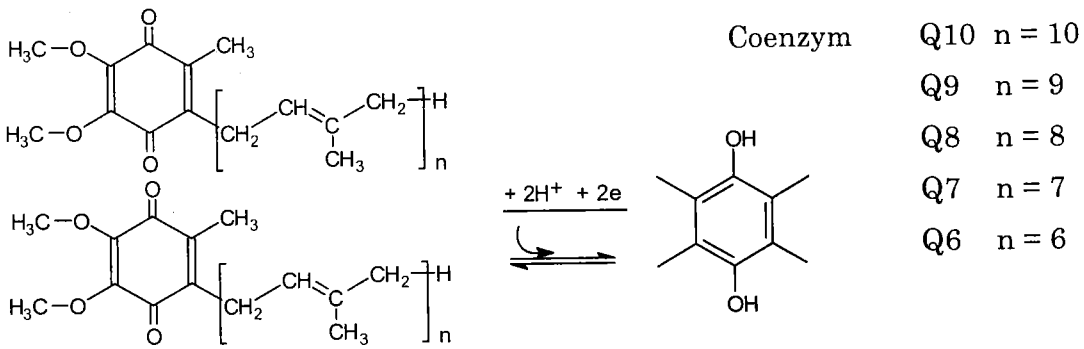


Hình 5.32. Cơ chế sự khử của vòng isoallosazin của flavin nucleotid

Về cơ chế tác dụng, các tài liệu thực nghiệm chỉ ra rằng các phản ứng khử đã xảy ra qua hai bước: bước thứ nhất, một nguyên tử hydro được gắn lên N_1 của flavin và làm giảm đi một liên kết đôi, nhân này mang một điện tử độc thân ở N_5, điện tử này được giữ ổn định là do đặc tính cộng hưởng cao của nhân; bước thứ hai, một nguyên tử hydro nữa được kết hợp vào N_5 và tạo nên coenzym dạng khử.

– *Coenzym quinon:*

Coenzym này được gọi là coenzym Q hay uquinon. Trên thực tế có hàng loạt coenzym quinon đều là dẫn xuất của benzo - quinon và đều có mạch nhánh dài gồm nhiều gốc terpen. Mạch nhánh này của mỗi chất có chiều dài khác nhau, nghĩa là có số lượng (n) gốc terpen khác nhau.



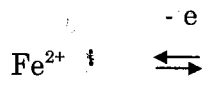
Hình 5.33. Cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym quinon

Coenzym Q ở loài động vật có vú thường có mạch nhánh dài tới 10 gốc terpen, gọi là coenzym Q_{10} (n = 10). Tất cả những chất này đều là những coenzym oxy hoá khử. Nhờ có khả năng biến đổi thuận nghịch giữa dạng quinon và dạng quinol, các chất này tham gia vào quá trình oxy hoá khử giữa những dehydrogenase và cytocrom b trong chuỗi hô hấp tế bào của ty thể. Vitamin K và vitamin E cũng được xếp vào loại chất này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Coenzym hem:*

Có nhiều enzym cần chất cộng tác là nhóm hem. Thí dụ như hệ thống cytocrom, catalase, peroxydase và một số oxydase. Vai trò chủ yếu của các enzym này là vận chuyển điện tử nhờ khả năng biến đổi thuận nghịch của sắt (Fe) giữa trạng thái sắt II (Fe^{2+}) và sắt III (Fe^{3+}):



Dạng khử Dạng oxy hoá

– *Coenzym A (CoASH):*

Cấu tạo của coenzym này gồm có một gốc 3', 5' diphosphoadenosin liên kết với một phân tử 4 - phosphopantethein. Phần pantethein có nhóm thiol (- SH) hoạt động. Coenzym này làm nhiệm vụ vận chuyển nhóm acyl (gốc acid) và tham gia vào phần lớn các phản ứng ngưng tụ giữa các phân tử acetat hoặc acid béo khác để tạo ra những chuỗi carbon dài hơn. Để cho các phản ứng này có thể xảy ra, acid béo phải được gắn vào coenzym A qua liên kết thieste giữa nhóm carboxyl của acid béo và nhóm thiol của coenzym A. Trong dẫn chất đồng hoá trị này, do tác dụng của nguyên tử lưu huỳnh (S), các điện tử được phân bố lại và do đó các nguyên tử bên cạnh dễ dàng ion hoá và tạo cho gốc acyl một hoạt tính mới, nghĩa là gốc acyl được hoạt hoá. Sự hoạt hoá này có thể xảy ra ở nhóm carbonyl (hoạt hoá đầu) hoặc ở nhóm metyl cuối cùng của gốc acid (hoạt hoá đuôi).

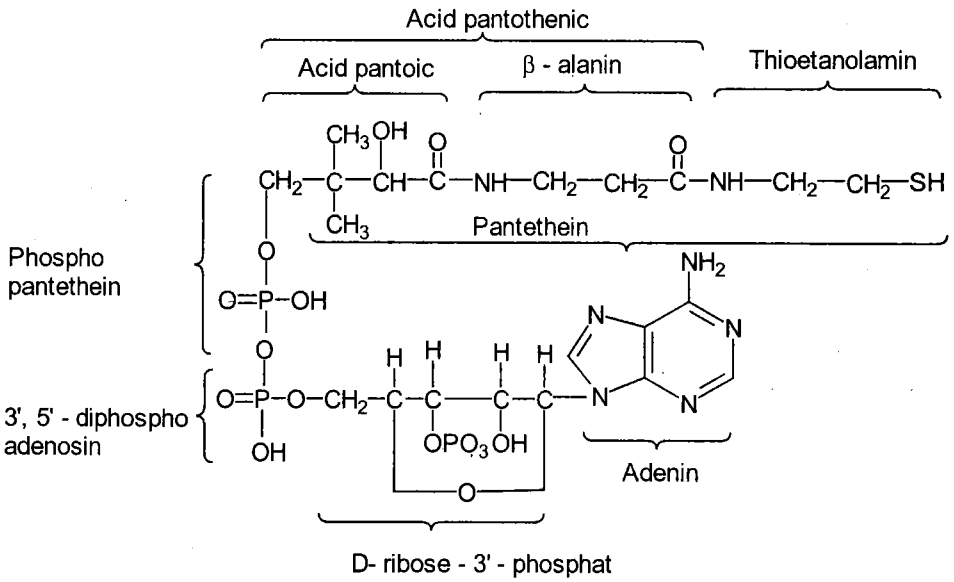
Người ta cũng đã chứng minh rằng phosphopantethein (thành phần hoạt động của coenzym A) cũng là thành phần hoạt động của ACP (protein mang acyl) chất này được coi như một coenzym vận chuyển nhóm acyl. Trong quá trình tổng hợp acid béo, phosphopantethein được gắn chặt vào thành phần protein qua liên kết este giữa gốc acid phosphoric của nó với gốc serin của apoprotein.

– *S.adenosin methionin:*

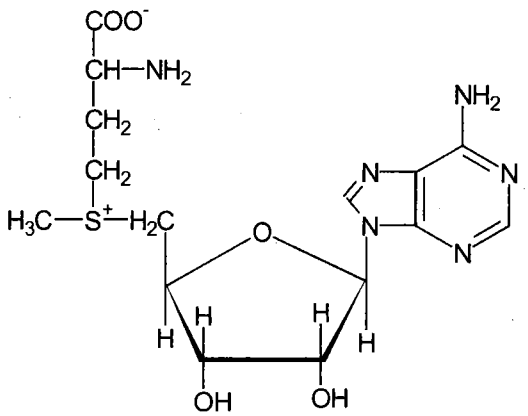
Trong hoá sinh, metyl hoá là một phản ứng rất quan trọng và methionin là chất cung cấp nhóm metyl quan trọng nhất,

Nhóm metyl trong methionin được kết hợp bằng liên kết thioeste có thế năng vận chuyển rất thấp, vì vậy quá trình vận chuyển nhóm metyl phải qua một giai đoạn hoạt hoá trung gian bằng cách gắn một phân tử adenosin (của ATP) vào methionin. Trong dạng kết hợp này, nguyên tử lưu huỳnh (S) của methionin trở thành ion sulfonium có tác dụng hoạt hoá nhóm metyl, chuẩn bị cho phản ứng vận chuyển nhóm metyl đến chất tiếp nhận.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



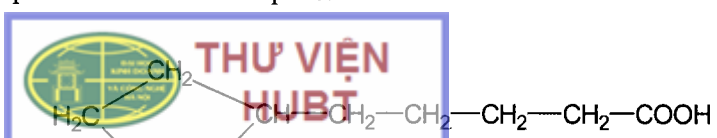
Hình 5.34. Cấu tạo phân tử của coenzym A



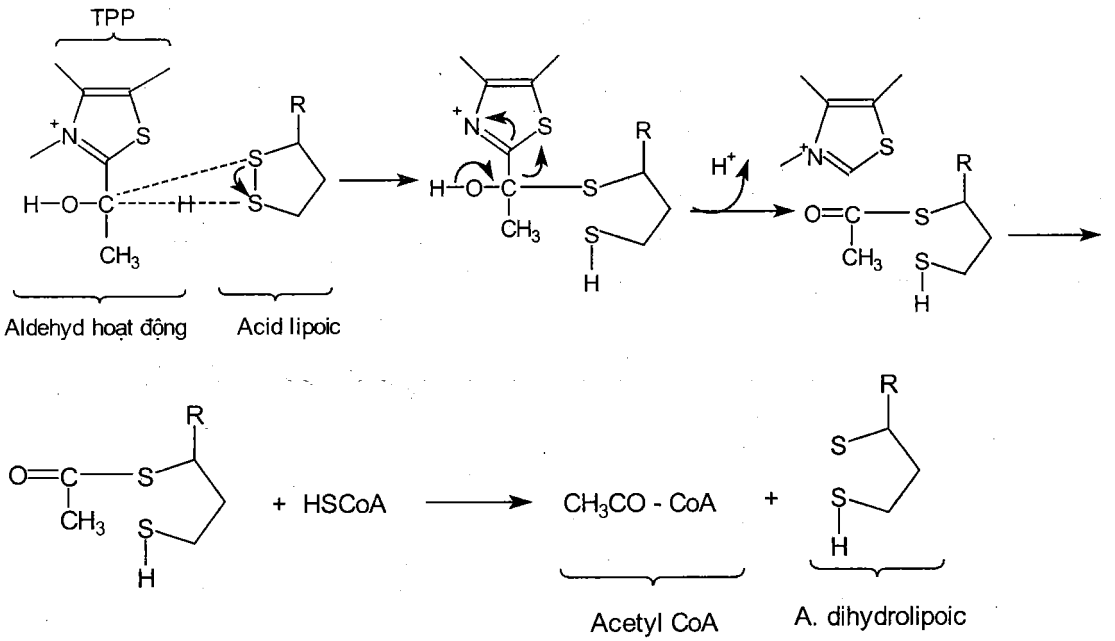
Hình 5.35. Cấu tạo phân tử của S. adenosin methionin

– *Coenzym lipoic (acid lipoic):*

- Cấu tạo phân tử của acid lipoic:



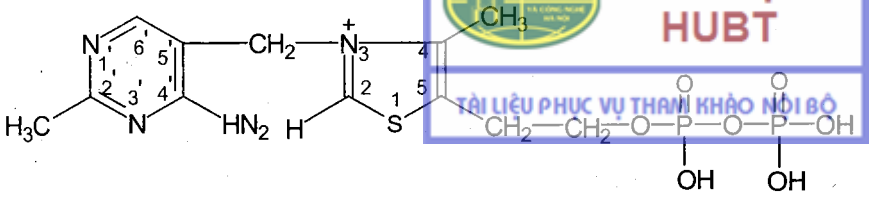
- Cơ chế vận chuyển nhóm aldehyd hoạt động từ TPP đến coenzym A của acid lipoic:



Chất này tham gia vào phản ứng khử hydro của acid pyruvic và một số ít phản ứng cùng loại. Acid lipoic được gắn chặt vào phân tử enzym bằng liên kết amid giữa nhóm carboxyl của nó và nhóm amin tận cùng của lysin của enzym. Phần hoạt động của coenzym này là một liên kết disulfur (-S-S-). Liên kết này có thể mở ra hoặc kết hợp với các phân tử của một phân tử hữu cơ, một nguyên tử lưu huỳnh thứ hai liên kết với carbon. Trong phức hợp multienzym của quá trình khử carboxyl oxy hoá acid pyruvic, coenzym này có vai trò phối hợp chặt chẽ với coenzym thiamin pyrophosphat (TPP) nhóm adehyl hoạt động (được tạo thành sau khi tách CO_2 ra khỏi acid pyruvic) được chuyển từ TPP đến coenzym lipoic, một nguyên tử lưu huỳnh mang hydro và một nguyên tử lưu huỳnh thứ hai mang nhóm acetyl. Như vậy, acid lipoic vừa là coenzym vận chuyển nhóm, vừa là coenzym oxy hoá khử, nó hoạt động như một cánh tay di động của phức hợp đa enzym này.

– *Coenzym thiamin pyrophosphat (TPP):*

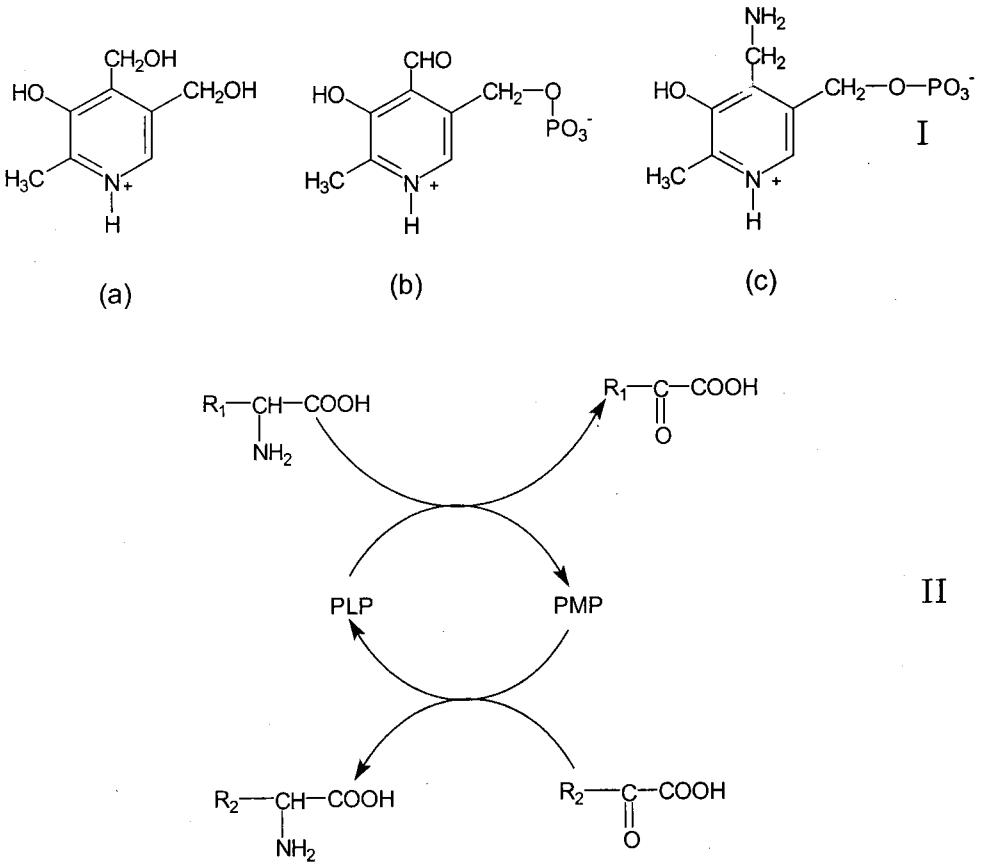
Thiamin pyrophosphat đóng vai trò coenzym trong một loạt những phản ứng phân cắt liên kết carbon - carbon ở sát nhóm carbonyl, nói chung là của acid α cetonic. Vị trí xúc tác chủ yếu của coenzym này là carbon thứ hai của nhân thiazol.



Hình 5.36. Cấu tạo phân tử của coenzym thiamin pyrophosphat (TPP)

Vị trí này được khu trú ở giữa nguyên tử lưu huỳnh (S) và nguyên tử nitơ (N) có liên kết đôi và mang điện tích dương, nên rất dễ ion hoá thành carbanion ái nhân.

– *Coenzym pyridoxal phosphat:*



Hình 5.37. Cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym pyridoxal phosphat

I. Cấu tạo phân tử của:

a. Pyridoxin = vitamin B_6

b. Pyridoxalphosphat, ký hiệu PLP

c. Pyridoxaminphosphat, ký hiệu PMP

II. Cơ chế vận chuyển nhóm amin của pyridoxalphosphat

Coenzym này là dẫn xuất phosphoryl hoá của vitamin B_6, thành phần cấu tạo có nhân pyridin mang nhóm aldehyd ở vị trí para. Nhóm này là bộ phận trực tiếp hoạt động của coenzym. Coenzym tham gia vào nhiều phản ứng tác động vào cấu trúc phân tử của acid α amin. Tuỳ theo từng điều kiện cụ thể, coenzym này tham gia vào các phản ứng vận chuyển nhóm amin, phản ứng khử carboxyl hay phản ứng cắt gốc R của acid amin.

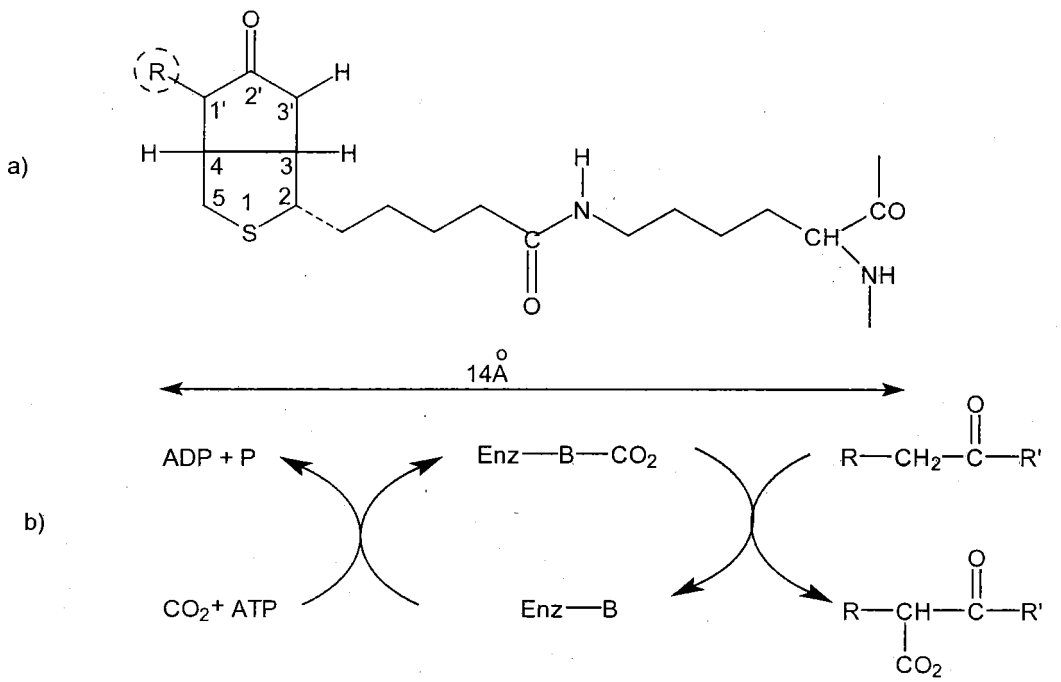
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Coenzym biotin:*

Thành phần cấu tạo của coenzym này gồm có một nhân dị vòng tetrahydrothiophen gắn liền với một gốc ureido và một mạch bên là acid valeric. Biotin thường được kết hợp vào apoenzym bằng liên kết amid giữa nhóm carboxyl của nó và nhóm - NH_2 của lysin của apoenzym. Mạch bên của coenzym cùng với lysin của apoenzym tạo nên một mạch thẳng dài 14Å, di động rất dễ dàng trong quá trình xúc tác.

Biotin là coenzym tham gia vào các phản ứng vận chuyển nhóm carboxyl. Quá trình này gồm hai bước: bước thứ nhất, nhóm CO_2 được gắn vào N_1 của biotin tạo nên carboxybiotin; bước thứ hai biotin chuyển nhóm carboxyl đến một cơ chất khác và cơ chất này được carboxyl hoá.

Các enzym cộng tác với biotin có thể chia làm ba nhóm: carboxylase, decarboxylase, transcarboxylase.



Hình 5.38. Coenzym biotin

a. Cấu trúc phân tử

b. Cơ chế hoạt động

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

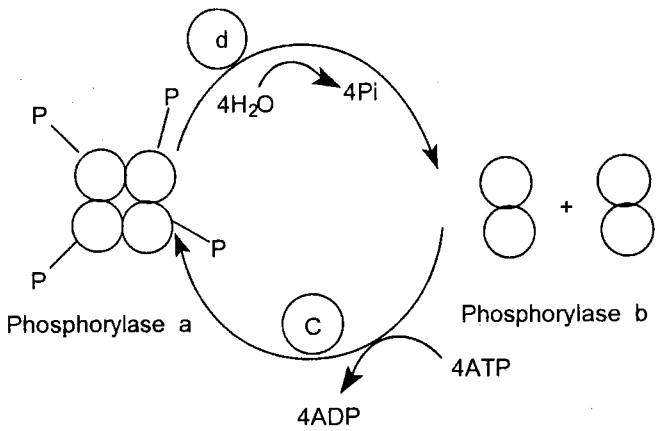
10. Điều hoà enzym

Sự điều hoà enzym trong cơ thể được điều hòa bởi nhiều yếu tố. Sự điều hoà tốc độ xúc tác bằng sự thay đổi pH trong tế bào. Tốc độ enzym còn được điều tiết bởi nồng độ cơ chất và ion kim loại trong tế bào. Sự điều hoà đặc hiệu chủ yếu là

sự điều hoà enzym bởi hai cách cơ bản: thứ nhất, enzym dị lập thể, hoạt tính của chúng được điều chỉnh thông qua sự kết hợp với một chất chuyển hoá trên một trung tâm khác trung tâm hoạt động gọi là trung tâm di lập thể (allosteric), có khả năng điều chỉnh âm hay dương; thứ hai, enzym điều chỉnh đồng hoá trị. Sự biến đổi hai dạng hoạt động và không hoạt động của hai loại enzym này là do tác động của một enzym khác.

$$(glucose)_n + Pi \xrightarrow[\text{phosphorylase}]{\text{glycogen}} (glucose)_{n-1} + G_1P$$

Enzym này tồn tại hai dạng phosphorylase a có hoạt tính cao và phosphorylase b dạng kém hoạt động. Loại a là protein oligome với 4 đơn vị cấu tạo, mỗi đơn vị có 1 gốc serin được phosphoryl hoá ở nhóm hydroxyl, gốc photphat cần thiết cho hoạt động xúc tác tối đa của enzym và chịu ảnh hưởng thủy phân của phosphorylase photphatase. Quá trình này như hình sau:



c = Phosphorylase kinase
d = Phosphorylase photphatase

11. Chiết xuất và tinh chế enzym

Enzym có nguồn gốc động và thực vật cũng như ở vi khuẩn, nấm men. Do vậy enzym được chiết ra từ những nguồn này. Enzym có bản chất protein cho nên việc chiết xuất và tinh chế enzym dựa vào những nguyên tắc tinh chế phân lập protein. Tuy nhiên trong quá trình tinh chế và chiết xuất, người ta thường chú ý những đặc tính riêng của enzym như điều kiện tách chiết, chất hoạt hoá, chất ức chế, pH và nhiệt độ thích hợp cho sự ổn định của enzym. Ví dụ tách chiết amylase thường ở pH trung tính, nhưng tách chiết pepsin thường ở pH 1,5 sẽ ổn định được hoạt tính và thuận lợi trong quá trình chiết xuất. Đối với một số enzym phức tạp có phần coenzym, trong quá trình tách chiết để đảm bảo tính ổn định của enzym thường cho thêm phần coenzym như vitamin trong quá trình tách chiết. Nhiều enzym hay bị mất hoạt tính do nhóm chức bị khử cho nên chiết xuất enzym thường được cho thêm dithiothreitol trong quá trình làm việc như tách chiết ATpase, adenyl cyclase ở tế bào. Hai quá trình chủ yếu để tách chiết enzym là:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

11.1. Chiết xuất enzym

Enzym có thể là dạng hoà tan trong tế bào hoặc gắn liền với màng tế bào. Tuỳ theo trạng thái của chúng mà quá trình chiết xuất khác nhau. Đối với enzym dạng hoà tan việc chiết xuất thường đơn giản, chỉ cần dựa vào đặc tính enzym để tách chiết. Giai đoạn đầu cần phá hủy những tổ chức, tế bào chứa enzym rồi chiết xuất ở dung dịch đệm có lực ion và pH thích hợp, sau đó loại những phần không hoà tan. Enzym dạng hoà tan được kết tủa dạng thô bằng phương pháp diêm tích hay phương pháp tủa ở dung môi hữu cơ có nhiệt độ lạnh rất thấp (thường - 15^{0}C), giai đoạn này người ta thu được enzym thô và xác định hoạt tính của dạng này. Đối với trường hợp enzym gắn chặt với màng tế bào việc tách chiết gặp nhiều khó khăn hơn. Bước thứ nhất trong quá trình tách chiết người ra hay dùng chất tẩy (detergent) không phân cực để phá màng tách enzym ra khỏi màng như tách chiết adenyl cyclase của màng tim thô; từ màng tim thô phân tập bởi Triton X 100 Lubrol PX. Bước tiếp theo cần thẩm tích loại bỏ phần detergent, thông thường việc loại bỏ này rất khó do chất tẩy không phân cực này gắn chặt vào phần lipid có trong thành phần cấu tạo của phân tử enzym. Đối với những enzym rất nhạy cảm với nhiệt độ cần chú ýphải làm thử nghiệm ở nhiệt độ thấp thường 0 đến 4^{0}C.

11.2. Tinh chế enzym

Việc nghiên cứu thành công của một enzym không phải ở việc chiết xuất, xác định đặc tính, yếu tố ảnh hưởng hoạt động của enzym mà phải tinh chế được enzym dạng tinh sạch, để chế phẩm có hoạt độ cao trên 1mg chế phẩm. Thông thường của phương pháp tinh chế bằng sự kết tủa nhiều lần để thu được chế phẩm enzym có hoạt tính cao. Để tiện lợi và nhanh hơn, nhiều enzym được chiết xuất lại qua sắc ký cột trao đổi ion như CMC (carboxyl metyl cellulose), sắc ký rây lọc phân tử Sephadex, sắc ký ái lực cho phép tách đặc hiệu enzym khi phần cánh tay của sắc ký ái lực gắn cơ chất đặc hiệu. Đối với một số enzym có phân tử nhỏ xác định như lysozym 14.000 đơn vị có khả năng chui qua màng siêu lọc, người ta có thể tách lysozym của lòng trắng trứng từ hỗn hợp các loại globulin lòng trắng bằng phương pháp siêu lọc có hiệu xuất rất cao. Việc tinh chế enzym hết sức cần thiết bởi làm cho enzym tinh sạch, ít còn lẫn tạp chất và protein không phải enzym, nâng cao hoạt tính enzym so với dạng thô, nhiều thuận lợi cho nghiên cứu và bảo quản, nhất là nguyên liệu dùng làm thuốc trong điều trị và sản xuất.

12. Enzym và tác dụng của thuốc

Enzym có tác động lớn đến thuốc và ngược lại thuốc cũng có nhiều tác động đến enzym. Thuốc có khả năng kích thích hay kìm hãm hoạt động của enzym liên qua nhiều đến quá trình trị liệu. Nhiều loại enzym liên quan đến tác dụng của thuốc, trước hết là hệ enzym màng tế bào trong đó adenyl cyclase được tăng cường hoạt động nhờ các loại thuốc kích thích chúng như các loại hormon có bản chất protein (xem phần hormon).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

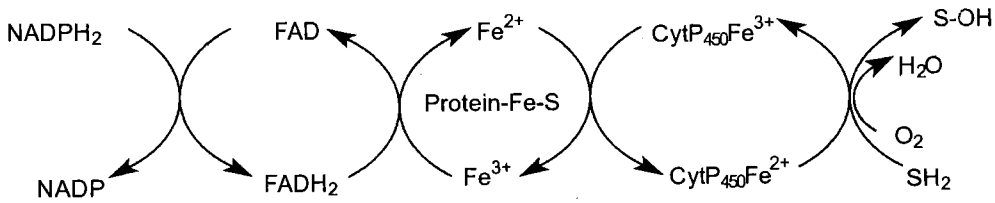
Thuốc vào cơ thể gây tác dụng có lợi trong công tác điều trị, nhưng tiếp đó thuốc được oxy hoá ở các microzom với các enzym của hệ thống MMFO (microsomol mixted function oxydation). Enzym chuyển hoá thuốc có khả năng hydroxyl hoá chất thơm vì enzym này được bọc quanh một lớp lipid, trong khi đó enzym khác không thực hiện được phản ứng. Người ta cho rằng lớp lipid có tác

dụng cô đặc cơ chất (thuốc) ở vị trí tấn công của enzym. Sự khác nhau giữa enzym thường và enzym chuyển hoá chất thuốc được tóm tắt trong bảng 5.3:

Bảng 5.3. *Phân biệt các đặc điểm khác nhau giữa enzym thường và enzym chuyển hoá khác*

Đặc tính	Enzym thường	Enzym chuyển hoá thuốc
Tính chất cơ chất	Quen thuộc	Lạ
Số lượng	Nhiều	Ít
Tính đặc hiệu	Cao	Thấp
Hiện tượng cảm ứng	Không rõ	Rất rõ, quan trọng
Khả năng hydroxyl hoá	Tham gia các con đường chuyển hoá	Tham gia quá trình khử độc
Hoạt động trong điều kiện tổ hợp	Không bắt buộc	Bắt buộc
Vai trò phospholipid	Không cần thiết	Cần thiết

Các enzym chuyển hoá thuốc hợp thành hệ thống hoạt động liên hợp bao gồm các enzym có coenzym NADP, NADPH; các enzym có coenzym FAD, $FADH_2$, cytocrom P_{450}. Trong hệ thống phức hợp trên, cytocrom P_{450} được coi là công cụ chính trong chuyển hoá thuốc, enzym này ở vị trí cuối cùng trong hệ thống và tạo phức với thuốc để chuyển hoá chúng. Đặc tính phân tử của cytocrom P_{450} được công bố bởi nhiều tác giả như Dus.K, W.j.lischfied 1974, Hangen D.A. 1976 và 1977, có trọng lượng phân tử 48.100 gồm 424 acid amin. Chu trình phản ứng Cyt.P_{450} trong hệ thống MMFO được tổng quát như sau:



Phản ứng xúc tác của Cyt.P_{450} cần năng lượng thấp so với các phản ứng khác cùng loại.

Hiện thượng enzym cảm ứng thuốc được nhiều nhà dược lý rất chú ý và đã có nhiều ý nghĩa cần lưu ý trong trị liệu. Các thuốc gây cảm ứng được nghiên cứu cứu nhiều là barbituric đặc biệt là phenobarbital, sau 24 giờ lượng Cyt.P_{450} microzom gan tăng 3 lần, đồng thời tăng lưới nội bào nhẵn, protein của microzom, AND. Ví dụ dùng luminal lâu ngày gây cảm ứng Cyt.P_{450} làm mất tác dụng thuốc, khi thay sang meprobamat vẫn không tác dụng vì chuyển hoá thuốc này bị luminal cảm ứng. Đây là hiện tượng quen thuốc, nhờn thuốc thường gặp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 6

HORMON

MỤC TIÊU

1. *Giải thích được mối liên quan điều hoà giữa hệ thống thần kinh và nội tiết, cơ chế điều hoà feedback.*
2. *Trình bày được đặc điểm về cấu tạo vai trò điều hoà của hormon đối với chuyển hoá các chất trong cơ thể.*
3. *Giải thích được 5 cơ chế hoạt động của hormon.*
4. *Nêu được quá trình sinh tổng hợp và chuyển hoá của hormon, ứng dụng để chẩn đoán và tổng hợp các chế phẩm hormon dùng làm thuốc.*

1. Đại cương

Cơ thể sống là một khối thống nhất hoàn chỉnh, vai trò chuyển hoá các chất trong cơ thể là do các tổ chức và cơ quan đảm nhiệm. Sự phối hợp kỳ diệu giữa các hoạt động chuyển hoá khác nhau cũng như cơ chế hợp tác chặt chẽ giữa các tế bào là những yếu tố cần thiết để đảm bảo sự thống nhất và điều hoà cân bằng giữa nội môi và ngoại môi. Hai hệ thống giúp thực hiện chức năng điều hoà quan trọng này là:

– Hệ thống thần kinh: đóng vai trò dẫn truyền tín hiệu hay thông tin đi qua một hệ thống cố định về cấu trúc.

– Hệ thống nội tiết: gồm nhiều hormon do các tuyến đặc biệt bài tiết và được vận chuyển trong máu như những thông tin di động để tác động lên một tổ chức cạnh đó hay xa hơn.

Giữa 2 hệ thống này có mối liên quan rất tinh tế. Ví dụ: catecholamin là những chất dẫn truyền thần kinh ở một tổ chức này nhưng lại là hormon ở những tổ chức khác. Ngược lại một số hormon có nguồn gốc khác nhau (insulin, ACTH, somatostain, hormon giải phóng thyrotropin TRH, cholecystokinin...) nhưng cũng được phát hiện thấy ở não

1.1. Định nghĩa hormon và đặc điểm của hệ thống nội tiết

- *Hormon* là những chất dẫn truyền thông tin hoá học có bản chất là peptid, amin hay sreroid do một số tổ chức (gọi là tuyến) tiết ra và đổ thẳng vào máu, có chức năng điều hoà hoạt động của các tổ chức khác.

THƯ VIỆN HUST
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tuy nhiên, có thể mở rộng định nghĩa này cho những chất tác dụng trên tế bào kế cạnh (được gọi là chức năng paracrin) hay cả những chất có tác dụng ngay tại những tế bào sản sinh ra nó (chức năng autocrin).

Từ hormon đi từ chữ Hylạp (Opmaw) có nghĩa là "kích thích hoạt động". Giống như một số chất xúc tác sinh học khác (enzym, vitamin) hormon có các đặc tính:

– Hoạt động ở nồng độ rất thấp (10^{-10} - 10^{-12} mol/l đối với hormon protein, 10^{-6} - 10^{-9} mol/l đối với các hormon steroid và tuyến giáp).

– Thời gian bán thải trong huyết tương rất ngắn (khoảng vài phút - vài giờ), xúc tác nhiều phản ứng chuyển hoá trong cơ thể.

• *Các tuyến nội tiết*: hầu như có nguồn gốc từ các tế bào biểu mô, ngoài ra ở tinh hoàn (các tế bào Leydig sản xuất testosteron) và buồng trứng (sản xuất estrogen) có nguồn gốc từ tổ chức liên kết, trong hệ thống thần kinh tuyến yên (neurohypophyse) và các tế bà có nguồn gốc thần kinh. Nhiều loại tế bào nội tiết có thể có nguồn gốc phôi ở đỉnh thần kinh.

Tuy nhiên nơi sản xuất ra hormon không chỉ là các tuyến nội tiết mà còn có thể là những tế bào không có chức năng nội tiết như:

– Tế bào não của vùng dưới đồi sản xuất ra các yếu tố giải phóng (releasing factor - RF) hay các yếu tố ức chế (inhibiting factor - IF).

– Tế bào của niêm mạc ống tiêu hoá sản xuất ra các "hormon tiêu hoá" (secretin, gastrin).

– Tế bào của nhiều tổ chức sản xuất ra các "hormon tổ chức" có tác dụng tại chỗ (histamin, angiotensin...) và có thể là những chất tương tự hormon (like hormon) có dẫn xuất từ axit béo (eicosanoid).

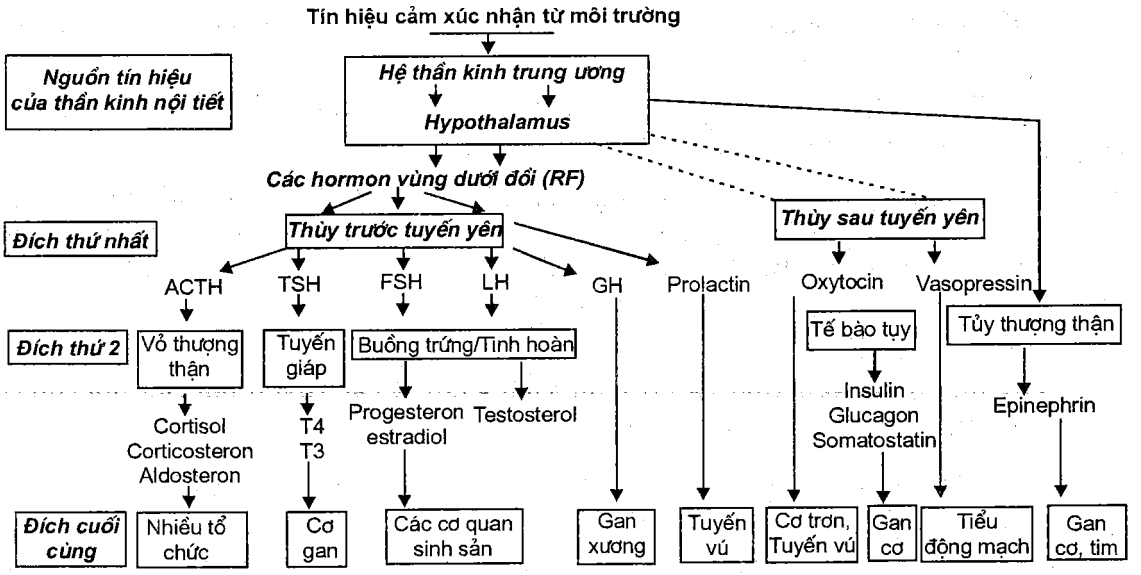
• *Cơ quan đích*: là nơi hormon đến và phát huy tác dụng. Một hormon có thể tác động lên một hay nhiều tổ chức đích.

Gần đây nhờ phát hiện ra receptor (các chất tiếp nhận hormon) ở trong và trên bề mặt của tế bào, người ta coi tổ chức đích là một tổ chức có hormon gắn vào receptor của tổ chức đó và thể hiện một đáp ứng sinh lý hay hoá sinh nào đó.

Tổ chức đích có liên quan mật thiết đến các hệ thống nội tiết (hình 6.1). Tín hiệu từ hệ thần kinh trung ương được truyền qua một loạt hệ tự điều chỉnh tới tổ chức đích cuối cùng.

Sau khi nhận được những tín hiệu thần kinh đặc hiệu, vùng dưới đồi (hypothalamus) sẽ tiết ra hoặc các yếu tố giải phóng (RF) kích thích tuyến yên là cơ quan đích thứ nhất) bài tiết ra các kích tố (stimulating hormon = tropic hormon = tropin) như ACTH, TSH, FSH... hoặc các yếu tố ức chế (IF) có vai trò ức chế tiền yên bài tiết một hormon nào đó. Hormon do tuyến yên tiết ra được vận chuyển vào máu tới các tuyến nội tiết (là cơ quan đích thứ 2) để kích thích sản xuất ra các hormon đặc hiệu. Tế bào, tổ chức và cơ quan chịu tác dụng của những hormon này là những cơ quan đích cuối cùng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.1. Liên quan giữa các hệ thống nội tiết và tổ chức đích chính

- *Cơ chế điều hoà feedback (FB):*

Sự bài tiết hormon được điều hoà bởi một hệ thống kiểm soát tinh vi và phức tạp dựa trên nguyên lý "tự điều chỉnh" để đảm bảo tính hằng định nội môi của cơ thể. Đó là cơ chế theo phương thức điều hoà ngược (feedback).

Cơ chế thường xảy ra nhất là : một hormon của vùng dưới đồi kích thích tổng hợp và giải phóng một hormon của tuyến yên (hình 6.2) hormon này kích thích cơ quan đích sản xuất ra hormon. Nếu nồng độ hormon trong máu đủ cao sẽ ức chế hệ thống này bằng 2 cách:

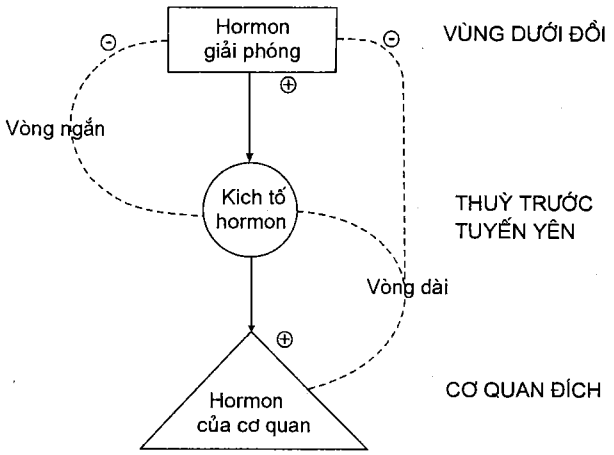
+ Hoặc ức chế tuyến yên ngừng sản xuất hormon.

+ Hoặc ức chế tổng hợp và hoạt động của hormon vùng dưới đồi.

Cơ chế này còn được thực hiện qua trung gian các chất chuyển hoá hay cơ chất có nồng độ thay đổi trong huyết tương dưới tác dụng của một hormon. Ví dụ: khi nồng độ glucose huyết tăng cao sẽ kích thích tuyến tụy tiết insulin để tăng cường sự hấp thu và sử dụng glucose ở nhiều tổ chức. Nhưng khi glucose huyết trở về bình thường thì nó lại ức chế tụy giải phóng insulin. Trường hợp bị hạ đường huyết do sản xuất thừa insulin sẽ gây kích thích giải phóng catecholamin, hormon phát triển, glucagon, ACTH, vasopressin và angiotensin II, là những chất gây tăng đường huyết. Đây là một ví dụ về hệ thống tiến hoá phức tạp nhằm kiểm soát một chất chuyển hoá quan trọng (glucose) đối với não.

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ THÀNH VIÊN NỘI BỘ

* Một số trường hợp khác xảy ra theo cơ chế FB dương. Ví dụ: sự có mặt của estrogen và progesteron cần cho sự bài tiết đột chột của LH. Hormon này của tiền yên có tác dụng gây rụng trứng và tạo hoàng thể đồng thời còn kích thích sản xuất thêm các hormon steroid nữa.



Hình 6.2. Hệ thống điều hoà feedback để kiểm soát chức năng của tuyến giáp, thượng thận, tinh hoàn và buồng trứng

- *Chất tiếp nhận hormon (hormon recepton - RH):*

Receptor (R) là những protein có nồng độ rất thấp nhưng có khả năng gắn hormon với độ đặc hiệu rất cao và ái lực rất lớn.

Các R tiếp nhận hormon polypeptid hay steroid đều có ít nhất 2 vùng chức năng:

– Vùng nhận dạng gắn hormon.

– Vùng phát tín hiệu làm nhiệm vụ truyền tin song song với việc nhận dạng hormon.

Việc gắn hormon vào R chứng tỏ trên phân tử hormon có một vùng cấu dạng trùng khớp với R. Mức độ kết hợp này được biểu thị bằng "ái lực liên kết" (K).

Việc phát ra tín hiệu song song (còn gọi là sự truyền tin) xảy ra theo nhiều cách khác nhau (xem phần cơ chế hoạt động của hormon).

Chính 2 chức năng gắn và truyền tin đã làm cho RH của tế bào đích có đặc điểm khác với các protein vận chuyển của huyết tương (mặc dù cũng gắn hormon nhưng không phát ra tín hiệu). Sự phân biệt này rất quan trọng:

+ Các protein đặc hiệu vận chuyển hormon steroid và hormon tuyến giáp (là những hormon kỵ nước) có mật độ lớn hơn nhiều so với các protein R ở trong tế bào; song ái lực gắn của chúng với hormon lại yếu hơn và kém đặc hiệu hơn.

+ Protein vận chuyển đóng vai trò lưu giữ hormon trong máu; khi gắn với chúng hormon không bị chuyển hoá hay bài tiết. Tuy nhiên chỉ có hormon tự do mới thể hiện hoạt tính sinh học.

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Hormon peptid và protein không cần sử dụng protein vận chuyển trong cơ chế hoạt động của chúng, do đó có thời gian bán huỷ trong huyết tương ngắn hơn (hàng giây - hàng phút) so với hormon steroid (hàng giờ).

Trên thực tế một số bệnh liên quan đến những sai lệch về cấu trúc và chức năng của các RH (bệnh ưu năng tuyến giáp, hen, đái nhạt do thận, bệnh béo phì, tiểu đường không phụ thuộc insulin...).

1.2. Cấu tạo hoá học và phân loại hormon

Về mặt hoá học có thể chia hormon thành 3 nhóm (bảng 6.1): peptid, amin và steroid. Nhóm thứ 4 mang tín hiệu ngoài tế bào là eicosanoid, đó là những chất có tác dụng tương tự hormon (hormonelike) nhưng hoạt động tại chỗ (xem chương 2 - Lipid)

Bảng 6.1. *Phân loại hormon theo cấu tạo (một số ví dụ)*

Hormon	Cơ quan/ tổ chức / tế bào bài tiết	Chức năng hay tác dụng
**Hormon peptid*		
. Thyrotropin - releasing hormon (TRH)	. Hypothalamus	Kích thích giải phóng thyrotropin từ tiền yên
. Corticotropin (adrenocorticotropic hormon (ACTH)).	. Tiền yên	. Kích thích vỏ thượng thận tổng hợp steroid
. Vasopressin (antidiuretic ADH)	. Hậu yên	. Tăng huyết áp, tăng cường tái hấp thụ nước bởi thận
. Insulin	. Tụy	. Kích thích gia nhập và sử dụng glucose
. Glucagon	. Tụy	. Kích thích gan sản xuất glucose
** Hormon amin*		
. Epinephrin (adrenalin)	. Tuỷ thượng thận	. Kiểm soát đáp ứng đối với stress, tăng nhịp tim
. Thyroxin	. Tuyến giáp	. Kích thích chuyển hoá ở nhiều tổ chức
** Hormon steroid*		
. Cortison	. Vỏ thượng thận	. Hạn chế sử dụng glucose, tăng glucose huyết
. Aldosteron	. Vỏ thượng thận	. Điều hoà giữ Na^+ và huyết áp
. β-estradiol	. Buồng trứng	. Điều hoà hoạt động sinh dục nữ
. Testosteron	. Tinh hoàn	. Điều hoà hoạt động sinh dục nam
. Progesteron	. Hoàng thể (trong buồng trứng)	. Điều hoà hoạt động của cơ quan sinh dục nữ trong chu kỳ kinh nguyệt và thai nghén.
Eicosanoid (chất tương tự hormon)	. Phần lớn các tổ chức	Gây co cơ trơn, sốt, viêm.
. Prostaglandin		
. Leucotrien	Bạch cầu, lách, các tổ chức khác	Gây co cơ phế quản, tham gia các phản ứng quá mẫn.
. Thromboxan	Tiểu cầu và các tổ chức khác	Điều hoà quá trình đông máu, co mạch, ngưng kết tiểu cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ngoài các phân loại theo thành phần hoá học và tính chất hoà tan, hormon còn được phân loại dựa vào nơi khu trú của receptor và bản chất của tín hiệu làm chất trung gian hoạt động của hormon trong tế bào (bảng 6.2). Những đặc điểm khác nhau của các nhóm hormon này được tóm tắt trong bảng 6.3.

***Bảng 6.2.** Phân loại hormon theo cơ chế tác dụng*

Nhóm I. Hormon gắn vào receptor ở trong tế bào	
Estrogen	Calcitriol
Glucocorticoid	Androgen
Mineralocorticoid	Hormon tuyến giáp (T3 và T4)
Progestin	
Nhóm II. Hormon gắn vào receptor ở bề mặt của tế bào	
• IIA: chất truyền tin thứ 2 là AMPv	
Hormon kích tố vỏ thượng thận (ACTH)	
Angiotensin II	Hormon phó giáp trạng (PTH)
Hormon chống lợi niệu (ADH)	Opioid
Kích noãn tố (FSH)	Acetylcholin
Kích tố rau thai (HCG)	Glucagon
Lipotropin (LPH)	Catecholamin α_2 adrenergic
Hoàng thể tố (LH)	Hormon giải phóng corticotropin
Kích hắc tố (MSH)	(CRH)
Kích giáp trạng tố (TSH)	Calcitonin
	Samastatin
	Catecholamin β adrenergic
• IIB: Chất truyền tin thứ 2 là calci hay phosphatidyl inositid (hoặc cả 2)	
Cholecystokinin	
Catecholamin α_1 adrenergic	Acetylcholin (muscarin)
Gastrin	
Cơ chất P	
Hormon giải phóng thyrotropin (TRH)	Hormon giải phóng gonadotropin (GnRH)
Vasopressin	Angiotensin
• IIC: Chất truyền tin chưa biết ở trong tế bào	
Somatomamnotropin chorionic (CS)	
Hormon sinh trưởng (SH)	Ocytocin
Insulin	
Các yếu tố phát triển kiểu insulin IGF-1	Yếu tố phát triển thần kinh (NGF)
IGF-2	Yếu tố phát triển da (EGF)
Prolactin (PRL)	Yếu tố phát triển của fibroblast (FGF)
	Yếu tố phát triển dẫn xuất của tiểu cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 6.3. Những đặc điểm của các nhóm hormon

	Nhóm I	Nhóm II
Loại	Steroid, iodotyronin, calcitriol	Polypeptid, protein Glycoprotein, catecholamin
Độ tan	Thân mỡ	Thân nước
Protein vận chuyển	Có	Không
Thời gian bán huỷ	Dài (hàng giờ, hàng ngày)	Ngắn (hàng phút)
Receptor	ở trong tế bào	ở màng huyết tương
Chất trung gian	Phức hợp receptor - hormon	AMP_v; Ca^{++} Các chất chuyển hoá của phức hợp phosphoinosid, những chất khác

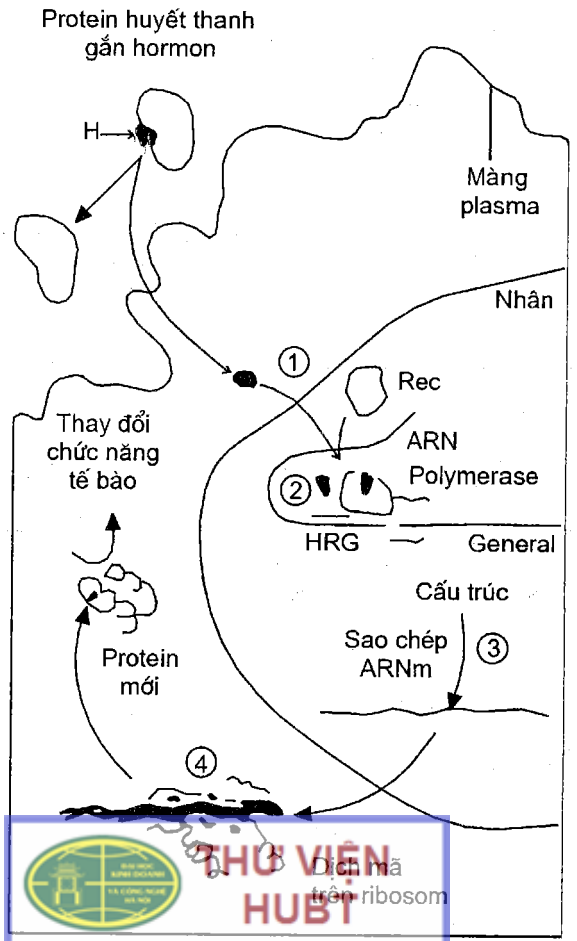
1.3. Cơ chế hoạt động của hormon (H)

Tác dụng của hormon được thể hiện là nhờ khả năng gắn một cách đặc hiệu và với ái lực rất cao vào các receptor (R) có trong tế bào đích. Dựa vào vị trí khu trú của R, người ta phân biệt 2 loại cơ chế hoạt động của hormon.

1.3.1. Cơ chế gắn hormon vào R ở trong tế bào

Các hormon steroid và hormon tuyến giáp là những chất tan trong lipid có thể thấm qua màng của tế bào đích một cách dễ dàng. R của chúng là những protein đặc hiệu, phần lớn nằm trong nhân. Một số R khác có thể di chuyển từ bào tương vào nhân sau khi đã kết hợp với hormon (hình 6.3). Phức hợp hormon - receptor (H-R) này gắn vào các vùng đặc hiệu của ADN ở nhân và có tác dụng điều hoà cách biểu thị của gen. Kết quả là sẽ làm thay đổi số lượng protein đặc hiệu, do đó có ảnh hưởng đến các con đường chuyển hoá ở trong cơ thể.

Trong cơ thể này, phức hợp H-R được gọi là những yếu tố đáp ứng với hormon (HRE: hormon response element hay "chất dẫn truyền thông tin").



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.3. Cơ chế tác dụng của hormon steroid và hormon tuyến giáp
Rec: receptor HRE: hormon receptor element

1.3.2. Cơ chế gắn hormon vào R ở bề mặt của tế bào

Tuỳ theo bản chất của các chất dẫn truyền thông tin thứ 2 có thể chia nhóm này thành 3 phân nhóm:

- ***Phân nhóm IIA** - Chất truyền tin thứ 2 là AMP vòng (AMPv):*

Nhóm này gồm những hormon (bảng 6.4) được phân chia theo tác dụng kích thích hay ức chế enzym adenylat cyclase (AC).

Chất điển hình được nghiên cứu nhiều nhất trong nhóm này là adrenalin và glucagon (S.W. Sutherland 1950). Adrenalin gắn vào R đặc hiệu nằm ở mặt ngoài của tế bào gan và cơ (hình 6.4). Chất trung gian nằm ở giữa R và AC là protein G_3, một protein kích thích gắn GTP ở mặt trong của màng plasma. Khi R tiếp nhận adrenalin bị chiếm chỗ thì AC được hoạt hoá và xúc tác biến đổi ATP thành AMPv (được gọi là chất truyền tin thứ 2).

AMPv là một chất quan trọng kích thích một loạt phản ứng enzym, phân huỷ glycogen ở tế bào gan (hình 6.5): đầu tiên là hoạt hoá protein kinase A phụ thuộc AMPv rồi đến phosphorylase b kinase không hoạt động thành phosphorylase kinase a hoạt động; ở giai đoạn phosphoryl hoá tiếp theo nó hoạt hoá glycogen phosphorylase, phân huỷ glycogen thành glucose đi vào máu. Cuối cùng phosphodiesterase két thúc tín hiệu bằng cách thuỷ phân AMPv thành AMP.

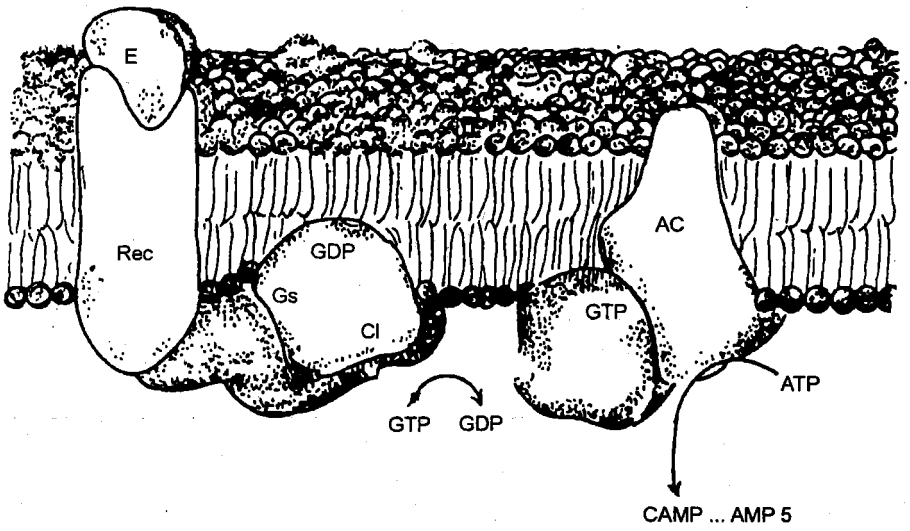
***Bảng 6.4.** Phân loại hormon nhóm IIA*

Hormon kích thích adenylat cyclase (H_2)	Hormon ức chế adenylat cyclase (H_1)
ACTH	Acetylchoein
ADH	α-adrenergic
β-adrenergic	Angiotensin II
Calcitonin	Opioid
CRH	Somatostatin
FSH	
Glucagon	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

Adrenalin làm tăng glucose máu không chỉ bằng cơ chế kích thích sự phân huỷ glycogen ở gan mà còn ức chế sự tổng hợp glycogen cũng qua tác dụng của AMPv: AMPv hoạt hoá protein kinase biến đổi glycogensynthetase từ dạng hoạt động sang dạng không hoạt động.

Mặt khác, sự phosphoryl hoá các protein là một cơ thể phổ biến giúp điều hoà hoạt tính enzym không chỉ bằng cách tăng nhanh hoạt tính mà còn thuận nghịch nữa: enzym phosphatase chứa trong tế bào có khả năng đảo ngược lại tác dụng của protein kinase đã được hoạt hoá bởi một tín hiệu. Bản thân các enzym này cũng được điều hoà nhờ những tín hiệu ở trong và ngoài tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.4. Cơ chế gắn adrenalin (E) vào receptor (Rec) và hoạt hoá adenylatcylase (AC)

Các kích thích liên tiếp theo kiểu dòng thác nói trên (một phân tử hormon hoạt hoá một enzym xúc tác sự hoạt hoá tiếp theo một enzym khác) cho phép khuyếch đại tín hiệu lên nhiều lần (hình 6.5), đó là đặc tính quan trọng của mọi hệ thống được hoạt hoá bởi hormon thông qua AMPv. Tuy nhiên, trên thực tế có những hormon peptid khác nhau có thể kích thích hay ức chế tạo thành AMPv. Đó là vì cùng một phân tử AC có thể được điều hoà bởi 2 dạng protein G: protein Gs (kích thích hoạt hoá AC) và protein Gi (ức chế AC) (hình 6.6). Mỗi protein này gồm 3 tiểu đơn vị: α, β, γ (hình 6.6). Chúng chỉ khác nhau ở tiểu đơn vị α: α_s (PM 45000) và α_i (PM 41000). Liên kết của một hormon H_s hay H_i với R_s hay R_i hoạt hoá protein G_s hay G_i xúc tiến quá trình gắn α với GTP (với sự có mặt của Mg^{2+}) đồng thời với sự tách β, γ ra khỏi α:

$$\alpha\beta\gamma \xrightarrow[\text{GTP ase}]{\text{GTP}} \alpha\text{-GTP} + \beta\gamma$$

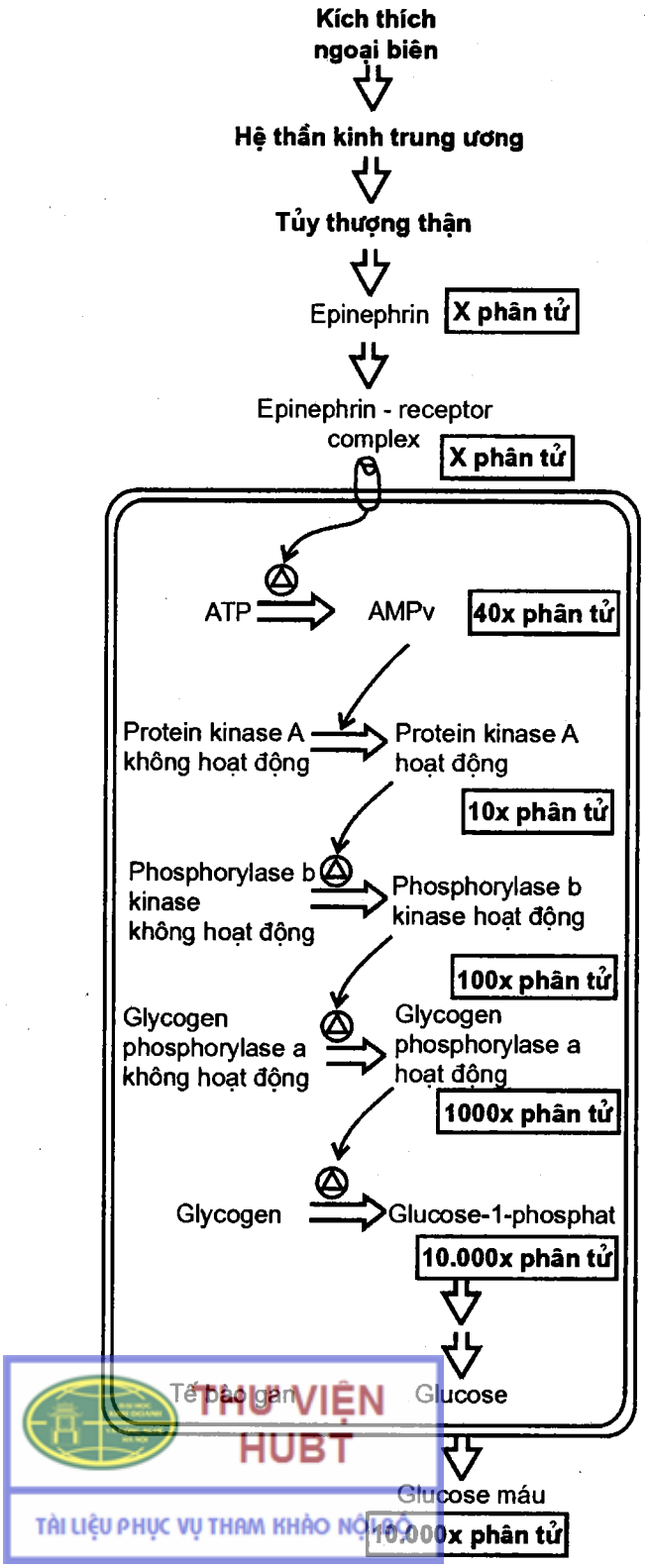
từ đó tiếp tục hoạt hoá hay ức chế AC có tác dụng kích thích hay ức chế tạo AMPv.

GMP vòng (GMP_v) cũng tác động như một chất truyền tin thứ 2, theo cùng một cơ chế giống AMPv.

Protein kinase phụ thuộc GMPv cũng có thể phosphoryl hoá và điều hoà nhiều enzym khác có trong tổ chức đích.

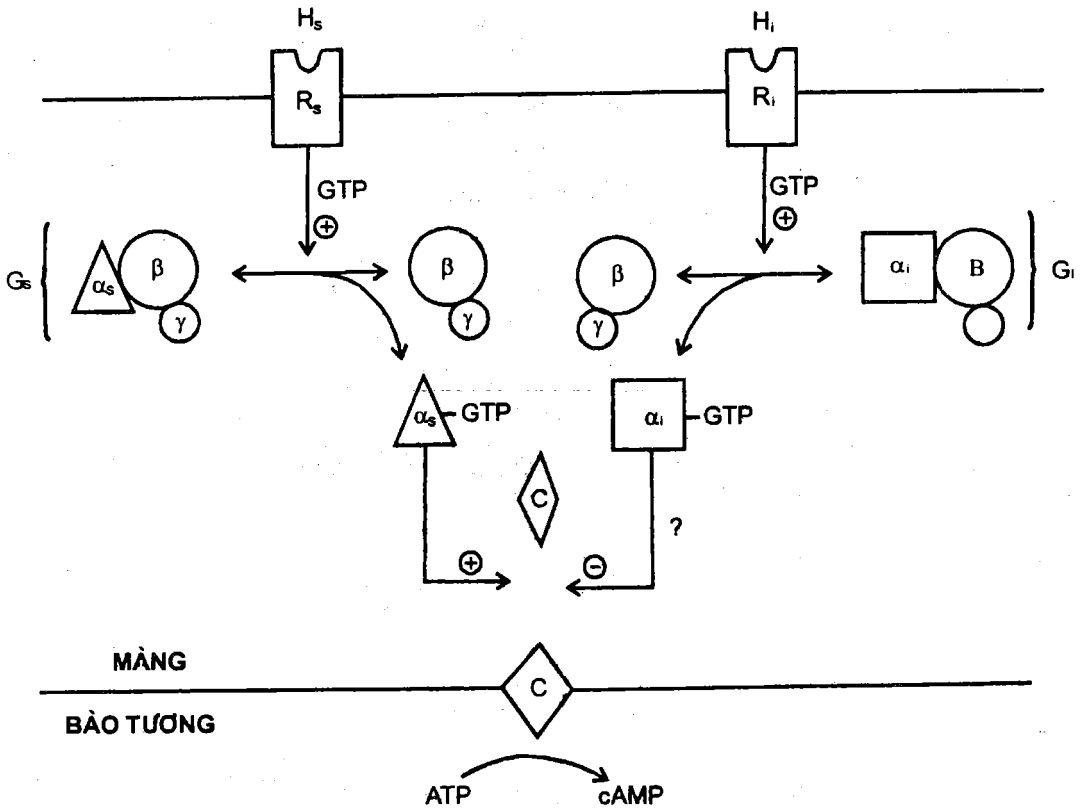
Glucagon cũng có tác dụng theo cơ chế như của adrenalin, nhưng sự phân bố của R của nó trong tế bào thì khác nhau, nó tác động chính ở gan.

THƯ VIỆN HUBT



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.5. Vai trò của AMPv trong việc hoạt hoá một loại enzym xúc tác sự phân huỷ glycogen thành glucose



Hình 6.6. Ảnh hưởng của protein G đối với hoạt động của adenylat cyclase

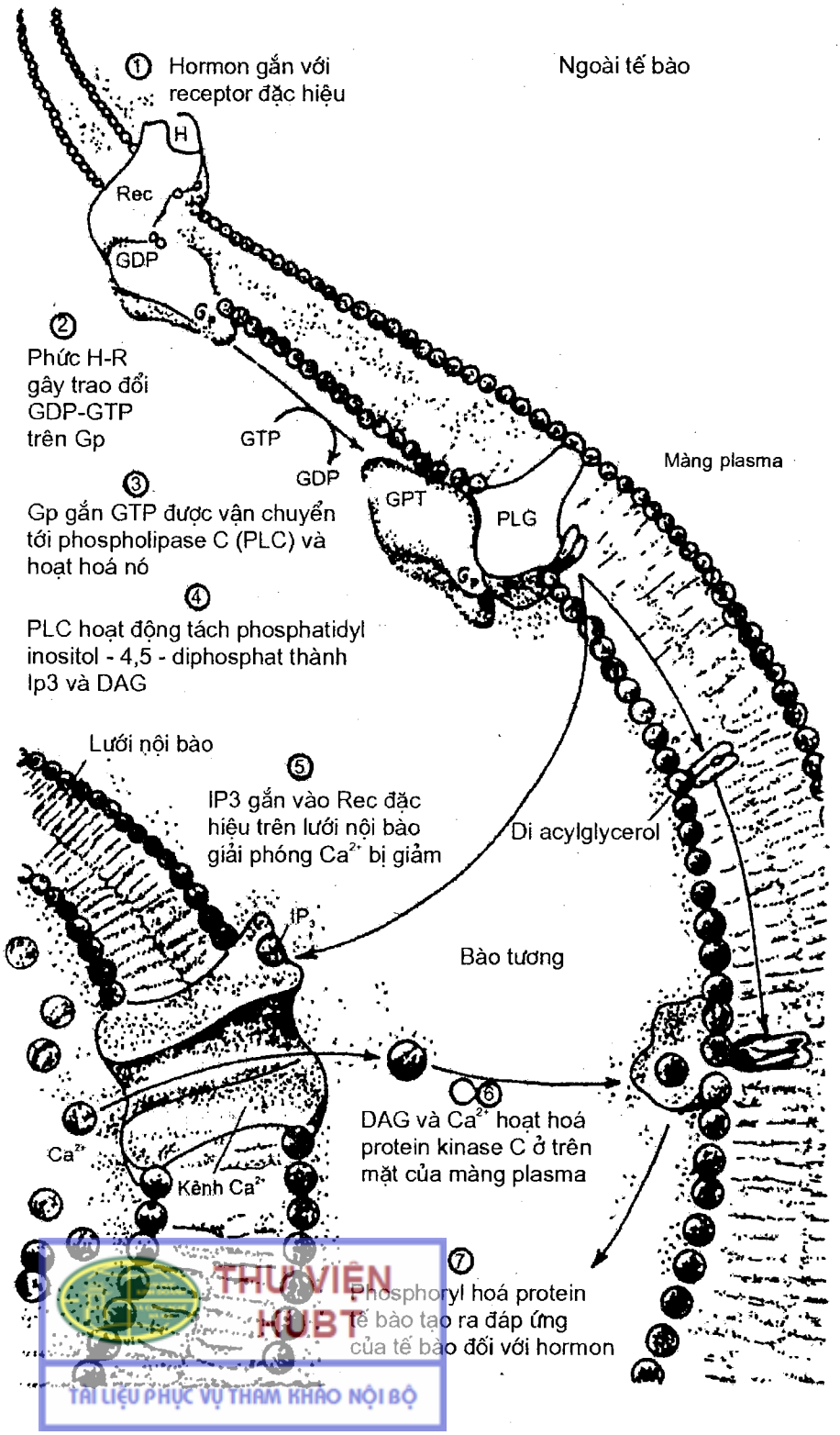
- ***Phân nhóm IIB*** *- Chất truyền tin thứ 2 là calci hay các phosphoinositid*

Cơ chế của phân nhóm này là tác dụng song song của RH với phospholipase C (PLC) ở màng plasma qua trung gian của một nhóm protein khác gắn GTP (hình 6,7). Sự liên kết của hormon gây hoạt hoá enzym này, xúc tác quá trình thuỷ phân phosphatidyl inositol 4,5 diphosphat (PIP_2) thành 2 chất truyền tin thứ 2 trong tế bào. Đó là:

- Inositol triphosphat (IP_3): được gắn vào R đặc hiệu trên hệ thống lưới nội tương, giải phóng các ion Ca^{2+} bị giam giữ ở trong đó.
- Diacylglycerol (DAG) cùng với các ion Ca^{2+} hoạt hoá protein kinase C nằm ở mặt trong của màng plasma.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sự phosphoryl hoá tiếp theo các protein tế bào bởi protein kinase C sẽ gây đáp ứng của tế bào đối với kích thích của hormon. Cùng với IP_3 diacylglycerol, Ca^{2+} cũng được coi là chất truyền tin thứ 2 của tế bào thường hay gặp ở những tế bào nhạy cảm với hormon và ở hệ thống tín hiệu thần kinh. Nó làm thay đổi hoạt tính enzym của các protein kinase đặc hiệu.

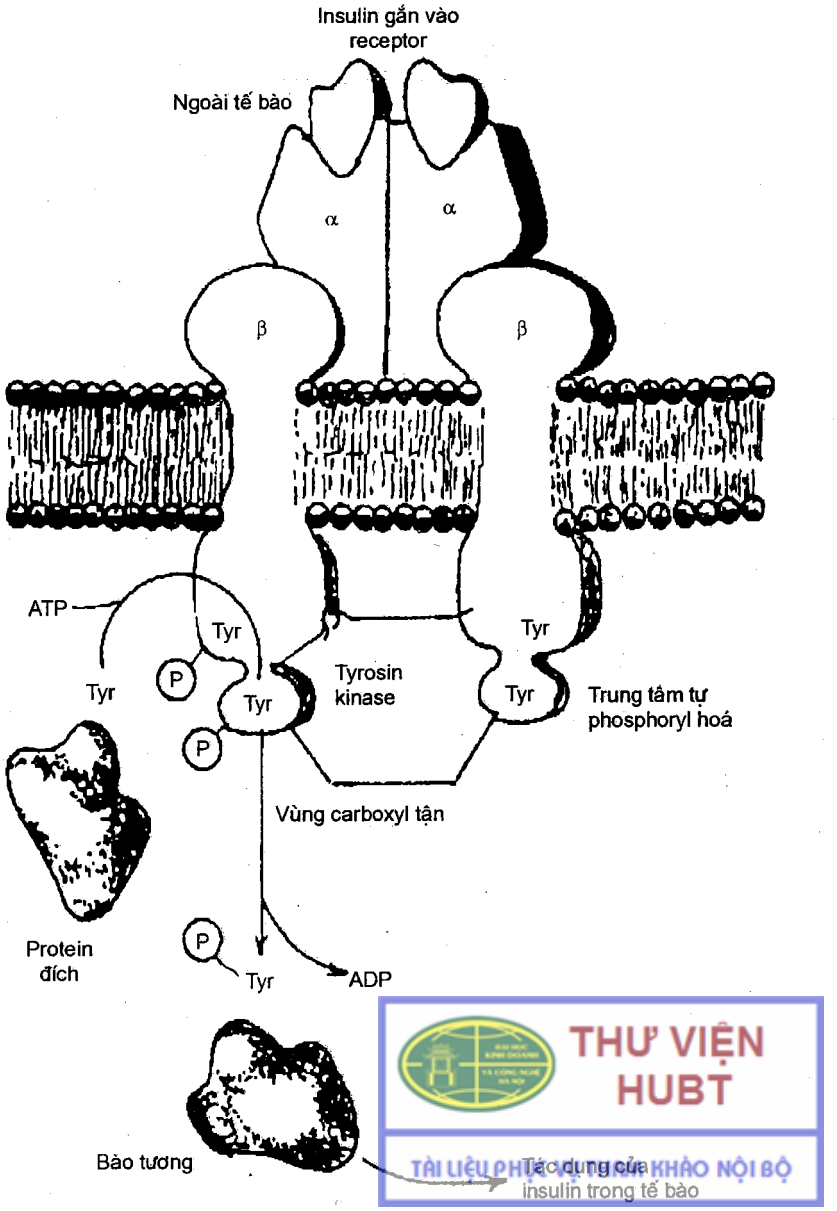


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.7. Cơ chế tác dụng của hormon nhóm IIB qua inositol triphosphat (IP_3) và diacylglycerol (DAG)

Calmodulin là tiểu đơn vị nhỏ gắn Ca^{2+} của nhiều enzym phụ thuộc Ca^{2+}. Đó là một protein chứa 4 trung tâm liên kết Ca^{2+}. Liên kết của Ca^{2+} - calmodulin làm thay đổi cấu dạng của nó và cho phép tương tác một cách hiệu quả với những protein mà nó điều hoà. Một trong những enzym được điều hoà bởi hệ thống này là protein kinase phụ thuộc Ca^{2+}/calmodulin, có tác dụng phosphoryl hoá các gốc Ser và Thr của protein đích.

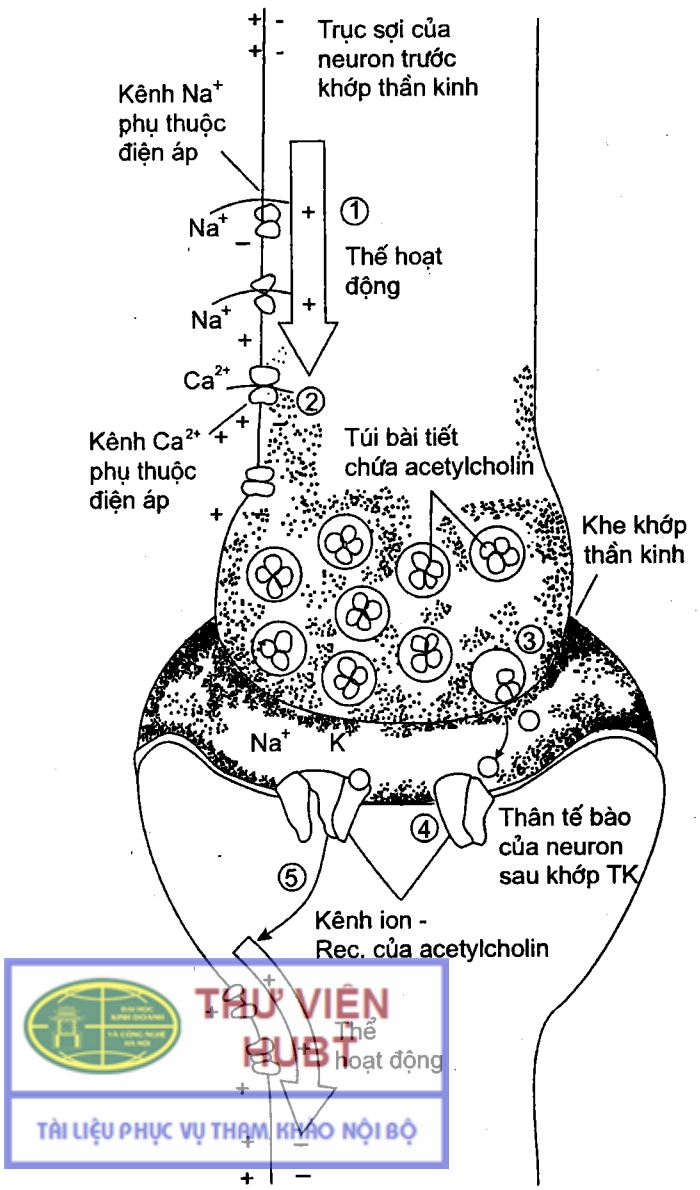
- ***Phân nhóm IIC-*** *Chưa biết chất truyền tin thứ 2, điển hình cho nhóm này là insulin:*



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.8. Cơ chế tác dụng của insulin

Bản thân R của insulin là một protein kinase có khả năng vận chuyển một nhóm phosphat của ATP tới nhóm hydroxyl của một gốc Tyr (không phải Ser hay Thr). Nó gồm 2 tiểu đơn vị α giống nhau nằm ở mặt ngoài của màng plasma và 2 tiểu đơn vị beta xuyên màng với các đầu C - tận ở trên mặt ngoài của bào tương (hình 6.8). Các chuỗi α chứa vùng liên kết insulin, còn các chuỗi β là vùng tyrosin kinase. Liên kết insulin ở khu vực ngoài tế bào hoạt hoá tyrosin protein kinase đặc hiệu của R nằm trong bào tương. Kinase này lại hoạt hoá tiếp nhiều protein kinase khác bằng phản ứng phosphoryl há các gốc Tyr đặc hiệu. Cuối cùng những enzym này có thể phosphoryl hoá enzym quan trọng khác để gây ra nhiều thay đổi về chuyển hoá trong cơ thể.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.9. Vai trò của các kênh ion phụ thuộc điện thế và ligand trong quá trình truyền tín hiệu điện giữa 2 neuron

Ở những người bị mắc bệnh "tiểu đường kháng insulin", tuy cơ thể vẫn tiết ra insulin bình thường nhưng các tổ chức lại không đáp ứng được với chính insulin tiết ra và cả insulin ngoại sinh. Đó là do hiện tượng đột biến trong vùng tyrosin kinase của R làm enzym này không hoạt động, do đó không thể xảy ra chuỗi phản ứng tiếp theo mặc dù vẫn có insulin gắn vào R.

1.3.3. cơ chế mở kênh ion dưới tác dụng kích thích của hormon

Receptor nicotinic của acetylcholin là một kênh ion phụ thuộc ligand (hình 6.9). Khi gắn acetylcholin sẽ cho phép các ion Na^+ và K^+ chuyển qua màng, do đó gây hiện tượng khử cực ở tế bào đích. Các kênh này mở ra và đóng lại tuỳ theo sự thay đổi điện thế của màng. Dọc theo trục sợi thần kinh (axone) các kênh phụ thuộc điện thế Na^+ bị đóng lại khi màng được phân cực, nhưng lại mở ra rất nhanh khi có hiện tượng khử cực. Như vậy, nhờ có các kênh Na^+ hay Ca^{2+} phụ thuộc vào điện áp, một luồng khử cực luôn luôn quét dọc theo trục sợi thần kinh và cuối cùng dẫn đến giải phóng các yếu tố dẫn truyền thần kinh.

2. Hormon có bản chất protein và polypeptid

Thuộc nhóm này là những hormon của tuyến yên, vùng dưới đồi, rau thai, tụy, cận giáp và hormon tiêu hoá.

Bảng 6.5. *Một số hormon protein và polypeptid*

Hormon	Bản chất hoá học	Tác dụng chính
(1)	(2)	(3)
Hormon vùng dưới đồi		
TRF	Peptid (3aa)	Kích thích tiền yên tiết TSH
SRF (GRF)	Peptid (11aa)	Kích thích tiền yên tiết TSH (GH)
CRF	α_1, α_2, β CRF	Kích thích tiền yên tiết ACTH
PRF	Peptid	Kích thích tiền yên giải phóng LTH (PRH)
FSH-RF (GnRF)	Peptid (10aa)	Kích thích tiền yên tiết kích dục tố
LH-RF		
GIF	Polypeptid (14aa)	Ức chế tiền yên tiết STH
PIF	Peptid	Ức chế tiền yên giải phóng LTH (PRH)
MRF và MIF	Peptid	Kích thích và ức chế tiền yên tiết MSH
Hormon của tiền yên		
STH (GH)	Protein (191 aa) M21500	Kích thích sản xuất nhiều yếu tố tăng trưởng
ACTH	Polypeptid (39aa) M4500	Kích thích vỏ thượng thận tiết corticoid
FSH	Glucoprotein M34000	Kích thích sự trưởng thành nang Graff, tăng tiết estrogen
LH	Glucoprotein M20500	Gây chín nang Graff, tạo hoàng thể, tăng tiết estrogen và progesteron
LTH (prolactin)	Protein (191aa) M21500	Kích thích tuyến sữa tạo sữa
TSH	Glucoprotein ($\alpha\beta$) M28000	Kích thích tuyến giáp tổng hợp hormon

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)	(3)
Hormon của trung yên		
MSH	αMSH: polypeptid (13aa) βMSH: polypeptid (22aa)	Kích thích hắc tố bào tiết melanin
Hormon của hậu yên		
Ocytoxin	Polypeptid (9aa) M1007	Co cơ tử cung
Vasopressin	Polypeptid (9aa) M1040	Tăng tái hấp thu nước ở ống thận
Hormon tuyến cận giáp		
PTH	Polypeptid (84aa)	Tác dụng chuyển hoá Ca^{2+}
TCT (calcitonin)	Polypeptid (32aa)	Giảm Ca^{2+} máu
Hormon tuyến tụy		
Insulin	Polypeptid (51aa)	Giảm đường máu
Glucagon	Polypeptid (29aa)	Tăng đường máu
Hormon tiêu hoá		
Gastrin	Polypeptid (34, 17, 14aa)	
Secretin	Polypeptid (27 aa)	Kích thích tụy tiết nước và bicarbonat
Cholecystokinin	Polypeptid (39, 33, 12, 8, 4 aa)	Co bóp túi mật, kích thích tụy tiết enzym
Pancreozymin (CCL-PZ)		
GIP (gastrin inhibitory pep tid)		

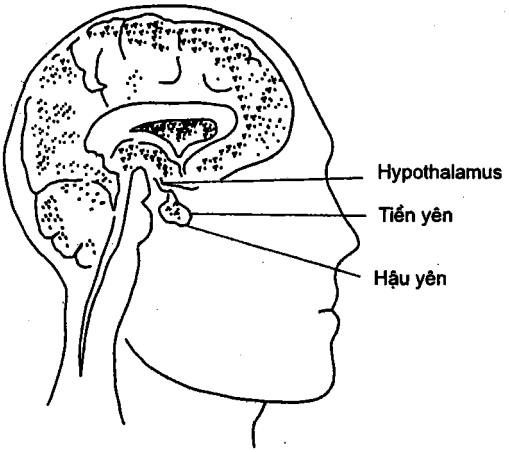
Bảng 6.6. *Tên viết tắt của các hormon protein*

TRF = TRH	Thyrotropin releasing factor (hormone)
ARF (GRF) = GHRH	Somatotropine releasing factor (hormone)
CRF - CRH	Corticotropine releasing factor (hormone)
PRF = LTHF	Prolactine releasing factor (hormone)
FSH-RF =FSH-RH	
LH-RF = LH-RH	
GnRF = GnRH	Gonadotropine
GIF = GHIH	Growth hormon inhibiting factor (hormone)
PTF = PRIH	Prolactin inhibiting factor (hormone)
MRF	Melanotropin releasing factor
MIF	Melanotropin inhibiting factor
STH (GH)	Somatropin hormone (gwoth hormone) = somatropin
ACTH	Adrenocorticotropin hormone
FSH	Follicle - stimulating hormone (gonadotropine)
LH	Luteinizing hormone (gonadotropine)
LTH (PRH)	Luteotropin hormone (prolactin)
TSH	Thyroid stimulating hormone = thyrotropine
MSH	Melanocyte stimulating hormone
PTH	Parathyroid hormone
TCT	Thyrocalcitonin
HCG	Human chorionic gonadotropin
HCP	Human chorionic prolactin
HCT	Human chorionic thyrotropin
HCS	Human chorionic somatropin
POMC	Pro opiomelanocortin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA CỨU NỘI BỘ

2.1. Hormon tuyến yên và cùng dưới đồi (hypothylamus)

Vùng dưới đồi (VDĐ) là một phần đặc biệt của não (hình 6.10) và là trung tâm phối hợp chức năng của hệ thống nội tiết. Nó nhận và truyền tin từ hệ thần kinh trung ương, sản xuất ra những hormon điều hoà đi tới tuyến tiền yên (nằm ngay dưới VDĐ): một số được gọi là "yếu tố giải phóng" ("releasing factor" = RF) có tác dụng kích thích tiền yên tiết ra một hormon tương ứng; số khác được gọi là "yếu tố ức chế" (inhibiting = IF) ức chế tiền yên tiết hormon. Khi được kích thích, tiền yên sẽ tiết hormon vào máu để vận chuyển tới các tuyến nội tiết khác như: vỏ thượng thận, tuyến giáp, tinh hoàn, buồng trứng, các tế bào nội tiết của tụy...



Hình 6.10 Vùng dưới đồi và tuyến yên

2.1.1. Hormon vùng dưới đồi

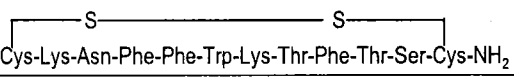
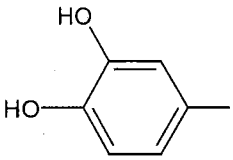
Các yếu tố giải phóng hay ức chế của VDĐ (bảng 6.7) là những peptid tương đối ngắn (dưới 50 aa) (bảng 6.8) được sản xuất với một lượng rất nhỏ (R. Guilemin và A. Schally. 1970)

Bảng 6.7. *Hormon vùng dưới đồi*

Tên hormon	Ký hiệu tắt
Hormon giải phóng corticotropin	CRH = CRF
Hormon giải phóng thyrotropin	TRH = TRF
Hormon giải phóng gonadotropin	GnRH = GnRF LHRH = LHRF FSHRH = FSHRF
Hormon sinh trưởng	GHRH = GHRF (GRH = GRF) (SHR = SRF)
Hormon kích thích và ức chế giải phóng melanotropin	MRH = MRF MIH = MIF
Hormon ức chế giải phóng hormon sinh trưởng	GHRIH = GHRIF (SRIH = SRIF)
Hormon ức chế giải phóng prolactin	PRIH = PRIF (PIH = PIF)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 6.8. Cấu trúc của một số hormon vùng dưới đồi

Hormon	Cấu trúc
TRH	(pyro) Glu-His-Pro-NH_2
Somatostatin	 Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-NH_2
GnRH	(pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2
PRIH	 $CH_2CH_2NH_2$ peptid **gắn với** GnRH (GAP)
CRH cừu	Ser-Gln-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Thr-Lys-Ala-Asp-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Asn-Arg-Lys-Leu-Leu-Asp-Ile-Ala-NH_2
GHRH người	Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala-Arg-Leu-NH_2

* GAP: protid gắn yếu tố gonadotropin

Somatostain tổng hợp được sử dụng nhiều ở người và động vật vì nó đóng vai trò ức chế giải phóng GH. Ngoài ra nó còn ức chế cả sự giải phóng của glucagon, insulin, TSH, FSH, ACTH và nhiều hormon tiêu hoá.

2.1.2. Hormon tuyến yên

• *Hormon tiền yên*: được gọi là các kích tố (stimulating hormon = tropic hormon = tropin). Thuỳ trước tuyến yên đáp ứng với hormon VDĐ đưa từ máu đến bằng cách sản xuất ra 6 kích tố: STH (GH), ACTH, FSH, LH, PRL (prolactin) và TSH để kích thích sự hoạt động của các tuyến khác (hình 6.10). Các kích tố này có những đặc điểm sau đây:

– Về cấu trúc: là những polypeptid tương đối dài (ACTH, 39aa), protein (STH và PRL191aa) (hình 6.11) hay glycoprotein (FSH, LH và TSH). Nhưng không phải mọi aa trong cấu trúc đều thể hiện tác dụng sinh học. Ví dụ trong ACTH chỉ có 24aa đầu N tận mới cần cho hoạt động của hormon. Vì vậy chế phẩm tổng hợp ACTH có 24aa là đủ để sử dụng trong các thử nghiệm chẩn đoán.

– Về tác dụng:

+ Kích thích các tuyến nội tiết sản xuất hormon tương ứng. Ví dụ: ACTH kích thích vỏ thượng thận bài tiết các corticoid; gonadotropin kích thích buồng trứng tiết estrogen và progesteron; prolactin kích thích tiết sữa; TSH kích thích tuyến giáp tổng hợp thyroxin.

+ Điều hoà chuyển hoá glucid, lipid, protein và điện giải của nhiều tổ chức, cơ, mô mỡ, gan...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Một số hormon tham gia vào hệ thống gây tăng đường huyết như:

GH: gây giảm sử dụng glucose ở tổ chức ngoại vi, tăng gia nhập aa vào tế bào (là cơ chất chính của quá trình tân tạo glucid), do đó tiết kiệm được glucose cho chuyển hoá của não;

ACTH: có tác dụng kích thích sự tổng hợp và giải phóng các hormon steroid vỏ thượng thận (do biến đổi cholesterol thành pregnenolon là tiền chất của corticosteroid) đặc biệt là glucocorticoid.

TSH kích thích tổng hợp hormon tuyến giáp (T3 và T4) có tác dụng gây tăng đường huyết.

Trong quá trình tổng hợp protein, hormon tiền yên (GH, FSH, ACTH) thường đi kèm với tác dụng gây tăng tổng hợp ARN và ADN ở một số tổ chức.

– Cơ chế hoạt động của hormon tiền yên là tạo phức hợp H-R ở màng plasma và hoạt hoá adenyclatcylase (AC):

+ Sự tăng AMPv có vai trò kích thích TSH trong sinh tổng hợp hormon giáp trạng ở mọi khâu (gia nhập iod vào tuyến, gắn và thuỷ phân thyroglobulin).

+ FSH gắn vào R đặc hiệu trên màng tế bào đích của tế bào nang trứng và tế bào Sertoli của tinh hoàn, do đó hoạt hoá AC và tăng hàm lượng AMPv, kết quả là gây tăng giải phóng estrogen, tăng tổng hợp protein và tăng nồng độ testosteron cần để tạo tinh trùng.

+ Phức hợp LH-R kích thích hoàng thể sản xuất progesteron và kích thích tế bào Leydig sản xuất testosteron. AMPv là tín hiệu nội tế bào cho những tác dụng này của LH.

+ ACTH hoạt hoá AC ở các mô mỡ, do đó hoạt hoá lipase qua trung gian AMPv và tăng thuỷ phân lipid.

– Sự bài tiết và tổng hợp hormon tiền yên nói chung được kiểm soát bởi hệ thống feedback.

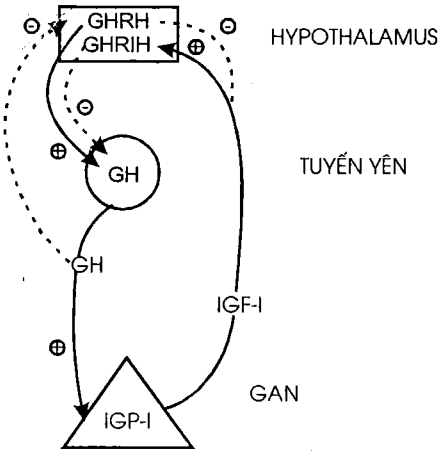
+ Hoạt động của GH trên sự tăng trưởng là do trung gian của một yếu tố sản xuất ở gan (IGF_1 = yếu tố tăng trưởng một kiểu insulin) còn gọi là somatomedin C và yếu tố sulfat hoá có tác dụng kích thích gắn sulfat vào sụn. IGF_1 kiểm soát sự bài tiết của GH bằng cách ức chế giải phóng GHRH của VDĐ và kích thích giải phóng GHRIH (somatostatin) (hình 6.12). Bản thân GH cũng có vai trò ức chế ngược: ức chế giải phóng GHRH. Somatostain cũng có vai trò này đối với sự giải phóng GH. Không những thế nó còn ức chế GH bằng cách ức chế sự huy động Ca^{2+}... Ngoài ra còn nhiều tác nhân khác cũng ảnh hưởng đến sự giải phóng GH: tình trạng buồn ngủ, các stress thần kinh (đau, rét, sợ hãi, phẫu thuật), lao động nặng, hạ đường huyết, đói... hoặc estrogen, dopamin, α adrenergic, serotonin...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Sự bài tiết ACTH được điều hoà bởi nồng độ cortisol trong máu, yếu tố giải phóng corticotropin (CRF)...

+ Sự bài tiết gonadotropin được điều hoà bởi FSH-RF, LH-RF và nồng độ hormon sinh dục nữ trong máu.

+ PRL (LTH - prolactin) bị ức chế bởi PIF, TRF...



Hình 6.12. Hệ thống feedback điều hoà sản xuất hormon tăng trưởng

(-): ức chế; (+): kích thích

- *Hormon của trung yên:*

Ở người, cấu tạo của thuỳ giữa tuyến yên rất sơ sài và ít mạch máu đi qua nhưng hormon của tuyến lại hoạt động mạnh trong thời kỳ phôi thai và ở phụ nữ có thai thời kỳ cuối.

MSH còn gọi là kích hắc tố kích thích bài tiết melamin, là hormon duy nhất của trung yên, gồm 2 loại αMSH và βMHS:

– αMSH có cấu tạo polypeptid (13aa), giống nhau ở nhiều loại động vật (khỉ, bò, lợn, cừu). αMSH tổng hợp (7aa từ aa4-aa10) có tác dụng kích hắc tố rõ rệt. Hiện tượng xạm da trng bệnh Addison liun quan đến sự tăng tiết của ACTH và MSH.

– βMHS có cấu tạo phức tạp hơn và khác nhau tuỳ từng loài. βMHS ở người goòm 18aa.

MSH là sản phẩm cắt đoạn của pro-opiomelanocortin (POMC) sẽ nói đến dưới đây. Sự bài tiết MSH được điều hoà bởi yếu tố MRF và MIF của VDĐ. Ở người nó còn chịu ảnh hưởng của nồng độ cortisol trong máu.

- *Hormon của hậu yên:*

Thuỳ sau tuyến yên có 2 hormon hoạt động: vasopressin và oxytocin.

Cả hai hormon đều được tổng hợp từ tế bào nhân ở VDĐ, rồi di chuyển bởi các trục thần kinh (axones) cùng với protein vận chuyển đặc hiệu (neurophysin) tới những đầu tận thần kinh của hậu yên, sau đó giải phóng và dự trữ ở tuyến yên, có thể do chúng thoát được khỏi hàng rào máu não.

THƯ VIỆN HUBT
HỆ THỐNG PHỤC VỤ THÔNG TIN KHOA HỌC NỘI BỘ

Vasopressin và oxytocin có cấu tạo hoá học gần giống nhau, đều là polypeptid có 9aa và 1 cầu disulfur (D. Vigneaud & CS 1954). Chúng cũng là hormon đầu tiên được tổng hợp thành công.

Vasopressin theo đúng tên có nghĩa là hormon có khả năng gây tăng áp lực máu ở điều kiện sinh lý. Tuy nhiên tác dụng sinh lý quan trọng nhất của nó là hormon chống lợi niệu (antidiuretic hormon - ADH) do kích thích sự tái hấp thu nước ở ống thận xa.

Oxytocin còn được gọi là "yếu tố đẻ nhanh" do tác dụng co bóp cơ trơn của tử cung, đồng thời còn có tác dụng kích thích tiết sữa khi cho con bú.

– Cơ chế hoạt động của những hormon này là:

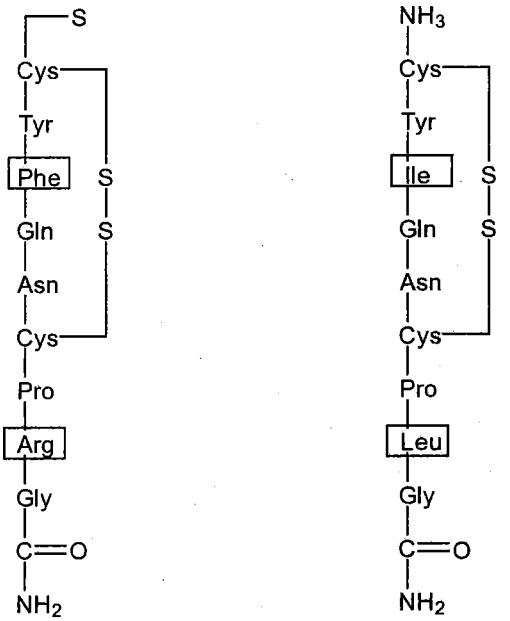
+ Hoặc qua chất truyền tin thứ 2 từ R đến cấu trúc tế bào hay enzym đặc hiệu kà đích cuối cùng.

+ Hoặc thay đổi biểu thị của một gen qua phức hợp H-R gắn với ADN.

– Điều hoà bài tiết:

+ Sự bài tiết oxytocin phụ thuộc vào các xung thần kinh sinh ra do kích thích núm vú, sau đó là do dãn nở tử cung. Nhiều yếu tố kích thích giải phóng oxytocin cùng giải phóng prolactin. Estrogen kích thích sản xuất oxytocin, còn progesteron thì ức chế.

+ Sự bài tiết vasopressin chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố đặc biệt là thể tích máu và áp suất thẩm thấu của huyết tương: hiện tượng mất nước của cơ thể gây tăng bài xuất vasopressin, ngược lại hiện tượng loãng máu (giảm áp suất thẩm thấu) gây ức chế. Ngoài ra có các yếu tố kích thích khác như stress cảm xúc, stress sinh lý, acetylcholin, nicotin và morphin. Adrenalin và các chất làm tăng thể tích huyết tương (ethanol) gây ức chế bài tiết ADH.



Vasopressin người (hormon chống lợi niệu) — Oxytocin người (co cơ tử cung)

Hình 6.13. Hai hormon của thuỳ sau tuyến yên

2.2. Hormon của rau thai (kích tố rau thai)

Ngoài các kích tố của tuyến yên, rau thai cũng bài tiết một số kích tố có bản chất là polypeptid.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Kích dục tố rau thai* (HCG = human chorionic gonadotropin):

+ HCG là một glycoprotein (M ~ 35 000) có cấu trúc dimer α, β đặc trưng cho nhóm hormon glycoprotein, trong đó chuỗi α có cấu tạo giống chuỗi α của LH, FSH và TSH. Chuỗi β đặc biệt cho hoạt động sinh lý của HCG: kích thích bài tiết estrogen và progesteron giống như LH của tuyến yên.

+ HCG xuất hiện trong máu và nước tiểu phụ nữ ngay những ngày đầu của thời kỳ thai nghén. Nồng độ trong nước tiểu và máu cao nhất ở tháng thứ 2 và tháng thứ 3, mất dần sau khi đẻ vài ngày. Người ta ứng dụng xét nghiệm HCG (trên ếch, thỏ hay bằng phương pháp miễn dịch) để chẩn đoán thai.

– *Kích nhũ tố rau thai* (HCP = human chorionic prolactin) hay (HCS = human chorionic somatropin):

HCP có cấu tạo polypeptid (191aa) gần giống với cấu tạo của các hormon GH, LTH của tuyến yên nên có thể có tác dụng sinh lý giống nhau: HCP chuẩn bị cho sự tạo sữa trong thời kỳ có thai.

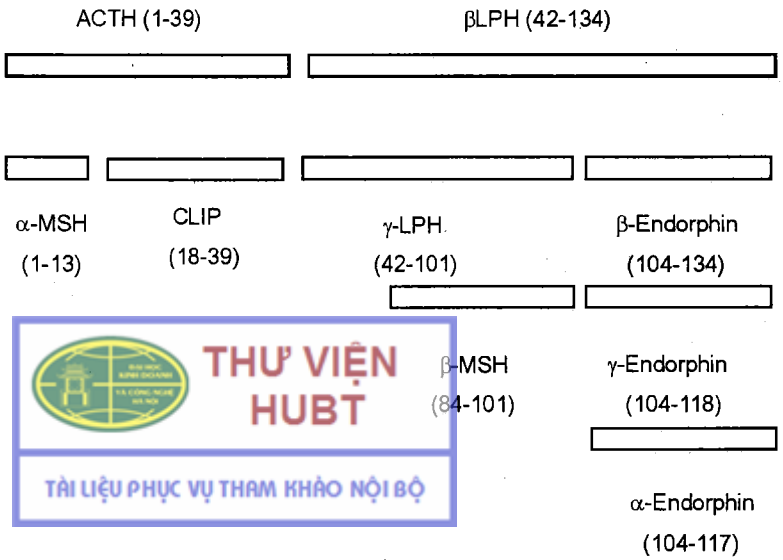
– *Kích giáp trạng tố rau thai* (HCT = human chorionic thyrotropin):

HCT cũng được tìm thấy trong nước tiểu phụ nữ có mang và có tác dụng tương tự TSH nhưng có cấu tạo khác nhau.

2.3. Pro-opiomelanocortin (POMC)

POMC là tiền thân của hormon tiền yên, gồm khoảng 285aa và biến đổi khác nhau tuỳ theo các vùng của tuyến yên, đồng thời nó cũng là tiền thân của những hormon có tác dụng giống thuốc phiện (opium) và những hormon có tác dụng kích thích vỏ thượng thận (corticotropin) cũng như hormon của thuỳ giữa tuyến yên (melanotropin). Dưới tác dụng của peptidase (trypsin) POMC bị cắt đứt ở một số điểm tạo ra nhiều hormon (hình 6.14). Có thể chia thành 3 nhóm cơ bản:

- ACTH cho α-MSH và CLIP (một peptid loại corticotropin ở trung yên - peptidase de type corticotropin dans le lobe intermediaire).
- β-lipotopin (β-LPH) cho γ-LPH, β-MSH và β-endorphin (do đó có cả α và γ-endorphin)
- Một peptid lớn N-tận cho γ-MSH



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.14. Các sản phẩm cắt đoạn của pro-opiomelanocortin (POMC)

Lipotropin (hay hormon lipotrope) có tác dụng kích thích sự oxy hoá lipid. Hai loại endorphin có tác dụng giảm đau giống morphin; vì vậy được coi là những morphin nội sinh. 5aa đầu N-tận của endorphin là encephalin (trong não). Chất này gắn với receptor cảm thụ thuốc phiện ở não có tác dụng giảm đau giống morphin. Đoạn N-tận có tác dụng kích thích hoạt động của ACTH.

POMC chỉ được tổng hợp bởi khoảng 5% tế bào tiền yên, trong khi mọi tế bào của trung yên đều có khả năng tổng hợp protid này. Việc điều hoà tổng hợp và bài tiết ở hai thuỳ rất khác nhau.

+ Ở tiền yên: yếu tố giải phóng corticotropin (CRF) là yếu tố chính kiểm soát sự giải phóng POMC ở tiền yên với sự tham gia của AMPv và Ca^{2+}. Các hormon glucocortocoid ức chế trực tiếp những tác dụng trên của CRF đối với sự bài tiết của POMC, đồng thời chúng có thể tác động lên VDĐ bằng cách ức chế sản xuất và giải phóng CRF.

+ Ở trung yên có rất ít mạch máu đi qua và không có hệ thống VDĐ - tuyến yên, vì vậy nó không chịu ảnh hưởng bởi CRF. Ngoài ra nó cũng không có R tiếp nhận glucocorticoid, do đó glucocortocoid không kiểm soát được POMC. Các chất hiệp đồng dopamin (ergocryptin) gây giảm ARNm mã hoá cho POMC và giải phóng các peptid của POMC, còn các chất đối kháng (haloperidol) lại gây tăng. Thời gian và mức độ thay đổi này hoàn toàn phù hợp để có sự cân bằng giữa "sản xuất và bài tiết". Những chất này không thấy có tác dụng ở tiền yên. Ở trung yên, các tác nhân β - adrenergic và serotonin kích thích giải phóng POMC.

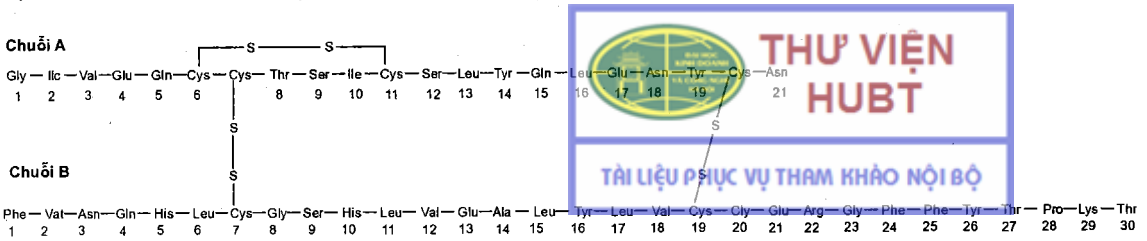
2.4. Hormon tuyến tụy

Các tế bào nội tiết của tuyến tụy sản xuất và bài tiết 3 hormon có cấu tạo protein: insulin, glucgon và somatostatin. Những hormon này được các nhóm tế bào đặc biệt của các đảo Langerhans tổng hợp: các tế bào α sản xuất glucagon (~ 25%), tế bào β sản xuất insulin (~ 70%) và tế bào δ sản xuất somatostatin (< 5%)

2.4.1. Insulin

Insulin là hormon peptid đầu tiên được tinh chế, xác định cấu trúc, tổng hợp hoá học và sử dụng trên thị trường nhờ kỹ thuật ADN tái tổ hợp.

– *Cấu tạo hoá học*: insulin người là một protein nhỏ (M=5700) (hình 6.15) gồm 2 chuỗi polypeptid: A (21aa) và B (30aa) liên kết bởi 2 cầu disulfur giữa A-B (A7-B7 và A20-B19). Cầu thứ 3 nằm ở chuỗi A (A6-A11). Các cầu disulfur quyết định tính chất sinh học của insulin.

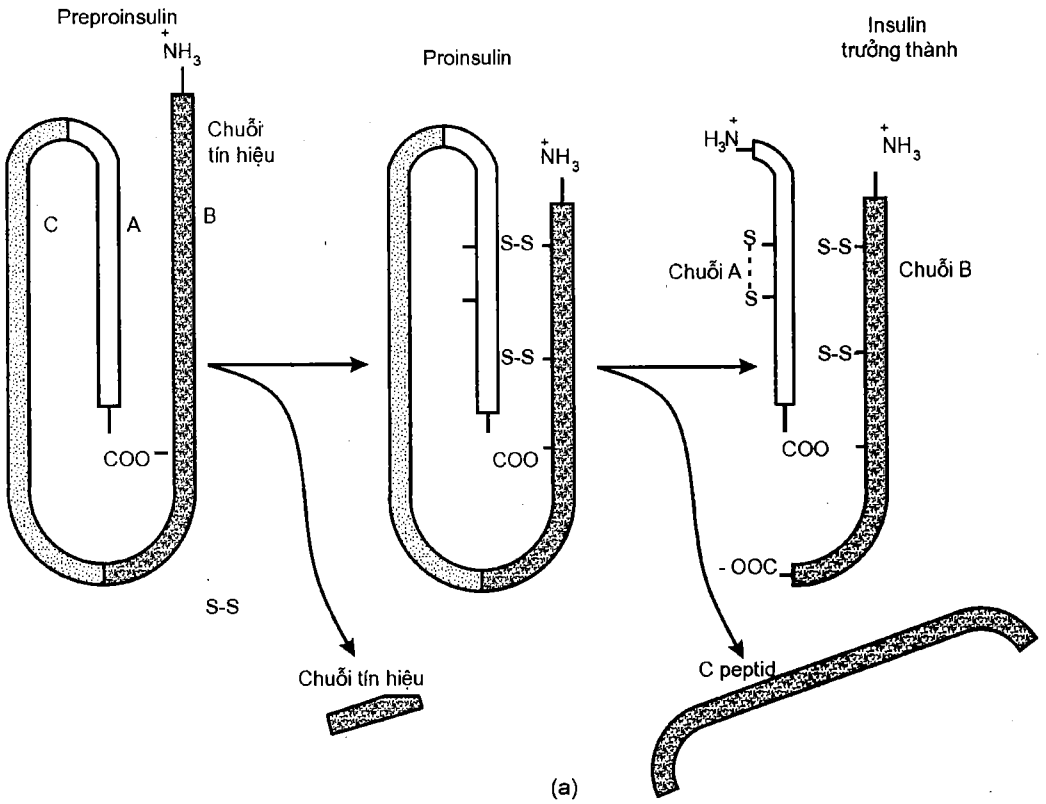


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.15. Cấu trúc của insulin người

Người ta đã phát hiện thấy một hàm lượng cao Zn trong tế bào β và có sự tạo phức với insulin và proinsulin.

Insulin được tổng hợp trong các tế bào β của tụy dưới dạng một tiền chất không hoạt động, có một chuỗi duy nhất (M ~ 11.500): *preproinsulin* (hình 6.16). Ở đầu N-tận của chuỗi có một "tín hiệu peptid" chỉ huy đi đến các túi tiết. Nếu cắt rời tín hiệu này bằng cách thuỷ phân protein và giữ nguyên 3 cầu disulfur sẽ biến đổi preproinsulin thành proinsulin (M=9000) được giữ lại trong các hạt tiết của tế bào β. Khi nồng độ glucose huyết tăng sẽ kích thích bài tiết insulin: proinsulin biến đổi thành insulin hoạt động nhờ các carboxy peptidase đặc hiệu có tác dụng cắt 2 liên kết peptid.



Hình 6.16. Tổng hợp insulin từ tiền chất preproinsulin

– Tác dụng chủ yếu của insulin là giảm glucose huyết (bảng 6.9) bằng cách:

+ Kích thích sự gia nhập glucose vào cơ (gây tăng tính thấm của màng tế bào đối với glucose) và cả ion K^+, phosphat vô cơ, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phosphoryl hoá và sử dụng glucose ở cơ (biến đổi glucose thành glucose-6-phosphat đi vào chuyển hoá).

+ Hoạt hoá glycogen synthetase đồng thời gây bất hoạt glycogen phosphorylase, làm cho phần lớn glucose-6-phosphat chuyển hoá thành glycogen.

+ Kích thích tổng hợp glucokinase ở gan, đồng thời ức chế tổng hợp một số enzym xúc tác sự tân tạo đường (pyruvat carboxylase...).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU KHU VỰC THƯ VIỆN

+ Giảm tác dụng của glucose-6-phosphatase

+ Kích thích tổng hợp lipid dự trữ (triacylglycerol) ở các mô mỡ bằng cách sử dụng acid béo giải phóng từ triacylglycerol của VLDL (gắn lipoprotein huyết tương) do sản phẩm thoái hoá glucose thừa ở gan (acetylCoA) vào máu.

***Bảng 6.9.** Tác dụng gây giảm glucose huyết của insulin*

Tác dụng chuyển hoá	Enzym tác dụng
↑ Gia nhập glucose (cơ)	↑ Glucose transporter
↑ Gia nhập glucose (gan)	↑ Glucokinase
↑ Tổng hợp glycogen (gan, cơ)	↑ Glycogen synthetase
↓Thoái hoá glycogen (gan, cơ)	↓ Glycogen phosphorylase
↑ Đường phân, tạo acetyl CoA (gan, cơ)	↑ Phosphofructokinase-1 ↑Pyruvate dehydrogenase complex
↑ Tổng hợp acid béo (gan)	↑ AcetylCoA carboxylase
↑ Tổng hợp triacylglycerol (tổ chức mỡ)	↑ Lipoprotein lipase

Như vậy trong cơ thể luôn luôn có một mối liên hệ ngược rất tinh tế điều chỉnh giữa quá trình bài tiết insulin với nồng độ glucose trong máu. Tác dụng của insulin là kích thích sự biến đổi glucose thừa trong máu thành 2 dạng dự trữ: glycogen (ở gan và cơ) và triacylglycerol (ở mô mỡ) để duy trì hằng định nồng độ glucose trong máu dù cho chế độ ăn glucose có nhiều thay đổi. Nếu thiếu insulin sẽ gây nhiều hậu quả: tăng đường huyết, đường niệu, giảm pH máu và gây ceton niệu (hình 6.17).

– Cơ chế tác dụng: có nhiều giả thiết về cơ chế tác dụng của insulin:

+ Trên receptor của insulin (xem phần cơ chế hoạt động của hormon): phần tiểu đơn vị β của R có hoạt tính của tyrosinkinase và là trung tâm của quá trình tự phosphoryl hoá một chuỗi phản ứng (thay đổi một số tính chất của màng hoặc sinh ra một sản phẩm phospholipid gắn với màng).

+ Các chất trung gian nội tế bào: Ca^{2+}, các nucleotid vòng (AMPv, GMPv), H_2O_2, các peptid hay phospholipid màng, các cation hoá trị 1 và tyrosinkinase.

+ Sự phosphoryl hoá và khử phosphoryl hoá protein.

Trong một số trường hợp insulin làm giảm hàm lượng AMPv nội bào (bằng cách hoạt hoá một AMPv - phosphodiesterase), do đó làm giảm protein kinase hoạt động phụ thuộc AMPv (glycogen synthetase và glycogen phosphorylase.

+ Trong những trường hợp khác tác dụng của insulin không phụ thuộc vào AMPv mà hoạt động do:

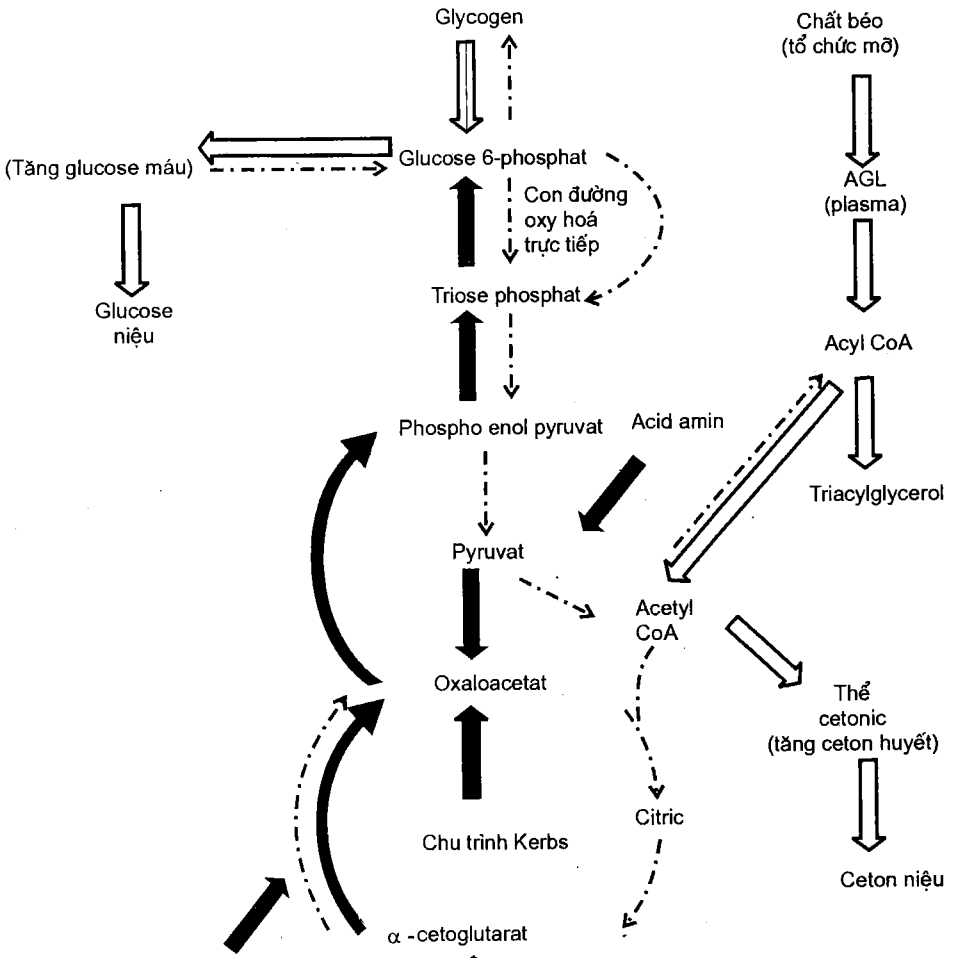
- Hoạt hoá các protein khác (giống trường hợp R của insulin), hay
- Ức chế các proteinkinase khác, hoặc
- Kích thích hoạt động của phospho protein phosphatase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Việc khử phosphoryl hoá gây tăng hoạt động một số enzym quan trọng (glycogen synthetase, pyruvat kinase, pyruvat dehydrogenase...).

+ Trên quá trình dịch mã của ARNm, insulin có ảnh hưởng đến hoạt tính hay nồng độ của ít nhất 50 protein trong những tổ chức khác nhau. Điều đó giải thích tác dụng của insulin trên sự tổng hợp protein ở gan, cơ, xương và cơ tim.

+ Trên biểu thị gen: ngoài tác dụng của màng hay bào tương, insulin còn có thể tác động đến những quá trình đặc hiệu ở nhân qua một chất trung gian nội bào: nó làm giảm tổng hợp phospho enol pyruvat carboxykinase (PEPCK) xúc tác ức chế một giai đoạn trong quá trình tân tạo đường.



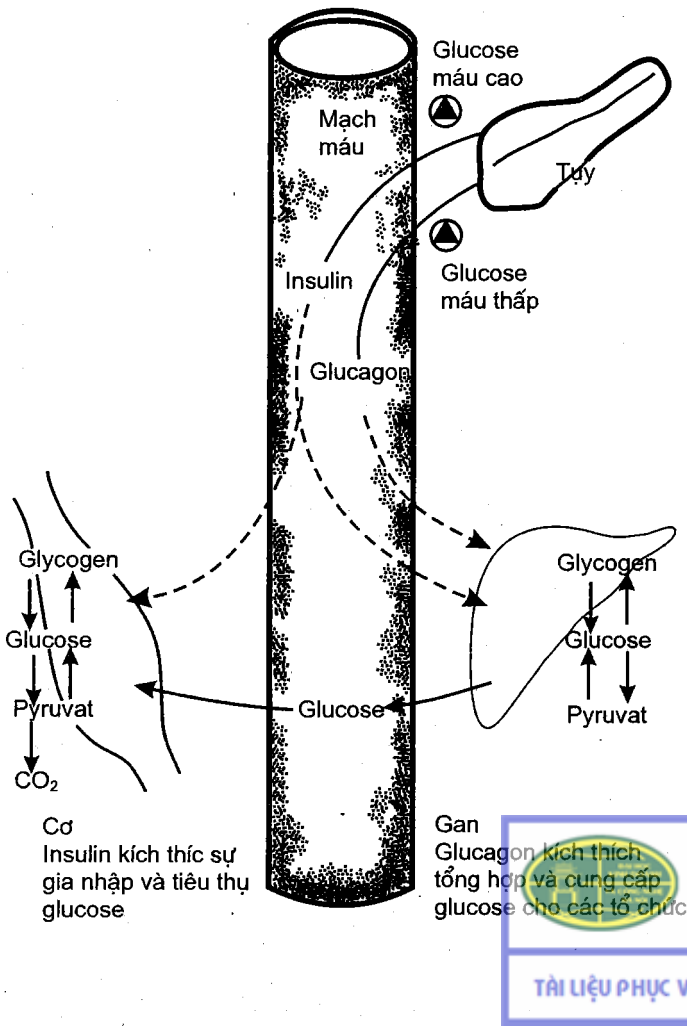
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

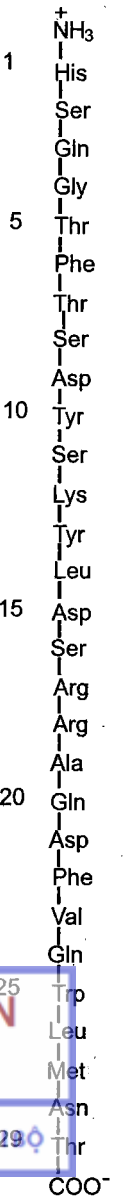
Hình 6.17. Những hậu quả do thiếu insulin (mũi tên trắng)

2.4.2. Glucagon

– Glucagon (hình 6.18) có cấu tạo một chuỗi polypeptid (M. 3485) gồm 29aa không chứa Cys, là dẫn xuất từ tiền chất proglucagon (M ~ 9000). Nó bị phá huỷ nhanh ở gan bởi enzym cắt 2aa đầu N-tận $t_{1/2}$ ~ 5 min.

– Thông thường sau khi ăn vài giờ dù không có một tác động sinh lý hay stress nào khác cũng gây giảm nồng độ glucose trong máu (<4,5mM) do sự oxy hoá liên tục của glucose ở não và các tổ chức khác. Sự giảm này kích thích bài tiết glucagon và làm chậm bài tiết insulin (hình 6.19).





THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.19. Vai trò điều hoà đường huyết của insulin

Hình 6.18. Glucagon

– Glucagon gây tăng đường huyết theo 2 cơ chế (bảng 6.9):

+ Giống adrenalin, nó kích thích sự thoái biến glycogen ở gan bằng cách hoạt hoá glycogen phosphorylase và ức chế glycogen synthetase nhờ AMPv.

Bảng 6.10. *Tác dụng của glucagon trên sự tổng hợp và giải phóng glucose ở gan*

Tác dụng chuyển hoá	Tác dụng trên chuyển hoá glucid	Enzym tác dụng
↑ Thoái hoá glycogen (gan)	Glycogen→glucose	↑ Glycogen phosphorylase
↓ Tổng hợp glycogen (gan)	Giảm dự trữ glycogen	↓ Glycogen synthetase
↓ Đường phân (gan)	Giảm đốt cháy glucose ở gan	↓ Phosphofructokinase-1
↑ Tân tạo glucose (gan)	Acid amin Glycerol Oxaloacetat } → glucose	↑ Fructose-1,6- diphosphatase ↓ Pyruvate kinase
↑ Huy động acid béo (tổ chức mỡ)	Giảm đốt cháy glucose ở gan, cơ	↑ Triacylglycerol lipase

– Trái với adrenalin, nó ức chế con đường Đường phân ở cơ và kích thích con đường tân tạo glucid. Hai tác dụng này liên quan đến sự giảm fructose 2,6 diphosphat là chất ức chế allosteric của fructose 1-6 diphosphatase (enzym tân tạo đường) và là chất hoạt hoá của phospho fructokinase 1, do đó glucose ít được sử dụng làm nhiên liệu đốt cháy ở gan. Glucagon còn kích thích sự tân tạo glucid bằng cách gây tích tụ phospho enol pyruvat (PEP) do ức chế pyruvat kinase nhờ AMPv, vì vậy ngăn căn sự tạo thành pyruvat đi vào chu trình Krebs.

Mặc dù tổ chức đích chính của glucagon là gan, glucagon còn có tác dụng kích thích sự phaan huỷ lipid ở các mô mỡ, giải phóng glycerol và acid béo nhờ có triacylglycerol lipase được hoạt hoá bởi AMPv.

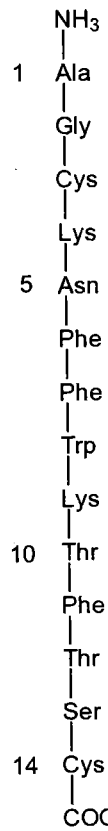
Tóm lại: tác dụng của glucagon là kích thích gan tổng hợp và bài tiết glucose vào máu, đồng thời huy động acid béo của mô mỡ để cung cấp chất đốt cho các tổ chức khác ngoài não (bảng 6.10). Tất cả những tác dụng này đều thông qua hoạt động phosphoryl hoá các protein nhờ AMPv.

2.4.3. Somatostatin

– Cũng là một hormon polypeptid (M = 1640) gồm 14aa (hình 6.20).

– Được tổng hợp và bài tiết không chỉ ở các tế bào δ của tụy mà còn bởi vùng dưới đồi và một số tế bào đường tiêu hoá.

– Somatostatin ức chế tuy giải phóng insulin và glucagon (tác dụng paracrin). Ngoài ra nó làm giảm vận chuyển thức ăn vào máu, lưu giữ thức ăn ở dạ dày, giảm tiết HCl ở dạ dày, giảm tiết enzym tiêu hoá của tụy, hấp thu đường chậm...



Somatostatin

Hình 6.20.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

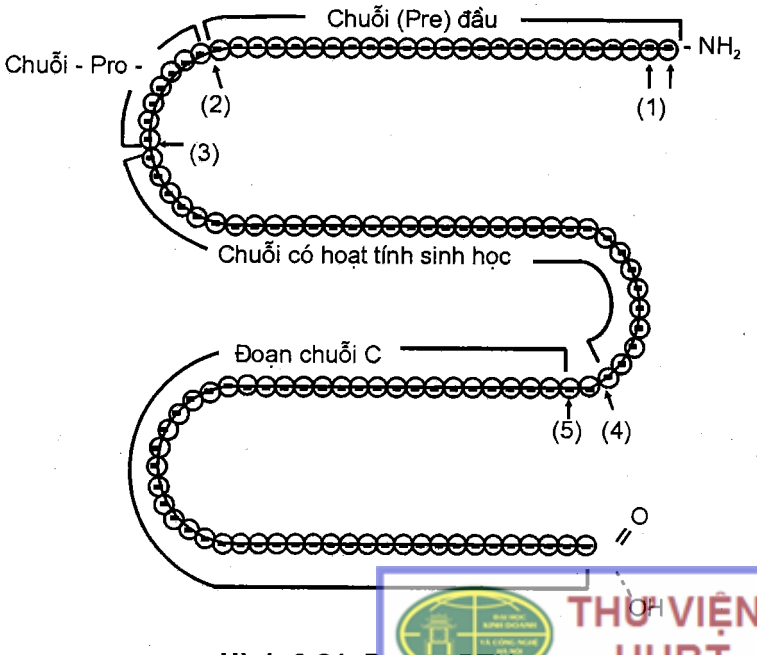
2.5. Hormon tuyến cận giáp

Tuyến cận giáp bài tiết những hormon có tác dụng điều hoà chuyển hoá calci. Trong cơ thể ion calci đóng vai trò kiểm soát nhiều quá trình sinh lý và sinh hoá quan trọng: kích thích thần kinh cơ; các quá trình đông máu, bài tiết, gia nhập và vận chuyển các chất qua màng tế bào; các phản ứng enzym; giải phóng hormon và chất dẫn truyền thần kinh; hoạt động của một số hormon trong tế bào... Ngoài ra quá trình vô cơ hoá xương đòi hỏi phải có tỷ lệ thích hợp nồng độ Ca^{2+} và PO_4^{3-} trong dịch ngoài tế bào cũng như ở màng xương. Vì vậy để bảo đảm bình thường cho những quá trình nói trên cần phải giữ một nồng độ Ca^{2+} nghiêm ngặt trong huyết tương.

Parathyroid hormon (PTH), calcitriol [1,25 $(OH)_2$ - D_3] và calcitonin (CT) là 3 hormon tác động trên 3 cơ quan: xương, thận và ruột. Tuy không do tuyến cận giáp tiết ra nhưng calcitriod vẫn được xếp vào nhóm PTH do có mối liên quan mật thiết với PTH.

2.5.1. Parathyroid hormon và calcitriol (hormon làm tăng Ca^{2+} huyết)

– PTH là một peptid (M = 9500, 84aa) (hình 6.21) được tổng hợp từ tiền chất Prepro PTH (115aa) $\xrightarrow{-6aa}$ Pro PTH (109aa) $\xrightarrow{-25aa}$ PTH (84aa) và bài tiết liên tục vào máu.



Hình 6.21. Prepro PTH

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

PTH tổng hợp chỉ gồm 34aa có tác dụng sinh học tương tự như PTH tự nhiên.

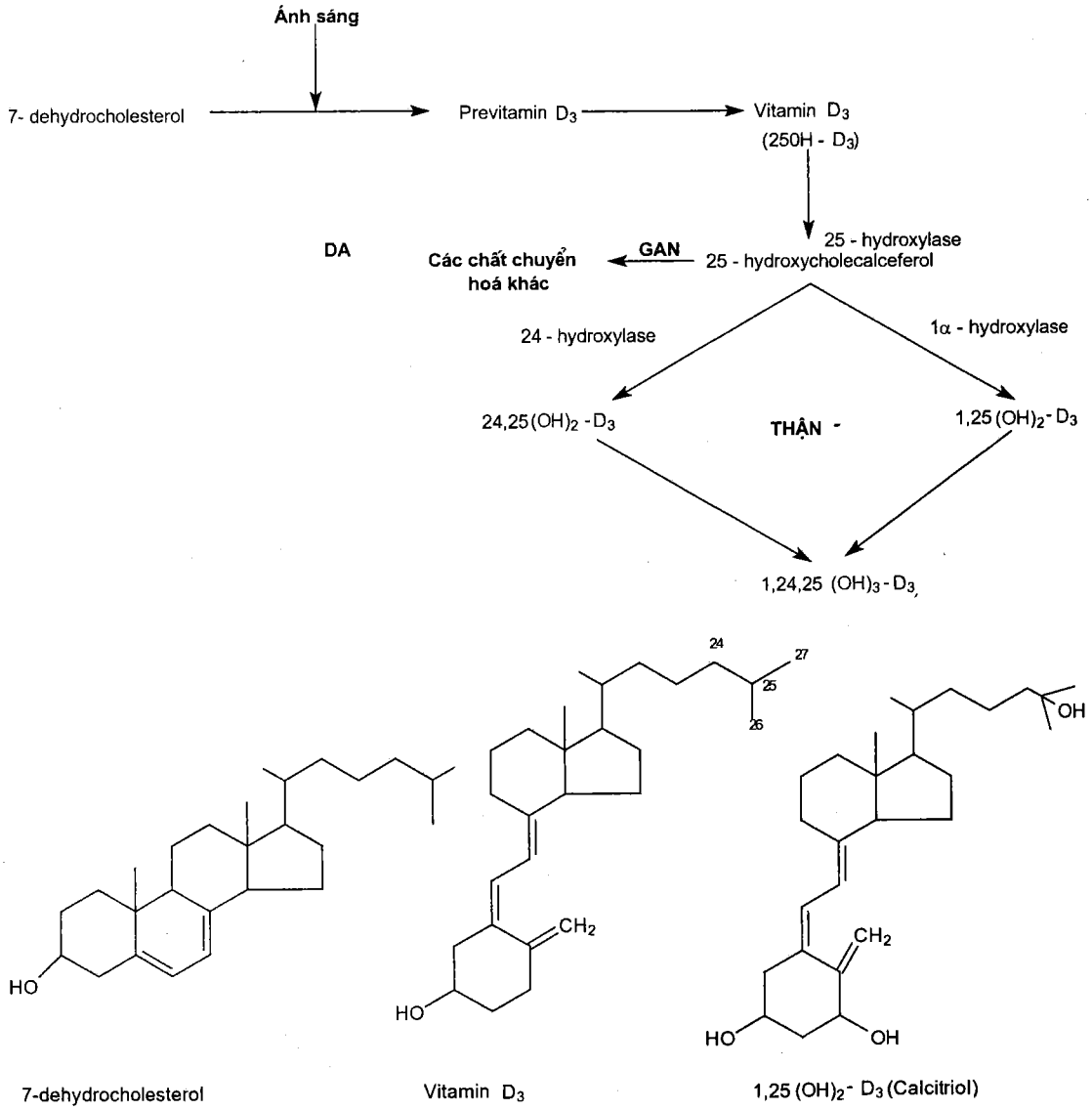
Khi nồng độ Ca^{2+} huyết tương giảm xuống dưới mức bình thường (<1,1mmol/l), tuyến cận giáp sẽ tăng tiết PTH có tác dụng:

+ Kích thích sự vận chuyển Ca^{2+} và phosphat từ xương vào máu.

+ Tăng tái hấp thu Ca^{2+} và bài tiết phosphat ở thận.

+ Kích thích sự tạo thành calcitriol ở màng ruột.

– Calcitriol [1,25 $(OH)_2$ - D_3] là dạng hoạt động của vitamin D (hình 6.22) có tác dụng:



Hình 6.22. Quá trình tạo và hydroxyl hoá của vitamin D_3

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Kích thích sự hấp thu Ca^{2+} và phosphat ở ruột. Nó là hormon duy nhất có khả năng kích thích sự vận chuyển của Ca^{2+} ngược với gradient nồng độ ở màng tế bào ruột, do đó đảm bảo được nồng độ Ca^{2+} và phosphat cố định dưới dạng tinh thể hydroxy apatit trong sợi collagen của xương. Vì vậy nếu thiếu vitamin D (thiếu calcitriol) thì việc tạo xương mới sẽ bị chậm lại và việc tái tạo xương cũng bị ảnh hưởng. Quá trình này được kiểm soát trước tiên bởi PTH khi tác động trên các tế bào xương, song vẫn cần phải có một nồng độ nhỏ calcitriol.

+ Calcitriol còn có thể gây tăng hoạt động của PTH trên sự tái hấp thu Ca^{2+} ở thận.

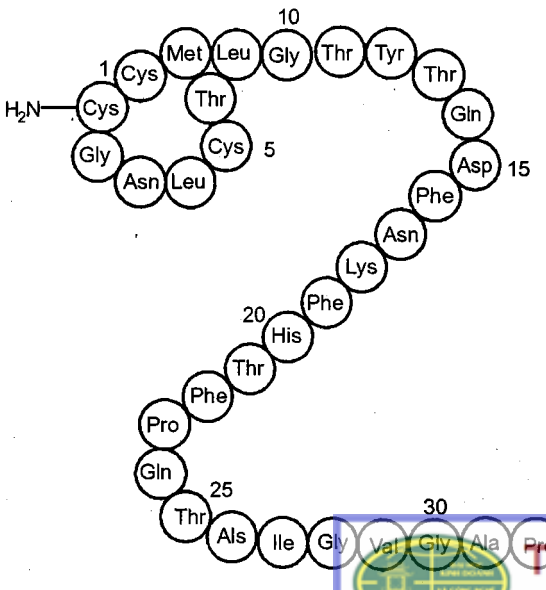
Như vậy nhờ có sự cộng hợp tác dụng của PTH và calcitriol, hàm lượng Ca^{2+} trong dịch ngoài tế bào tăng lên cùng với việc duy trì hay giảm nồng độ phosphat. Khi Ca^{2+} ngoài tế bào đạt tới bình thường thì PTH ngừng tiết theo cơ chế ức chế ngược. Lượng Ca^{2+} tăng cũng ức chế tạo calcitriol (một phần do giảm PTH) và tăng sản xuất các chất chuyển hoá không hoạt động của nó, do đó gây giảm hấp thu Ca^{2+} ở ruột và giảm hoạt động của PTH ở xương và thận.

2.5.2. Calcitonin (CT) (hormon làm hạ Ca^{2+} huyết)

– Calcitonin là một peptid (M = 5000) gồm 32aa (hình 6.23) có nguồn gốc tuyến giáp, cận giáp và tuyến ức. Trong cấu trúc có 7aa làm thành vòng N – tận tạo bởi một cầu Cys-Cys.

– Tác dụng chính của CT là giảm tái hấp thu, đồng thời giảm giải phóng Ca^{2+} và phosphat ở xương, do đó gây hạ Ca^{2+} và phosphat huyết. Tác dụng này không phụ thuộc vào PTH; CT làm tăng AMPv ở xương, có thể là ở những tế bào khác ngoài những tế bào mà PTH tác dụng.

CT còn đóng vai trò quan trọng trên chuyển hoá của phosphat. Nó cho phép phosphat đi vào tế bào xương và dịch màng xương đồng thời với việc giảm vận chuyển Ca^{2+} từ xương vào máu. Sự gia nhập này của phosphat có thể đi kèm với sự gia nhập của Ca^{2+} vì tác dụng làm hạ Ca^{2+} huyết của CT phụ thuộc vào phosphat.



Hình 6.23. Cấu trúc của calcitonin người

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.6. Hormon tiêu hoá

Hệ thống tiêu hoá (dạ dày - ruột) bài tiết nhiều hormon (bảng 6.11). Không giống với những hormon khác, chúng không tham gia điều hòa các tuyến nội tiết khác.

Bảng 6.11. *Trình tự acid amin của một số hormon tiêu hoá*

1 CCK	2 Gastrin	3 GIP	4 Glucagon	5 Secretin	6 VIP	7 Motili	8 Chất P	9 Bombésin	10 omatostatin
Tyr		Tyr	His	-	-	Phe	Arg	(pyro)Glu	Ala
Ile		Ala	Ser	-	-	Val	Pro	Gln	Gly
Gln		Glu	Gln	Asp	-	Pro	Lys	Arg	Cys —
Gln		Gly	-	-	Ala	Ile	Pro	Leu	Lys
Ala		Thr	-	-	Val	Phe	Gln	Gly	Asn S
→ Arg	(pyro)Glu	Phe	-	-	-	Thr	Gln	Asn	Phe
Lys	Leu	Ile	Thr	-	-	Tyr	Phe	Gln	Phe
Ala	Gly	Ser	-	-	Asp	Gly	Phe	Trp	-
Pro	-	Asp	-	Glu	Asn	Glu	Gly	Ala	Lys
Ser	Gln	Tyr	-	Leu	Tyr	Leu	-	Val	Thr
Gly	-	Ser	-	-	Thr	Gln	$Met\text{-}NH_2$	Gly	Phe
Arg	His	Ile	Lys	Arg	-	-		His	Thr S
Val	Pro	Ala	Tyr	Leu	-	Met		Leu	Ser
Ser	-	Met	Leu	Arg	-	Gln		$Met\text{-}NH_2$	Cys —
Met	Leu	Asp	-	-	Lys	Glu			
Ile	Val	Lys	Ser	-	Gln	Lys			
Lys	Ala	Ile	Arg	Ala	Met	Glu			
Asn	Asp	Arg	-	-	Ala	Arg			
Leu	Pro	GlnGln	Ala	Leu	Val	Asn			
Gln	Ser	Asp	-	-	Lys	-			
Ser	→ Lys	Phe	-	Arg	Lys	Gly			
Leu	Lys	Val	-	Leu	Tyr	Gln			
Aps	Gln	Asn	-	Leu	-				
Pro	→ Gly	Trp	Gln	-	Asn				
Ser	Pro	Leu	-	Gly	Ser				
→ His	Trp	-	-	-	Ile				
Arg	Leu	Ala	Met	$Val\text{-}NH_2$	Leu				
Ile	Glu	Gln	Asp		$Asn\text{-}NH_2$				
Set	Glu	Gln	Thr						
→ Asp	Glu	Lys							
Arg	Glu	Gly							
Asp	Glu	Lys							
Tys	Ala	Lys							
Met	Tys	Ser							
→ Gly	→ -	Asp							
Trp	-	Trp							
Met	-	Lys							
Asp	-	His							
$Phe\text{-}NH_2$	-	Asp							
		Ile							
		Thr							
		Gln							

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

[Tys: sulfat tyrosin

– Giống aa trong cột phía trước

→ Vị trí cắt để tạo peptid nhỏ hơn]

Cấu tạo của một số hormon tiêu hoá có nhiều dạng ở tổ chức và máu được nêu trong bảng 6.12.

– Gastrin: do tế bào vùng hang vị của niêm mạc dạ dày tiết ra khi có sự tiêu hoá protein.

Có hai loại gastrin: gastrin I và gastrin II (17aa). Gastrin II có thêm gốc sulfat ở aa thứ 12 (Tyr). Gastrin tổng hợp dùng trong lâm sàng gồm 4aa cuối.

+ Gastrin có tác dụng kích thích bài tiết acid dịch vị (được điều hoà bởi cơ chế FB âm) và pepsin kéo theo sự tăng sinh niêm mạc dạ dày. Hiện tượng loét dạ dày liên quan đến sự tăng tiết gastrin với hội chứng Zollinger Ellinson (u tụy, đa tiết dịch vị, loét tá tràng).

Bảng 6.12. *Một số hormon tiêu hoá có nhiều dạng trong tổ chức và huyết tương*

Hormon	Ở tổ chức	Ở huyết tương
Secretin	27 acid amin (S27)	S27
Gastrin	Tiền chất phân tử lớn 34 acid amin (G34) 17 acid amin (G17) 14 acid amin (G14)	 G34 G17 G14
Cholecystokinin	Tiền chất phân tử lớn 39 acid amin (CCK39) 33 acid amin (CCK33) 12 acid amin (CCK12) 8 acid amin (CCK8) 4 acid amin (CCK4)	 CCK12 CCK8
GIP	Tiền chất phân tử lớn 43 acid amin	Dạng lớn GIP 43
Somatostatin	Prohormone (P. M. 11500) 28 acid amin 14 acid amin	

– Secretin (Bayliss & Starling 1902):

+ Được bài tiết ở niêm mạc đoạn đầu của ruột.

+ Là một chuỗi polypeptid gồm 27aa, có một phần giống glucagon (đã được tổng hợp).

+ Có tác dụng:

• Kích thích dịch tụy bài tiết nước và bicarbonat (ứng dụng trong nghiệm pháp chẩn đoán viêm tụy mạn).

• Phân hủy lipid.

– Cholecystokinin (CCK):

+ Được bài tiết từ niêm mạc tá tràng khi có sự tiêu hoá lipid và protein.

+ Là polypeptid gồm 33aa, có ít nhất 5 dạng phân tử (bảng 6.11).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Có tác dụng lên sự co bóp của túi mật và kích thích bài tiết enzym tụy.

Ngoài ra nó còn gây mất cảm giác đói (!) (CCK8 là dạng có ở não).

– Glucagon: do tế bào tá tràng tiết ra và có tác dụng giống glucagon tuyến tụy nhưng yếu hơn.

– Peptid ức chế gastrin: do tá tràng tiết ra và có tác dụng ức chế dạ dày bài tiết acid.

3. Hormon là dẫn xuất của acid amin

Thuộc nhóm này có hormon tuyến giáp và tuyến tủy thượng thận.

3.1. Hormon tuyến giáp

Được giải phóng khi VDĐ tiết ra TRF kích thích tiền yên sản xuất TSH và đến lượt TSH kích thích tuyến giáp sản xuất 2 hormon đặc trưng: L- thyroxin (T4) và L - triiodo thyronin (T3).

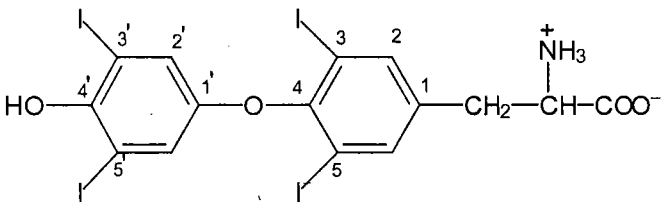
3.1.1. Cấu tạo hoá học

T3 và T4 đều là dẫn xuất của L - thyroxin (hình 6.24). Thyroglobulin là tiền thân của T3 và T4, nó là một glucoprotein lớn gắn iod (M.660.000, 8-10% glucid, 0,2-1% iod tuỳ theo khẩu phần ăn), gồm 2 tiểu đơn vị, 115 gốc Tyr, khoảng 70% iod của thyroglobulin có trong các tiền chất không hoạt động là:

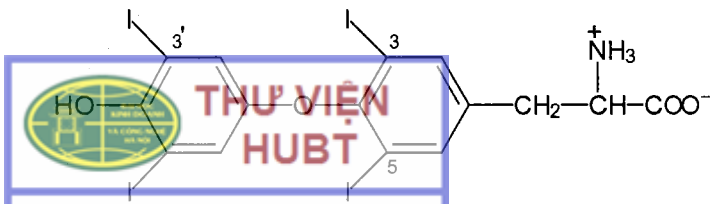
– 3 monoiodothyroxin (MIT).

– 3,5 diiodothyroxin (DIT).

Còn 30% iod có trong các iodothyronin (T3 và T4). Thông thường tỷ lệ T3:T4 là khoảng 7:1.



Thyroxin (L- 3,5,3',5', - tetraiodthyronin, hay T4)



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

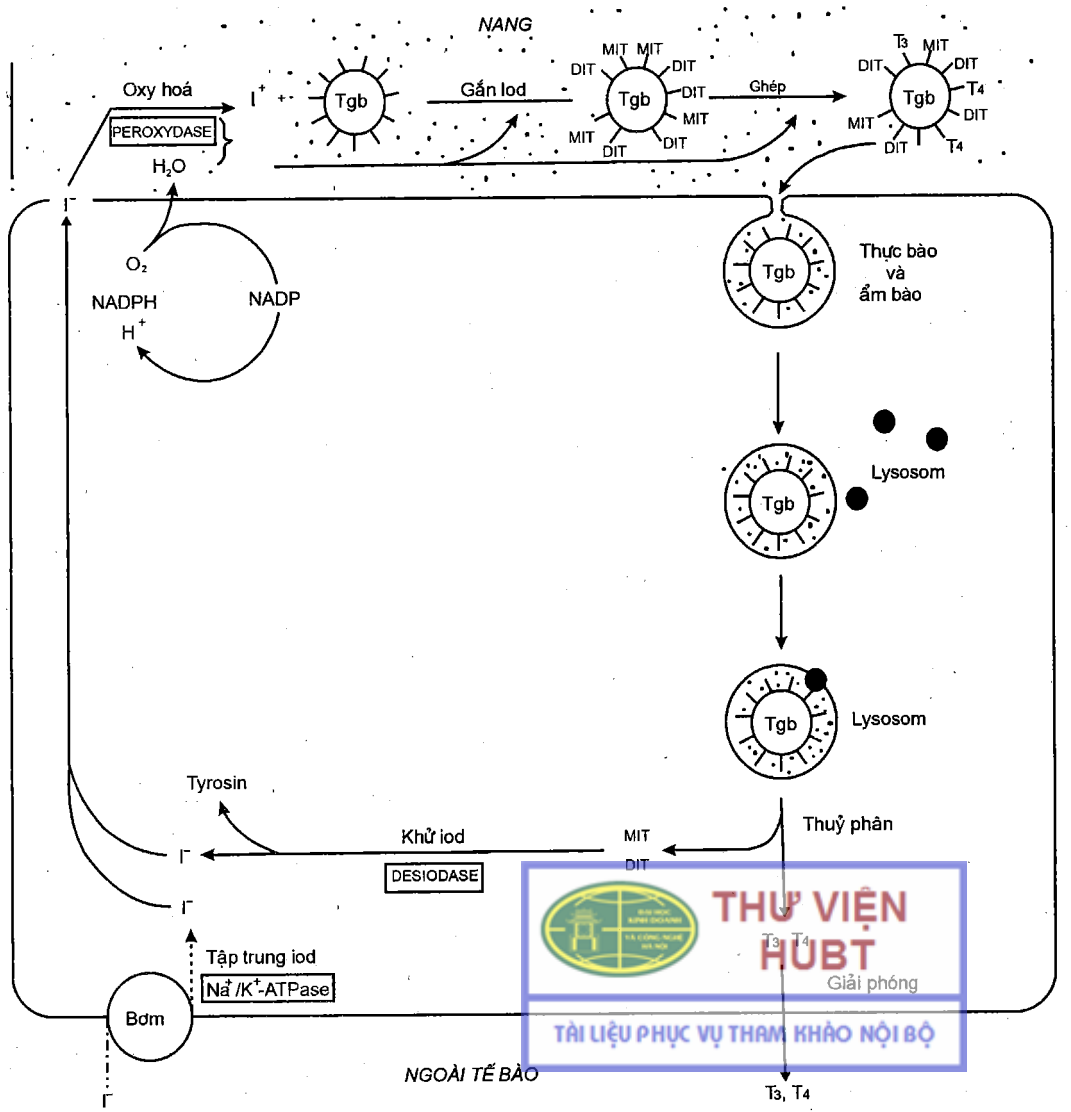
Triiodothyronin (L-3,5,3'-triiodothyronin hay T3)

Hình 6.24. Hormon tuyến giáp

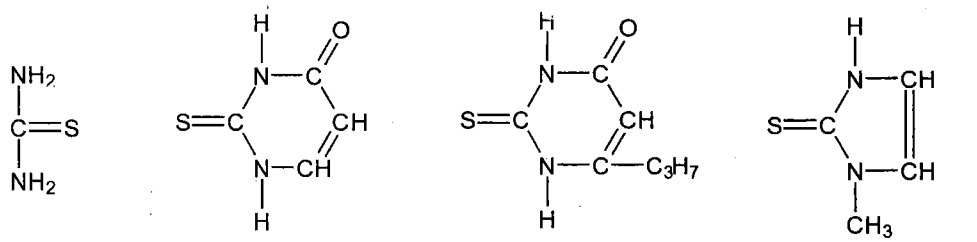
3.1.2. Sinh tổng hợp

Quá trình sinh tổng hợp hormon tuyến giáp gồm 4 giai đoạn (hình 6.25).

– *Giai đoạn tập trung iod*: iod ăn hàng ngày (150-220mg) vào cơ thể dưới dạng vô cơ hay hữu cơ, bị khử dưới dạng iodid (I^-), hấp thu qua màng ruột rồi được tập trung chủ yếu ở tuyến giáp. Quá trình này đòi hỏi năng lượng và liên quan đến hệ thống Na^+/K^+ nhờ ATPase. Chỉ có một lượng rất nhỏ iod vào tuyến theo cơ chế khuyếch tán thụ động. Lượng iod của tuyến có khoảng 10-15mg (tổng số iod của cơ thể là ~ 50mg). Trong tuyến, iod gắn với protein tạo thành iodothyroglobulin. Sự gia nhập iod vào tuyến được kích thích bởi TSH và bị ức chế cạnh tranh bởi các ion thiocyanat (SCN^-) hay peclorat (ClO_4^-). Bình thường tỷ lệ iod trong tuyến và iod trong máu ở người là ~ 25mg.



Hình 6.25. Sinh tổng hợp hormon tuyến giáp



Thiourê Thiouracil Propylthiouracil Methimazol

Hình 6.26. Các chất kháng giáp trạng trong nhóm thiourê

– *Giai đoạn gắn iod tạo iodotyrosin gồm 2 bước:*

+ Oxy hoá iodid thành iod nguyên tử, I nhờ xúc tác của thyroperoxydase với hydroperoxyd làm tác nhân oxy hoá. H_2O_2 được tạo bởi hệ thống enzym NADPH tương tự cytocrom C reductase. Các thuốc nhóm thiourê (hình 6.26) - thuốc kháng giáp trạng - có khả năng ức chế dinh tổng hợp hormon tuyến giáp ở giai đoạn này.

+ Gắn iod vào các gốc thyroxin của thyroglobulin (Tgb) tạo MIT và DIT (vào các vị trí 3 rồi đến 5 của nhân thơm). Phản ứng này chỉ xảy ra trong vài giây và khi đã gắn iod rồi thì nó không dễ dàng đi ra khỏi tuyến.

– *Giai đoạn ngưng tụ thành iodothyronin:*

Phản ứng ngưng tụ của 2 phân tử DIT để tạo ra T4, hay của một phân tử MIT với một phân tử DIT để tạo T3 chỉ xảy ra trong phân tử thyroglobulin và không xảy ra với một trong 2 chất ở dưới dạng tự do. phân tử Tgb vào tế bào tuyến nhờ hiện tượng thực bào và ẩm bào, sau đó kết hợp với lysosom trong tế bào.

– *Giai đoạn thuỷ phân thyroglobulin:*

Nhờ tác dụng xúc tác của enzym cathepsin, thyroglobulin được thuỷ phân để bài tiết T3 và T4 vào máu. Giai đoạn này cũng được kích thích bởi TSH. Còn MIT và DIT cũng được giải phóng khi thuỷ phân thyroglobulin, dưới tác dụng của deiodase có sự tham gia của NADPH (có cả trong gan và thận), iod được tách ra lại được tuyến giáp sử dụng để tổng hợp hormon. Nguồn iod tái tạo này chiếm khoảng 2/3 tổng số iod của tuyến giáp.

3.1.3.Chuyển hoá

Trong huyết tương T3 và T4 được vận chuyển bởi 2 protein đặc hiệu là: TBG (thyroxin binding globulin) và TBPA (thyroxin binding pre-albumin).

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ TRÌNH NHÀO NỘI BỘ

TBG có ái lực gắn T3 và T4 gấp 100 lần TBPA và khả năng gắn của nó là 20 µg/dl huyết tương. Một phần nhỏ ở dưới dạng tự do (Free) mới có hoạt tính sinh học. Do ái lực gắn vào R tuyến giáp của T3 lớn gấp 10 lần T4 nên T3 là dạng hoạt động chính và trong chuyển hoá khoảng 80% T4 trong máu được biến đổi thành T3. T3 có hoạt tính mạnh hơn T4 nhưng thời gian bán huỷ T4 lại cao gấp 4-5 lần T3. Có thể định lượng T3 và T4 gắn với protein vận chuyển để đánh giá chức năng của tuyến giáp. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố làm thay đổi hàm lượng toàn phần của

T3 và T4 nhưng không hề có ảnh hưởng đến dạng tự do (ví dụ estrogen gây tăng tổng hợp TBG còn androgen, glucocorticoid lại gây giảm TBG; phenytoin, salicylat cạnh tranh với T3, T4 để liên kết với TBG, do đó làm giảm lượng hormon toàn phần). Vì vậy cần chú ý trong khi làm xét nghiệm chẩn đoán. Trên thực tế để đánh giá hoạt động chức năng của tuyến có thể định lượng FT3 và FT4 (bằng RIA - phương pháp miễn dịch phóng xạ) hoặc định lượng gián tiếp iod gắn vào protein huyết thanh (PBI - protein bound iodin).

Hormon tuyến giáp được thoái hoá ở gan và thận, đôi khi ở tụy, bao gồm các loại phản ứng sau:

– Khử iod toàn bộ, khử amin hay khử carboxyl (đều làm mất hoạt tính của hormon).

– Liên hợp với acid glucuronic và acid sulfuric ở gan cho phân tử dễ hoà tan để sau đó:

+ Hoặc được bài tiết qua mật.

+ Hoặc được tái hấp thu ở ruột.

+ Hoặc được khử iod ở thận và bài xuất ra nước tiểu dưới dạng glucuro liên hợp.

3.1.4. Tác dụng

Hormon tuyến giáp rất cần cho sự phát triển bình thường ở người do những tác dụng sau đây:

– Kích thích chuyển hoá năng lượng làm tăng quá trình oxy hoá tế bào, tăng tiêu thụ oxy ở tổ chức, do đó gây tăng chuyển hoá cơ bản (CHCB = tốc độ tiêu thụ O_2 ở trạng thái nghỉ ngơi hoàn toàn - 12h sau bữa ăn).

– Trên chuyển hoá glucid; tăng hấp thu glucose ở ruột và tăng phân huỷ glycgen qua AMPv, do đó gây tăng đường huyết.

– Trên chuyển hoá lipid: tăng phân huỷ triglycerid, phospholipid và cholesterol.

– Trên tổng hợp protein: các hormon này gắn vào R trong tế bào tạo phức hợp H-R hoạt hoá các gen mã hoá cho các enzym chuyển hoá năng lượng, tăng tổng hợp protein.

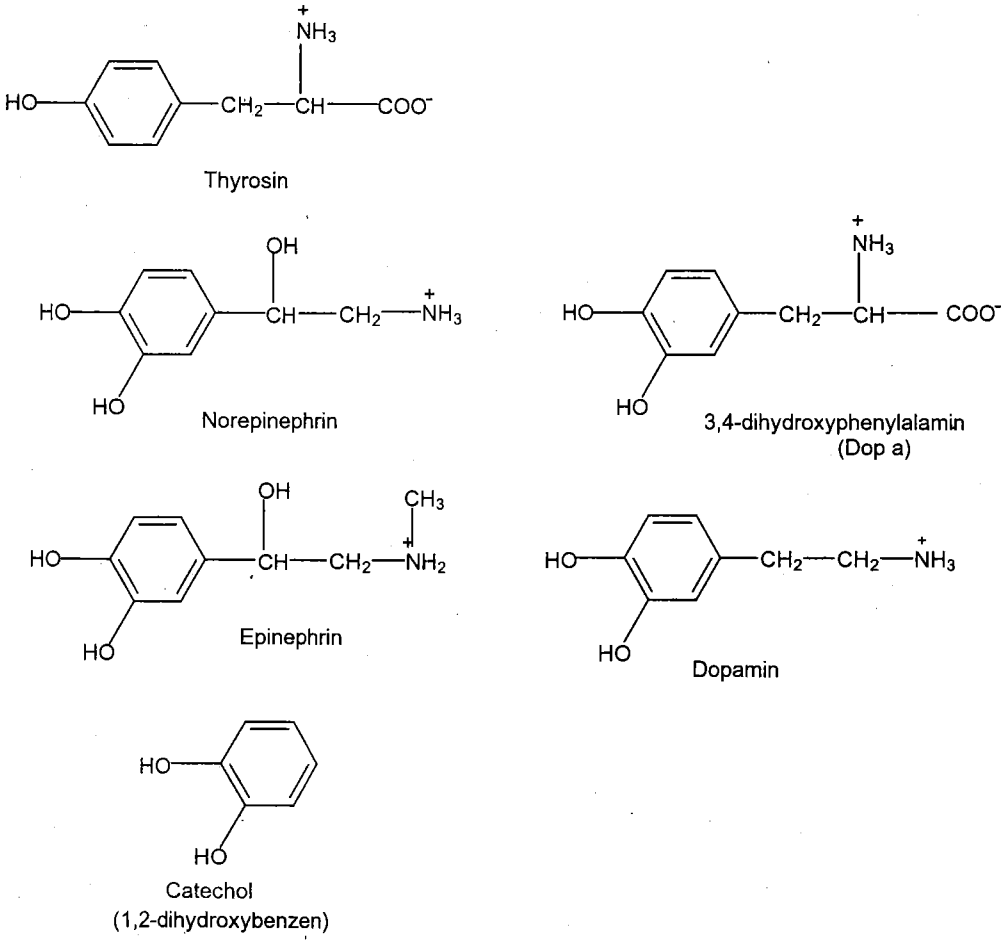
3.2. Hormon tủy thượng thận

Hormon tủy thượng thận bao gồm adrenalin, noradrenalin và dopamin là những hormon hoà tan trong nước, nằm trong nhóm hormon amin dẫn xuất từ catechol, do đó có tên là catecholamin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.2.1. Cấu tạo hoá học

Adrenalin (epinephrin), noradrenalin (norepinephrin) và dopamin được tạo từ thyrosin (hình 6.27).



Hình 6.27. Cấu tạo của catecholamin

3.2.2. Sinh tổng hợp catecholamin (Cat)

Những amin này được tổng hợp trong các tế bào "ưa sắc" của tuỷ thượng thận và một số tổ chức khác (tim, gan, thận, não và các tổ chức thần kinh...). Hormon chính của tuỷ thượng thận là adrenalin.

Quá trình sinh tổng hợp adrenalin từ thyrosin gồm 4 giai đoạn (hình 6.28):

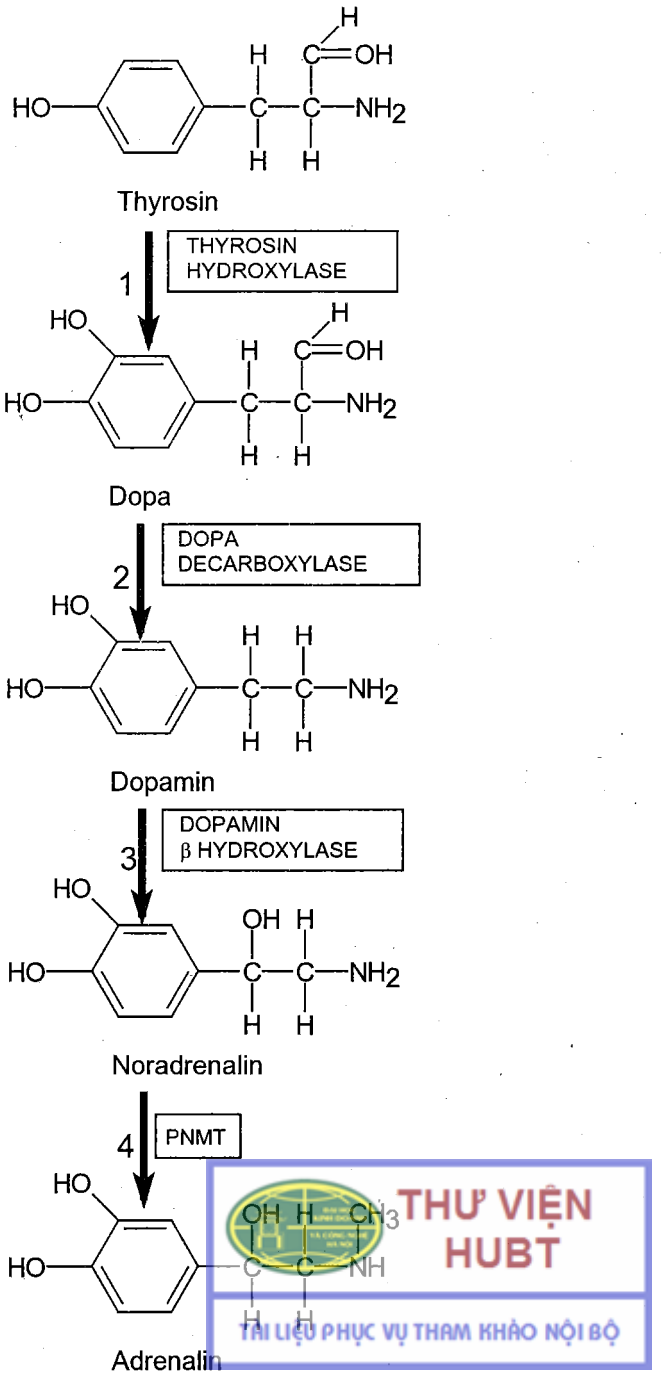
– Hydroxyl hoá nhân thơm, tạo DOPA nhờ thyrosin hydroxylase có trong tuỷ thượng thận và não. L-DOPA là thuốc dùng trong điều trị bệnh Parkinson vì đi qua được hàng rào máu não một cách dễ dạng trong khi Cat không thể qua được.

– Khử carboxyl của DOPA thành dopamin nhờ DOPA-decarboxylase (có coenzym: pyridoxalphosphat). Các chất tương tự L-DOPA (α-metyl dopa) là những chất ức chế cạnh tranh phản ứng này. Cùng với một số chất khác (3-hydroxy thyramin, metythyrosin, metaraminol) những chất này được sử dụng trong điều trị cao huyết áp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Hydroxyl hoá mạch nhánh thành noradrenalin nhờ dopamin - β - hydroxylase, vitamin C, Cu^{2+} và fumarat. Phản ứng này xảy ra ở tuỷ thượng thận và tận cùng dây thần kinh, sau đó enzym lại có thể trở về tổ chức thần kinh nói trên.

– N-metyl hoá thành adrenalin nhờ phenyletanolamin-N-metyl transferase (PNMT). Phản ứng này xảy ra ở tuỷ thượng thận. Chất cho nhóm metyl là S - denosylmethionin.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

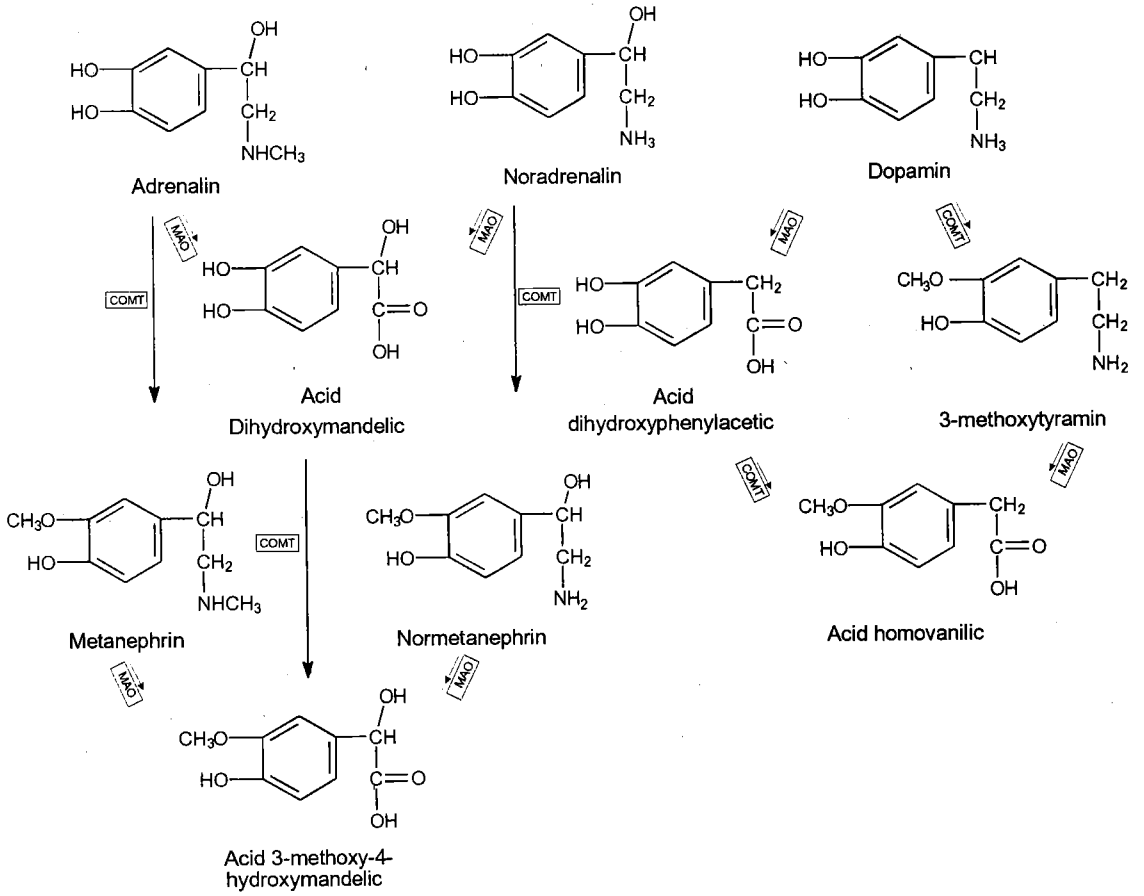
Hình 6.28. Sinh tổng hợp catecholamin

3.2.3. *Thoái hoá catecholamin*

Catecholamin được chuyển hoá nhanh ở gan nhờ có 2 enzym đặc hiệu (hình 6.29):

– Monoamino oxydase (MAO) xúc tác phản ứng khử amin oxy hoá Cat tạo các aldehyd tương đối rồi chuyển thành acid.

– Catecho ortho metyl transferase (COMT) xúc tác phản ứng vận chuyển nhóm $-CH_3$ từ S-adenosin methionin tới nhân phenol của Cat.



Hình 6.29. Chuyển hoá của catecholamin

Các sản phẩm chuyển hoá (O-methy hoá và khử amin) tạo ra đều là những chất không hoạt động: acid homovanilic, metanephrin và normetanephrin.

Các metanephrin là những dẫn xuất metoxy của adrenalin và noradrenalin, còn sản phẩm O-metyl khử amin của adrenalin và noradrenalin là acid 3-metoxy-4hydroxy mandelic (còn gọi là acid vanilyl mandelic - VMA). Những chất này được bài xuất ra nước tiểu dưới dạng liên hợp với acid glucuronic hay sulfuric. Xét nghiệm các chất này trong nước tiểu cùng với Cat trong máu và nước tiểu có giá trị chẩn đoán chính xác bệnh u tuỷ thượng thận (phéochromocytom).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Monoamino oxydase (MAO) là một oxydoreductase có trong nhiều tổ chức nhưng có hàm lượng cao hơn ở gan, dạ dày, thận và ruột. Các chất ức chế MAO được sử dụng trong điều trị cao huyết áp và trầm cảm.

3.2.4. Tác dụng của catecholamin (bảng 6.13)

– Adrenalin và noradrenalin gây tăng nhịp tim và cường độ đẩy máu của tim, tăng huyết áp động mạch, do đó tăng luồng O_2 và nguồn nhiên liệu đến các tổ chức, giãn đường hô hấp làm cho dễ thở (trong trường hợp hen).

– Trên chuyển hoá, adrenalin có tác dụng chủ yếu ở cơ, tổ chức mỡ và gan:

+ Hoạt hoá glycogen phosphorylase và gây bất hoạt glycogen synthetase nhờ AMPv, do đó kích thích biến đổi glycogen ở gan thành glucose vào máu làm nhiên liệu cho hoạt động của cơ trong điều kiện yếm khí.

+ Kích thích cả sự thoái hoá glycogen yếm khí ở cơ vân thành lactat, do đó kích thích tạo ATP bằng con đường Đường phân (do tăng nồng độ fructose 2,6-diphosphat là chất hoạt hoá allosteric của phosphofructokinase-1 trong con đường Đường phân).

+ Kích thích sự huy động lipid ở tổ chức mỡ bằng cách hoạt hoá triacylglycerol lipase nhờ AMPv.

+ Kích thích bài tiết glucagon và ức chế bài tiết insulin, do đó tăng cường huy động chất đốt và hạn chế quá trình tạo chất dự trữ.

***Bảng 6. 13.** Tác dụng của adrenalin*

Tác dụng sinh lý	
↑ Nhịp tim	Tăng cung cấp O_2 cho tổ chức (cơ)
↑ Huyết áp	
↑ Giãn đường hô hấp	
Tác dụng chuyển hoá	
↑ Thoái hoá glycogen (cơ, gan)	↑ Tăng tạo glucose để đốt cháy
↓ Tổng hợp glycogen (cơ, gan)	
↑ Tân tạo glycose (gan)	
↑Đường phân (cơ)	Tăng tạo ATP ở cơ
↑Huy động acid béo (tổ chức mỡ)	Tăng thoái hoá acid béo
↑Bài tiết glucagon	Tăng tác dụng chuyển hoá của epinephrin
↓Bài tiết insulin	

THƯ VIỆN HUBT

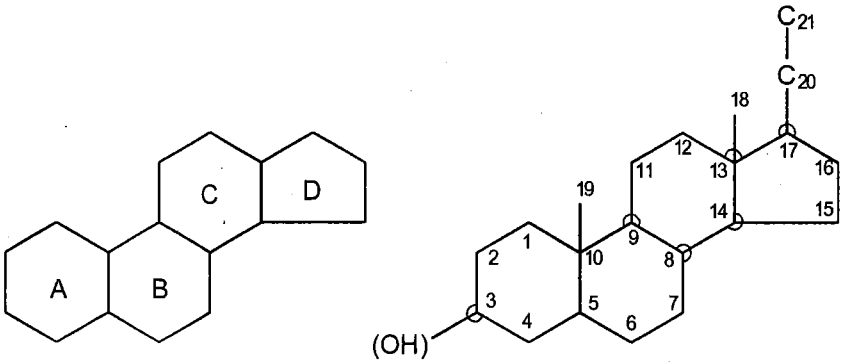
4. Hormon steroid

Các hormon steroid quan trọng là hormon vỏ thượng thận, hormon sinh dục (androgen, estrogen) và hormon dẫn xuất từ vitamin D.

4.1. Đặc điểm chung của hormon steroid

Hormon steroid có những đặc điểm chung sau:

– Có khung cấu trúc cơ bản: cyclopentanoperhydrophenantren gồm 17 nguyên tử C và 4 nhân (hình 6.30).



Nhân Cyclopentano-perhydrophenantren

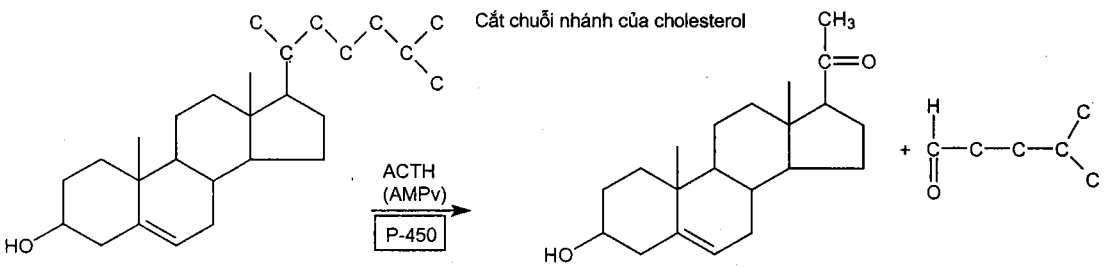
Cách đánh số carbon Những carbon bất đối được khoanh tròn

Hình 6.30. Cấu trúc khung cơ bản của hormon steroid

– Tan trong lipid và vận chuyển dễ dàng qua màng tế bào vào bào tương.

– Được tổng hợp từ cholesterol phần lớn qua pregnenolon (hình 6.31)

– Gắn với các receptor đặc hiệu nằm trong tế bào và hoạt hoá biểu thị một số gen (xem cách hoạt động của hormon) (trừ hormon dẫn xuất từ vitamin D).



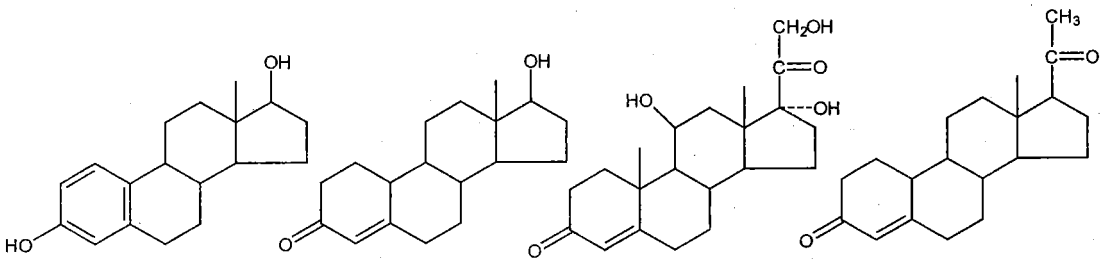
Cholesterol Desmolase Pregnenolon + isocaproaldehyd

Hình 6.31. Các tiền chất tổng hợp hormon steroid

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Dựa vào cấu tạo của nhóm thể có thể chia phần lớn hormon steroid thành 3 nhóm (hình 6.31):

- Nhóm estran (có 18C)
- Nhóm androstan (có 19C)
- Nhóm pregnan (có 21C)



17β – Estradiol | Testosteron | Cortisol | Progesteron

Nhóm estran (C18) | **Nhóm androstan (C19)** | **Nhóm pregnan (C21)**

Hình 6.32. Ba nhóm cấu tạo của hormon steroid

* Nhắc lại danh pháp của steroid (bảng 6.14)

Bảng 6.14. *Tóm tắt danh pháp của steroid*

Tiền tố	Hậu tố	Ý nghĩa hoá học
Hydroxy-	-ol	Alcol
Dihydroxy-	-diol	
oxo-	-on	Ceton (dion = 2 nhóm ceto)
cis-		2 nhóm cùng phía (cùng mặt phẳng với C19)
trans-		2 nhóm đối nhau (2 mặt phẳng)
α-		- Gốc trans so với C19 (ký hiệu...)
β-		- Gốc cis so với C19 (ký hiệu -)
Deoxy-		Mất một nhóm hydroxyl
iso- (epi-)		Đồng phân cis hay trans của C-C, C-OH hay C-H
Dehydro		Mất 2 nguyên tử hydro tạo liên kết đôi
Dihydro		Cộng 2H vào liên kết đôi
Allo		Cấu hình trans (ngược với cis của nhóm A và B)

Bảng 6.15. *Tên thông thường và tên hoá học của một số steroid*

Tên thông thường	Tên hoá học
(1)	(2)
Aldosteron	11β, 21-dihydroxy-3, 20-dioxo-4-pregnen-18-al
Androstenedion	4-androsten-3,17-dion
Cholesterol	5- cholesten-3 β-ol
Corticosteron	11β, 21-dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion
Cortisol	11β,17α, 21-trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion
Cortison	17α, 21-dihydroxy-4-pregnen-3,11,20-trion
Dehydroepiandrosteron (DHEA)	3β-hydroxy-5α-androsten-17-on

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(1)	(2)
11-desoxycorticosteron (DOC)	21-hydroxy-4-pregnen-3,20-dion
11-desoxycorticol (compose S)	17,21-dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion
Dexamethason	9α-fluoro-16α-metyl-11β, 17α, 21 -trihydroxy pregna -1,4-dien-3,20-dion
Estradiol	1,3,5 (10)- Estratrien-3,17 β-dion
Estriol	1,3,5 (10)- estratrien-3,16α,17β-trion
Etiocholanolon	3α-hydroxy-5 β-androstan-17-on
9α-fluorocortisol	9α-fluoro-11β,17α,21-trihydroxypregna-4-en, 3,20-dion
Prednisolon	11β,17α,21-trihydroxy pregna-1,4-dien-3,11,20-dion
Pregnandiol	5β-pregnan-3,20α-diol
Pregnantriol	5β-pregnan-3,17α,20α-triol
Pregnenolon	3β-hydroxy-5-pregnen-20-on
Progesteron	4-pregnen-3.20-dion
Testosteron	17β-hydroxy-4-androsten-3-on
Triamcinolon	9α-fluoro-11β, 16α, 17α,21-trihydroxy pregna-1,4-dien - 3,.20-dion

4.2. Hormon vỏ thượng thận (corticosteroid)

4.2.1. Cấu tạo hoá học và phân loại

Người ta đã chiết và kết tinh được trên 50 corticosteroid nhưng chỉ một số ít có hoạt tính hormon rõ rệt. Có thể chia những hormon này thành 3 nhóm dựa vào tác dụng chính của mỗi nhóm:

– Glucocorticoid (hormon chuyển hoá đường): có 21C và oxy ở C11 (nên còn gọi là 11-oxysteroid). Tác dụng quan trọng nhất của nhóm này là kích thích tân tạo đường. Thuộc nhóm này có cortisol, cortison (11 dehydroxycortisol) và corticosteron.

– Mineralocorticoid (hormon chuyển hoá muối nước) cũng có 21C. Chất điển hình là aldosteron và 11-deoxycorticosteron (DOC), có tác dụng điều hoà chất điện giải trong máu.

– Androgen vỏ thượng thận: có 19C gồm Δ^4 androsten 3,17 dion, androstentrion (thêm on ở C11) và 11β-hydroxy androstendion.

4.2.2. Sinh tổng hợp

Các corticosteroid được tổng hợp từ cholesterol qua Δ^5 pregnenolon (hình 6.33) nhờ các enzym:

– Desmolase (cắt nhánh cholesterol).

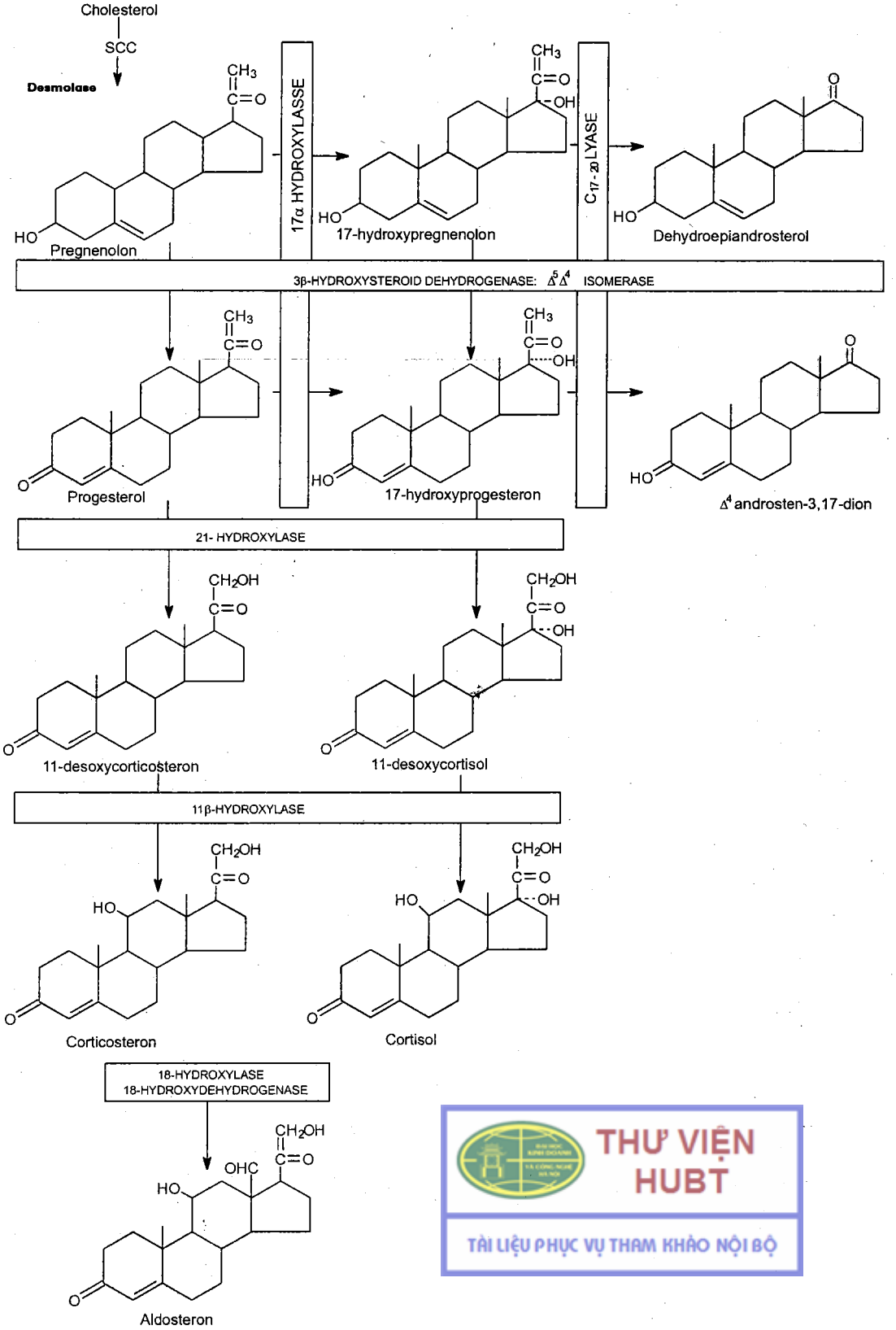
– Hydroxylase 17α, 21, 11β, 18 (gắn OH).

– Dehydroxygenase (3β-hydoxy → 3 keto).

– Δ^5 Δ^4 isomerase (chuyển liên kết đôi).

– Lyase ($C_{17\text{-}20}$ cắt nhánh).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



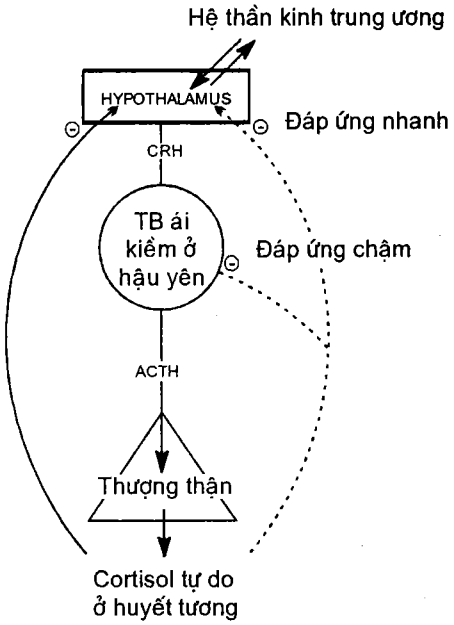
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.33. Sinh tổng hợp corticosteroid

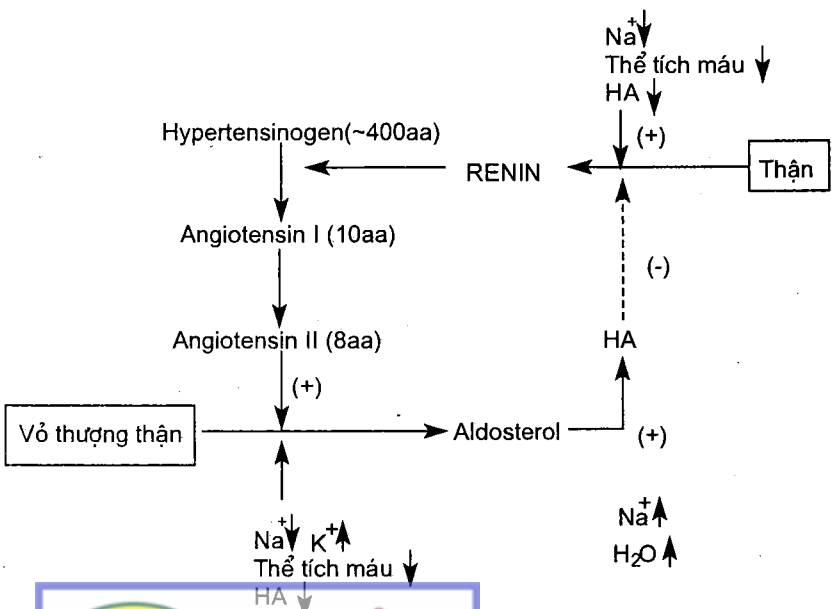
Điều hoà tổng hợp corticosteroid:

– Sự tổng hợp và bài tiết các glucocorticoid được điều hoà theo cơ chế điều hoà ngược (FB) (CRF - ACTH - cortisol) (hình 6.34). Nồng độ cortisol trong máu khoảng 5-25 µg/dl (0,05-0,69 µmol/l (95% kết hợp với globulin huyết tương tạo thành dạng dự trữ không hoạt động). Hàng ngày cơ thể bài tiết 20mg cortisol/24 giờ.

– Sự bài tiết của aldosteron không chịu ảnh hưởng bởi ACTH mà phụ thuộc vào nồng độ ion Na^+ và K^+ trong máu, thể tích dịch ngoài tế bào và hệ thống renin - angiotensin (hình 6.35)



Hình 6.34. Điều hoà sinh tổng hợp cortisol



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.35. Điều hoà bài tiết aldosteron bởi hệ thống renin - angiotensin

4.2.3. Thoái hoá

Các corticosteroid chịu nhiều quá trình biến đổi hoá học làm mất hoạt tính sinh học của hormon và làm cho chúng dễ tan trong nước hơn, do đó được bài tiết theo đường nước tiểu hay đường mật dưới dạng liên hợp.

– Cơ quan chính gây thoái hoá corticosteroid là gan. Có thể chia các phản ứng biến đổi thàn 5 loại (hình 6.36):

+ Phản ứng khử (khử liên kết đôi, khử CO → COH).

+ Phản ứng oxy hoá (11β-OH và 21 - OH→C=0).

+ Phản ứng hydroxyl hoá (6β).

+ Phản ứng cắt chuỗi nhánh (→ 17 CS).

+ Phản ứng este hoá (tạo glucuro liên hợp).

+ Một số sản phẩm thoái hoá:

+ Của cortisol và cortison: dihydrocortisol (on), tetra và hexa hydrocortisol (on), một phần nhỏ 17 ceto steroid (17CS), 17β-OH-etiocholanolon và 11 ceto-etiocholanolon.

+ Của corticosteron và aldosteron: là dạng tự do hay liên hợp glucuronic (vì không có nhóm OH ở C17).

+ Của androgen: 17CS dạng liên hợp. Ở đàn ông 17CS nước tiểu có nguồn gốc vỏ thượng thận chiếm 2/3 tổng số 17CS trung tính. Ở phụ nữ, hầu hết 17CS nước tiểu có nguồn gốc vỏ thượng thận.

4.2.4. Tác dụng

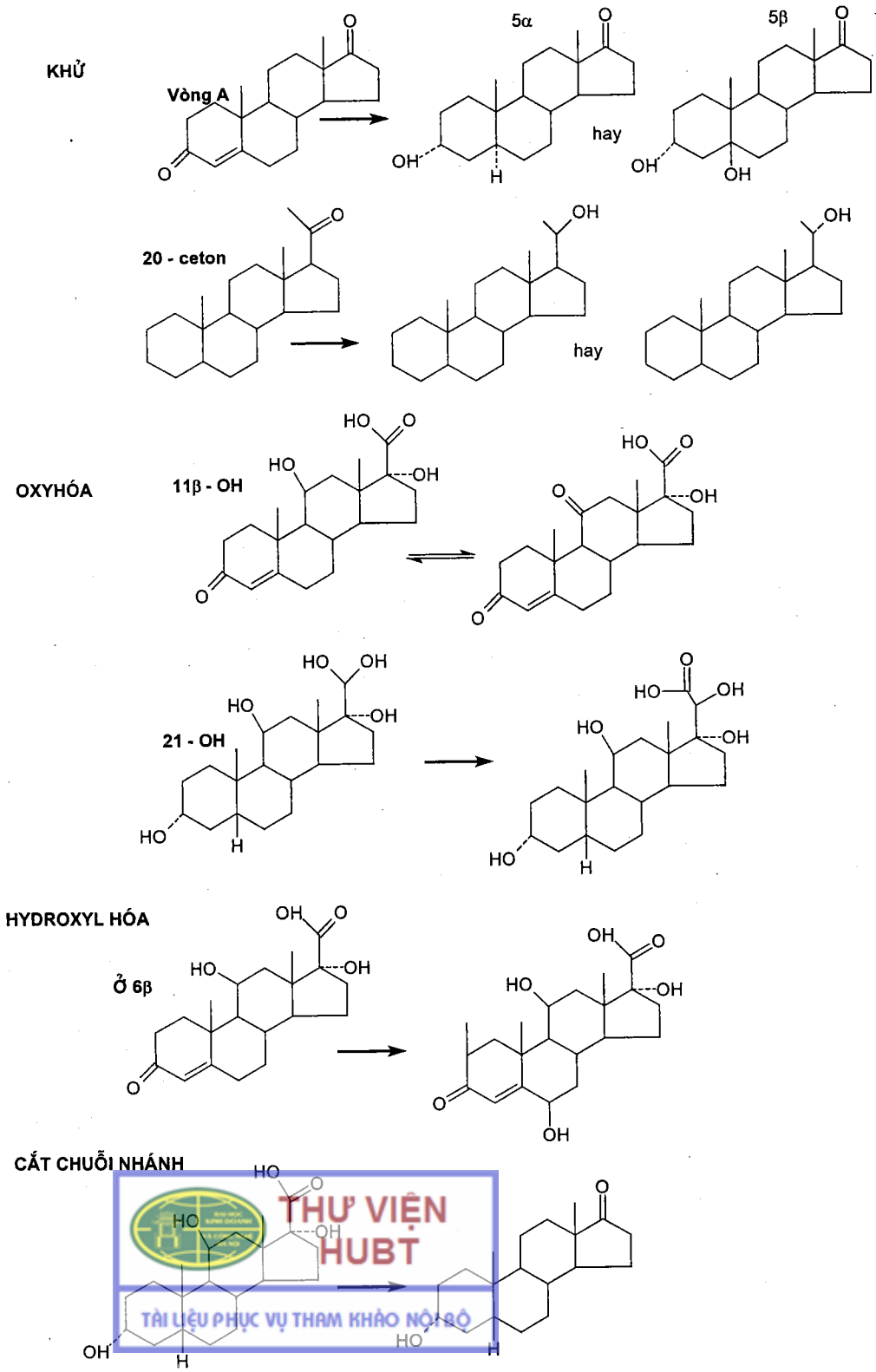
Từng hormon riêng biệt của mỗi nhóm thường có tác dụng đặc trưng của nhóm; nhưng đôi khi cũng có tác dụng của nhóm khác.

– Glucocorticoid: có tác dụng chủ yếu trên chuyển hoá glucid và protein (hình 6.37).

+ Trên chuyển hoá glucid: cortisol kích thích sự tân tạo đường làm tăng dự trữ glucogen ở gan. Mặt khác cortisol gây tăng hoạt độ glucose-6-phosphatase; do đó tăng cường giải phóng glucose ở gan và máu gây tăng đường huyết.

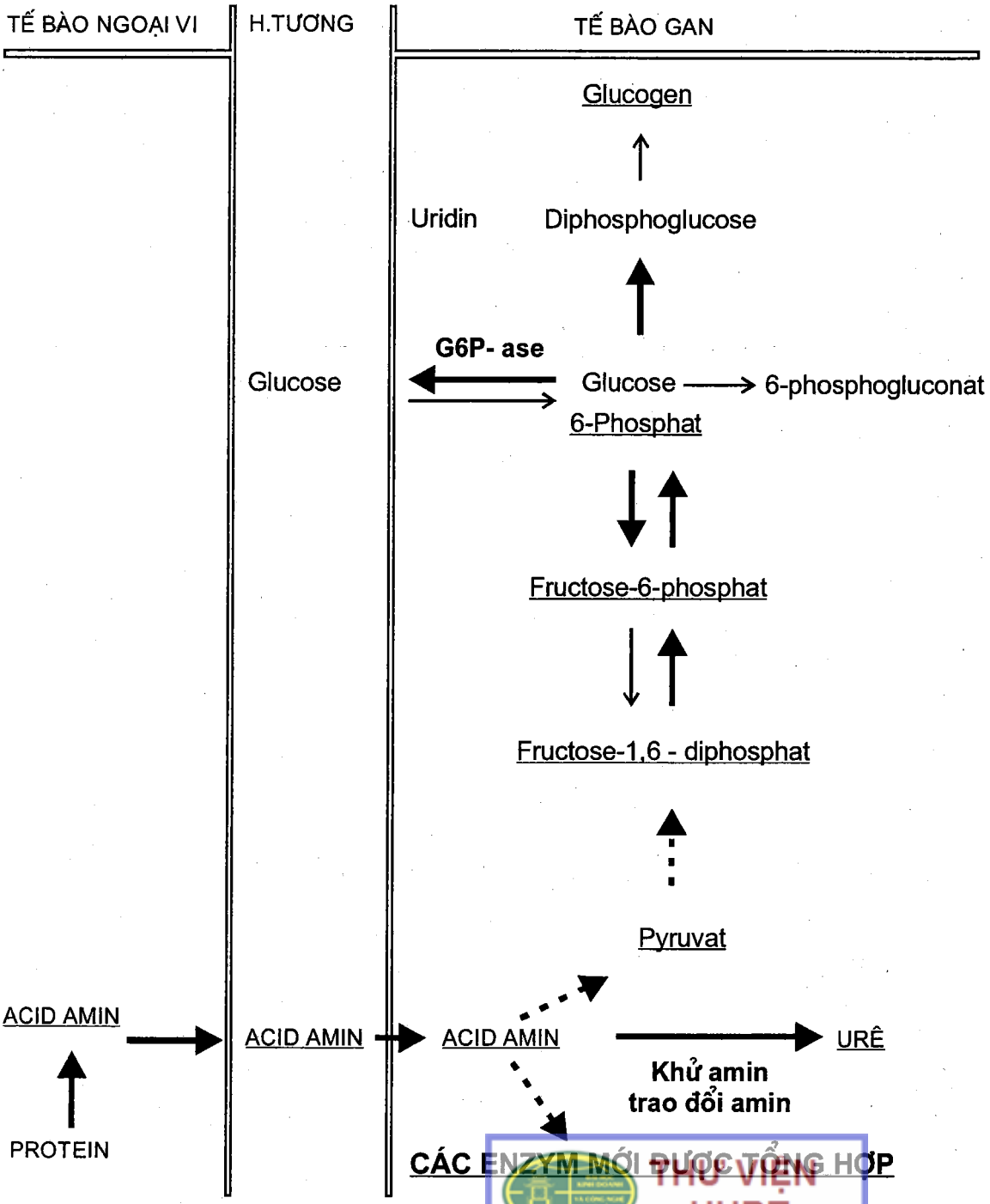
+ Trên chuyển hoá protein: cortisol gây tăng thoái hoá protein và acid amin đặc biệt là ở cơ. Tại gan nó gây tăng thu nhận acid amin, kích thích cảm ứng tổng hợp enzym xúc tác quá trình tân tạo đường, enzym chuyển hoá aa, enzym của chu trình urê... (do tác dụng trên quá trình sao chép tổng hợp ARNm).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.36. Các loại phản ứng chuyển hoá corticosteroid



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 6.37. Ảnh hưởng của glucocorticoid (mũi tên đậm) trên chuyển hoá glucid và protein

Ngoài ra corticoid còn có một số tác dụng sinh lý quan trọng: bảo vệ cơ thể chống lại stress, chống dị ứng, làm giảm phản ứng viêm. Cortisol được sử dụng để điều trị viêm khớp, các bệnh collagenose... Trên thực tế người ta đã tổng hợp được một số dẫn xuất corticoid có hoạt lực chống viêm mạnh gấp ~ 30lần cortisol (dexamethason, betamethasol), gấp 10 lần fluorocortison, gấp 6lần metyl prednisolon, gấp 5 lần triamcinolon, gấp 4 lần prednison.

– Mineralocorticoid: aldosterol có tác dụng mạnh nhất trên chuyển hoá muối nước, làm tăng tái hấp thu Na^+ ở ống lượn xa, tăng bài tiết K^+, do đó giữa nước trong cơ thể.

Ngoài ra aldosteron còn có tác dụng làm tăng dự trữ glycogen ở gan, giảm bạch cầu ưa acid trong máu và tăng khả năng chống đỡ với các stress đối với cơ thể.

– Các androgen vỏ thượng thận: có tác dụng giống hormon sinh dục nam nhưng yếu hơn. Chúng cũng có tác dụng làm tăng thoái hoá protein gây ứ đọng mỡ, Na^+, Cl^- và phospho.

Ở nữ giới nếu có nhiều hormon này sẽ dẫn tới hiện tượng nam hoá.

4.3. Hormon sinh dục

Hormon sinh dục do tinh hoàn và buồng trứng tiết ra, có tác dụng trên sự phát triển của các cơ quan sinh dục nam và nữ, kiểm soát đặc tính sinh dục phụ, chu kỳ kinh. Các hormon này có tác dụng trên chuyển hoá protein, kích thích ARN polymerase ở nhân tế bào. Chúng chịu sự điều hoà của các kích dục tố tuyến yên và yếu tố giải phóng vùng dưới đồi.

4.3.1. Hormon sinh dục nam

– Cấu tạo hoá học và sinh tổng hợp:

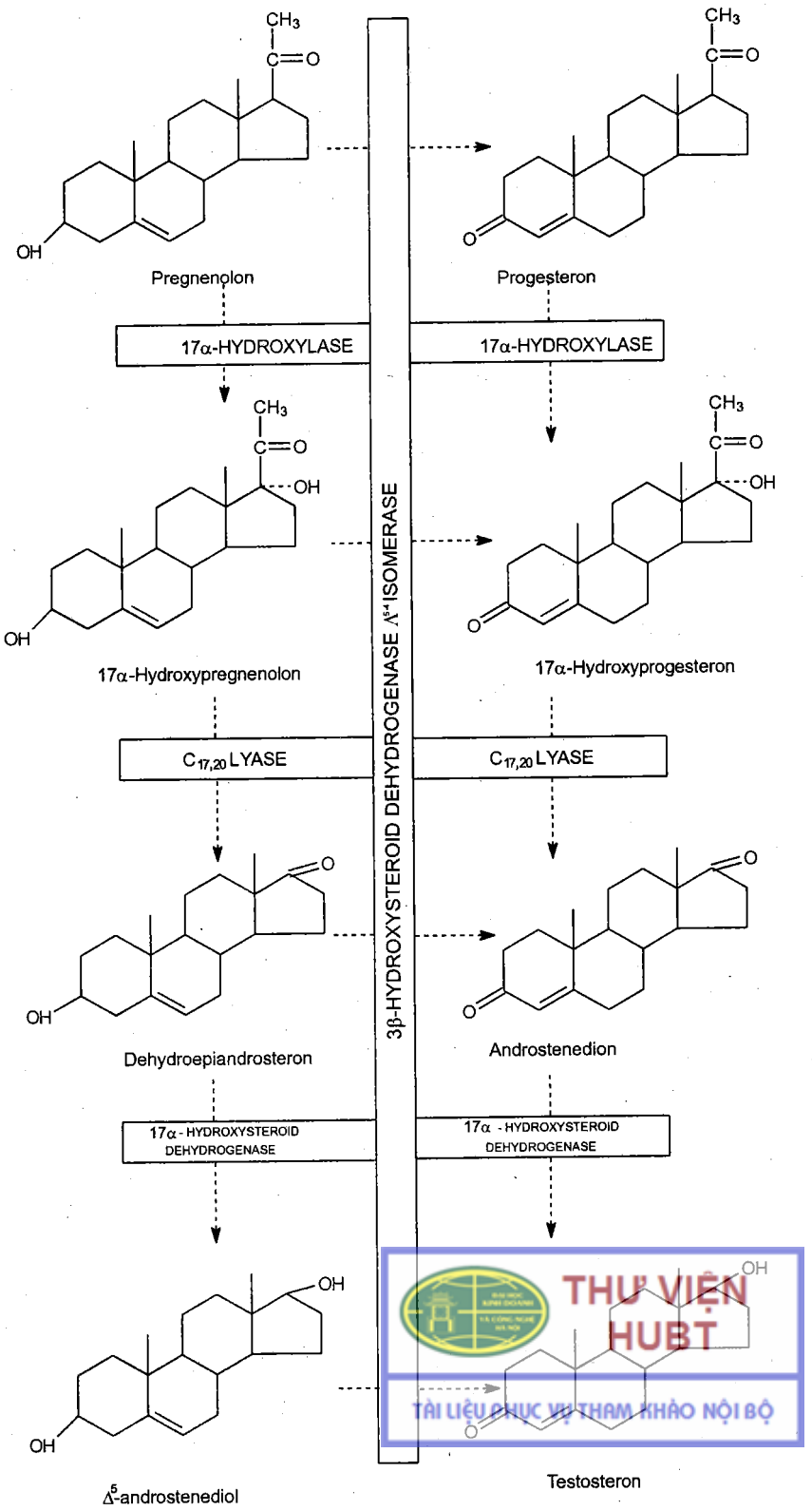
+ Hormon chính của tinh hoàn do tế bào Leydig tiết ra là testosteron (dẫn xuất từ androstan C19). Tiền thân trung gian để tổng hợp là cholesterol. Phản ứng biến đổi cholesterol thành gregnenolon ở các tuyến sinh dục được kích thích bởi LH của tiền yên (ở vỏ thượng thận là ACTH).

Sự biến đổi của pregnenolon thành testosteron (hình 6.38) cần có 5 enzym:

- 3β hydroxy steroid dehydrogenase (3β-OH SD).
- $\Delta^{5,4}$ isomerase.
- 17α hydroxylase.
- $C_{17,20}$ lyase.
- 17β hydroxy steroid dehydrogenase (17β-OH SD).

Con đường phía bên trái được gọi là con đường dehydro epiandrosteron (= con đường Δ^5), con đường bên phải là con đường progesteron (Δ^4).

THƯ VIỆN HUBT



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

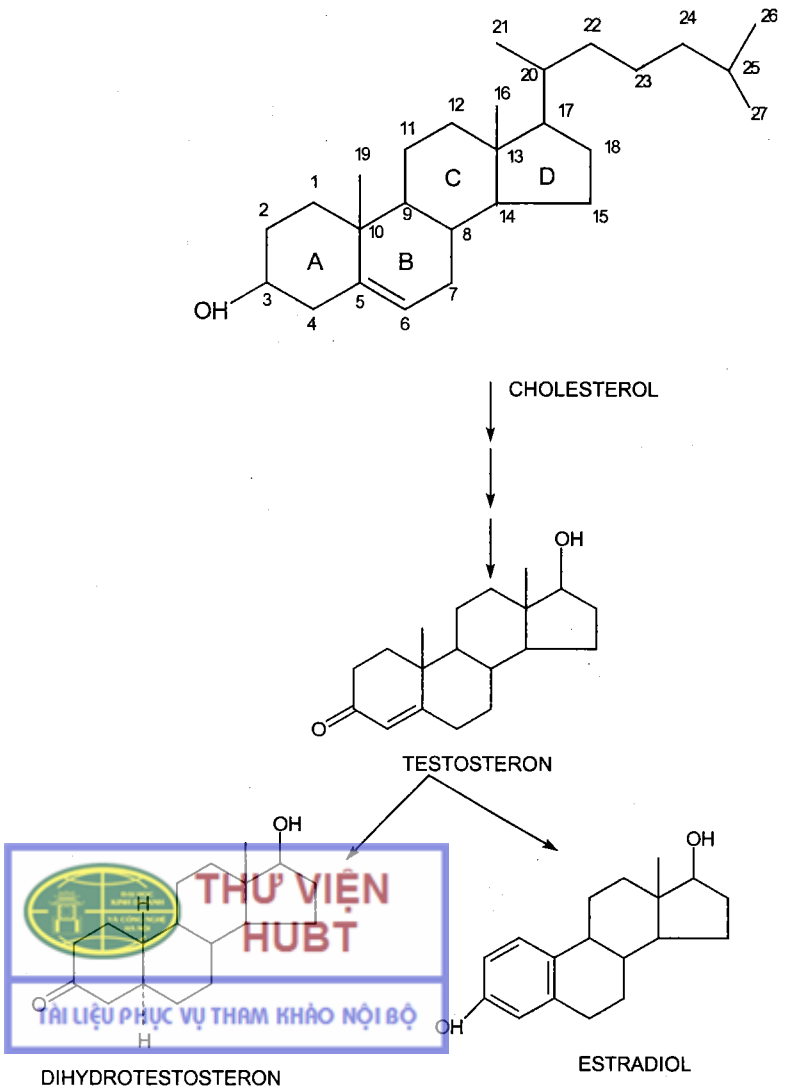
Hình 6.38. Sinh tổng hợp testosteron

Buồng trứng và rau thai cũng tổng hợp được testosteron nhưng nó là tiền thân của sự tổng hợp estrogen.

Ở nam giới bình thường tiết khoảng 2-8,5ng/ml testosteron/24h (ở nữ: < 0,10ng/24h). Khoảng 2/3 testosteron lưu thông trong máu được gắn với protein.

+ Testosteron được coi là prohormon vì nó có thể biến đổi tạo thành một số chất có hoạt tính hormon (hình 6.39):

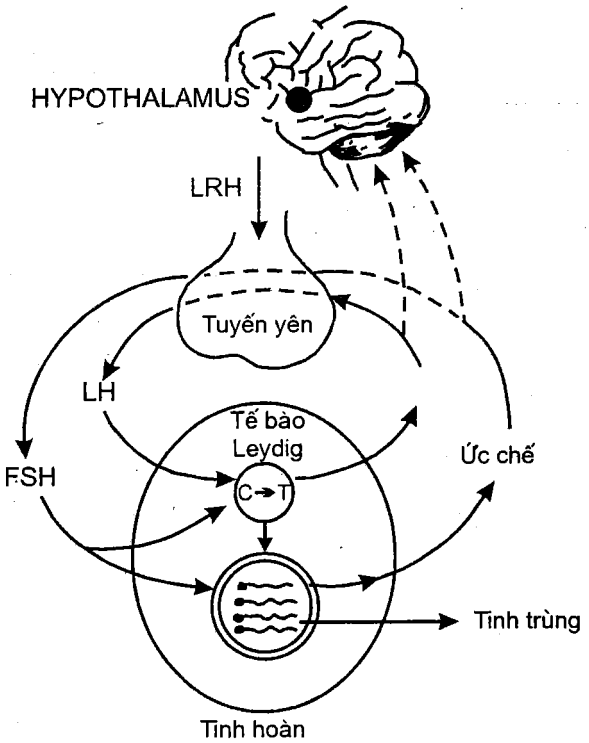
- Dihydrotestosteron (DHT) có tác dụng mạnh hơn testosteron nhiều. Phản ứng được xúc tác bởi 5α reductase, đòi hỏi NADPH.
- Estradiol (bằng phản ứng thơm hoá vòng A) là chất có hoạt tính androgen mạnh.
- Androstandiol (bằng phản ứng khử liên kết đôi) cũng có tác dụng androgen mạnh.



Hình 6.39. Hai chất chuyển hoá của testosteron có hoạt tính androgen mạnh

– Điều hoà sản xuất testosteron:

LH và FSH (hình 6.40) kiểm soát hoạt động của tinh hoàn: kích thích tế bào Leydig sản xuất testosteron (T) bằng cách gắn vào receptor ở màng, hoạt hoá adenylatcyclase gây tăng AMPv. T sản xuất ra được vận chuyển với nồng độ cao tới ống dẫn tinh kích thích sinh tinh trùng. Hàm lượng T lớn ở cả tế bào Leydig và Sertoli sẽ ức chế ngược tiền yên và vùng dưới đồi sản xuất kích tố và yếu tố giải phóng tương ứng.



Hình 6.40. Cơ thể điều hoà sản xuất testosteron

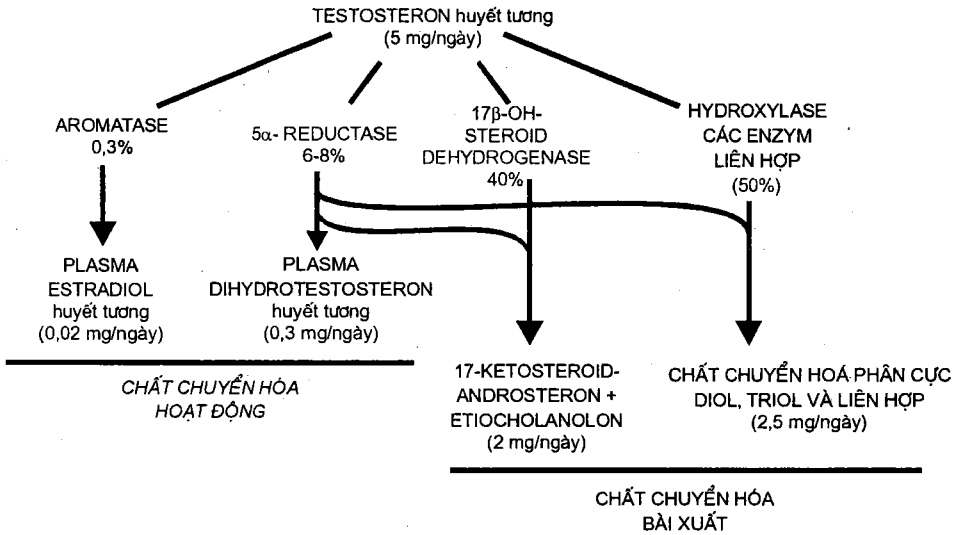
– Chuyển hoá và bài xuất:

Testosteron trong huyết tương được thoái hoá chủ yếu ở gan theo 2 con đường (hình 6.41):

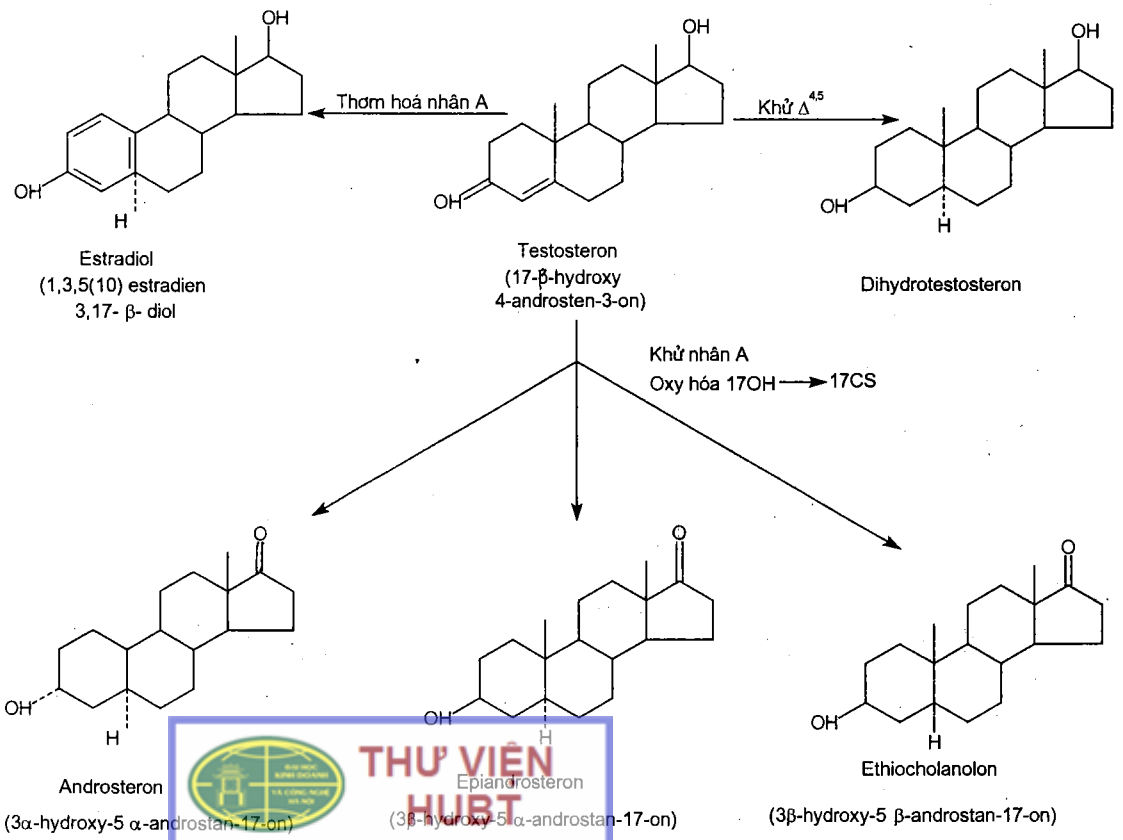
+ Tạo chất chuyển hoá hoạt động: estradiol, DHT.

+ Tạo chất chuyển hoá không hoạt động bài xuất ra nước tiểu dưới dạng 17 cetosteroid (17CS): androsteron (5α, 3α), epiandrosteron (5α, 3β), eticholanolon (5β, 3α) và các chất chuyển hoá phân cực (diol, triol và liên hợp). DHT cũng có thể biến hoá tiếp tục thành các chất chuyển hoá bài xuất.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.41. Chuyển hoá của testosteron



THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ở nam giới hàm lượng dihydroxy testosteron chiếm khoảng 1/10 hàm lượng testosteron và cơ thể sản xuất ra hàng ngày khoảng 400µg DHT và 2-8,5ng/ml T trong máu.

4.3.2. Hormon sinh dục nữ

Buồng trứng sản xuất 2 nhóm hormon sinh dục nữ: estrogen và progestin, trong đó những hormon tự nhiên hoạt động nhất là 17β-estradiol (E_2) và progesteron.

– Thời kỳ phát triển của nang trứng gồm 2 giai đoạn:

+ Giai đoạn nang tố: buồng trứng chỉ tiết ra estrogen.

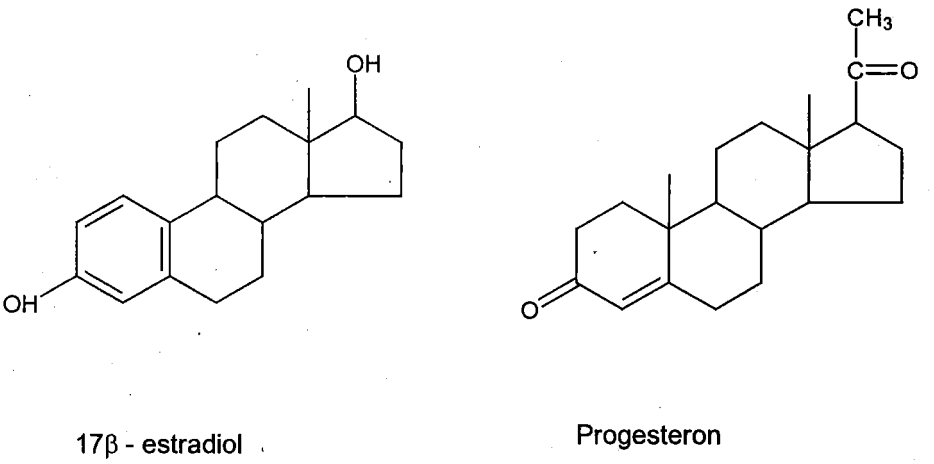
+ Giai đoạn hoàng thể: buồng trứng tiết cả 2 loại estrogen và progesteron.

– Cấu tạo hoá học và sinh tổng hợp (hình 6.42 và hình 6.43):

+ Estrogen: có cấu tạo estran (C18) đặc trưng bởi nhân thơm A, còn được gọi là các phenosteroid. Chúng tan trong môi trường kiềm, do đó dễ tách ra khỏi các steroid khác. Thuộc nhóm này có 3 chất:

- Estron (E_1): 1,3,5 (10) estradien-3.ol-17-on
- 17β estradiol (E_2): 1,3,5 (10) estradien-3, 17β-diol
- Estriol (E_3): 1,3,5 (10) estradien-3,16-17β-triol

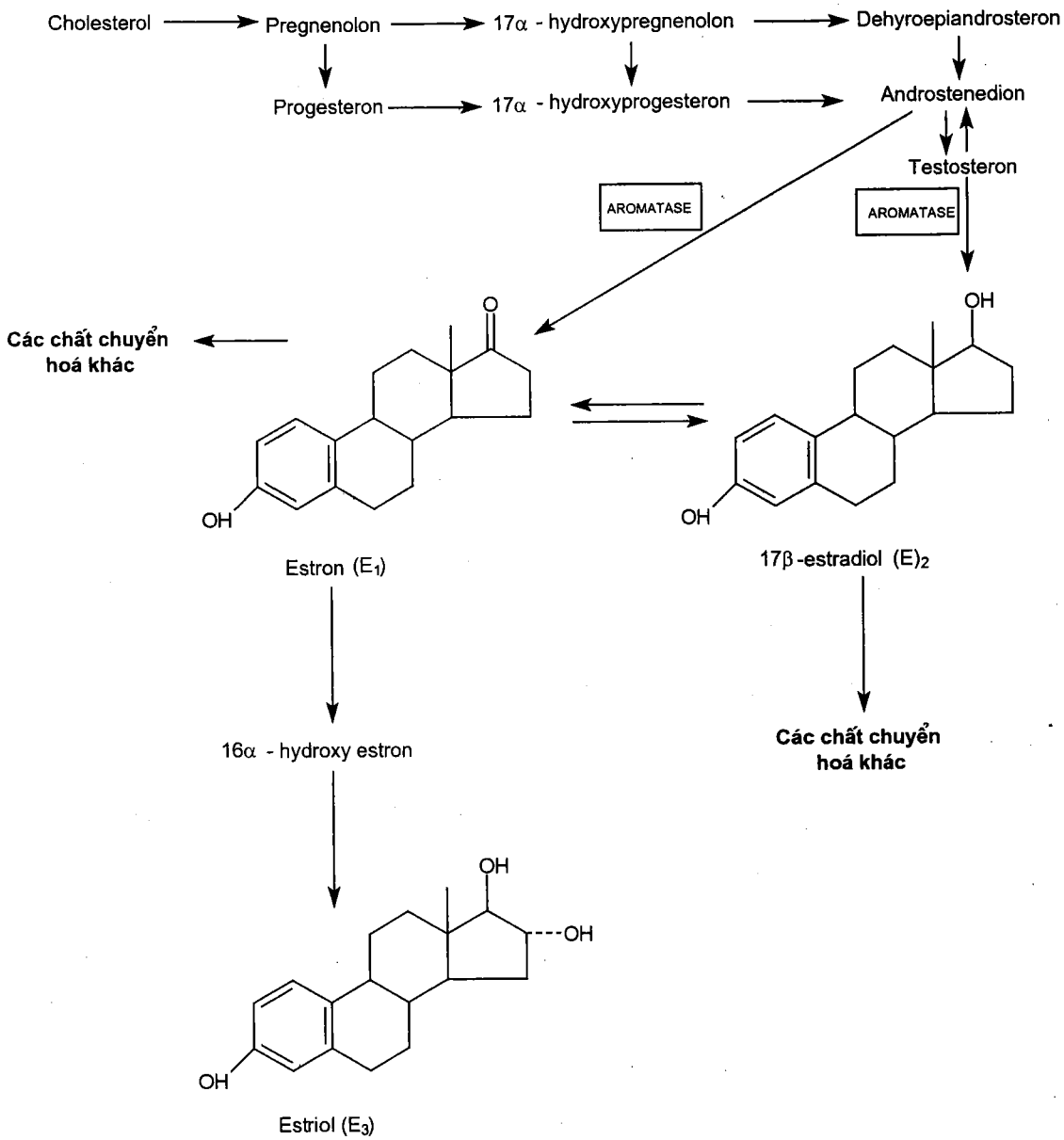
+ Progesteron: có cấu tạo nhân pregnan (C_{21}): Δ^4 pregnen - 3,20 dion.



17β - estradiol Progesteron

Hình 6.42. Hai hormon sinh dục nữ hoạt động nhất trong tự nhiên

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.43. Sinh tổng hợp estrogen

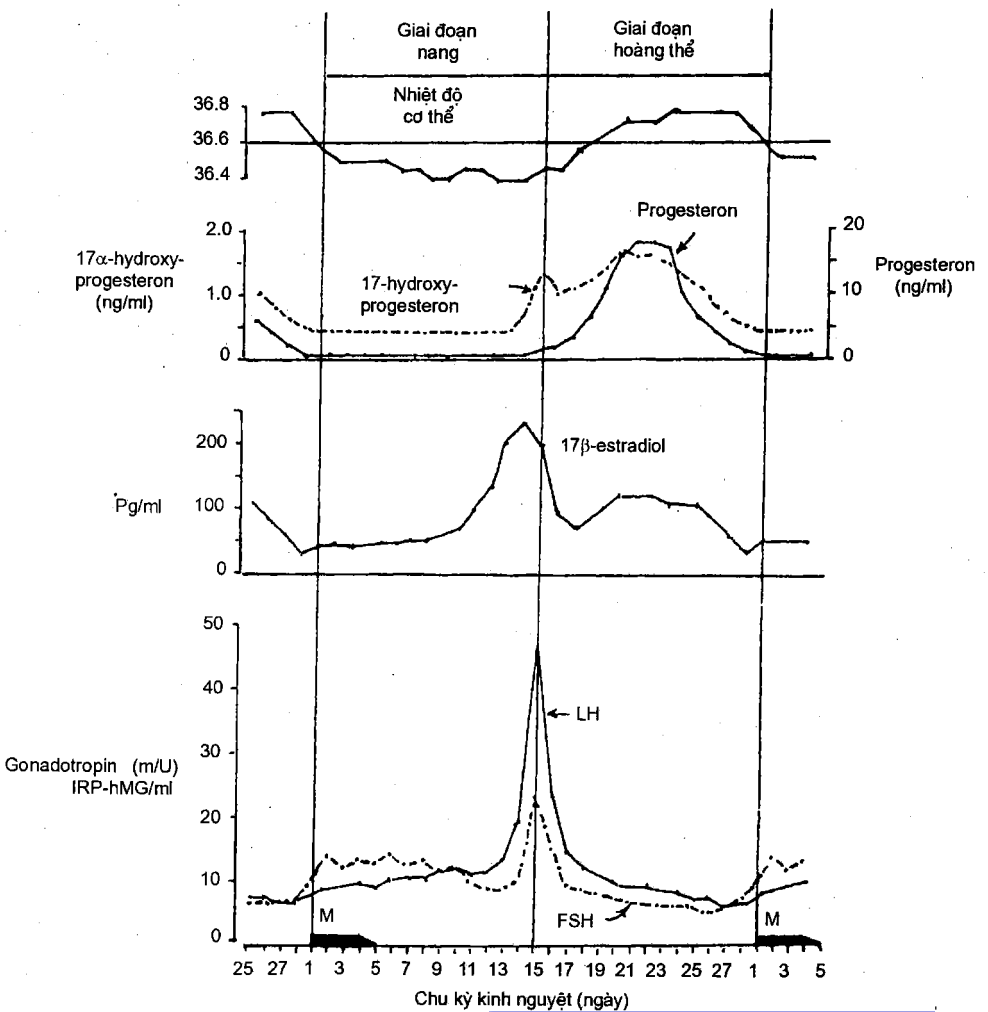
Buồng trứng, tinh hoàn, vỏ thượng thận và rau thai có thể tổng hợp được E_1 và E_2 từ testosteron và androstendion. Giai đoạn từ testosteron gồm 2 quá trình: khử nhóm - CH_3 ở C_{19} (oxy hoá nhờ các enzym dehydrogenase có $NADP^+$ phụ thuộc oxy biến đổi - $CH_3 \rightarrow CHO \rightarrow COOH$, cuối cùng loại C_{19} dưới dạng formaldehyd). Khử hydro (chuyển hoá $_{1,2}$) tạo nhân thơm.

Estradiol được vận chuyển trong máu một phần rất nhỏ dưới dạng tự do, phần lớn gắn với globulin huyết thanh. Quá trình tổng hợp được kích thích bởi FSH, LH của tuyến yên và kích tố rau thai hCG.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Progesteron cũng được tổng hợp ở nhiều tuyến (buồng trứng, tinh hoàn, vỏ thượng thận) song nhiều nhất là ở hoàng thể và rau thai. Trong chu kỳ kinh nguyệt nó được tiết nhiều nhất ở thời kỳ hoàng thể (hình 6.44). Còn trong thời kỳ có thai, progesteron tăng dần do có thêm nguồn gốc rau thai.

Sinh tổng hợp progesteron được kiểm soát bởi các kích tố FSH, LH của tiền yên và các yếu tố giải phóng tương ứng của vùng dưới đồi. Khi có thai progesteron được kích thích bởi LH và hCG của rau thai.



Hình 6.44. Thay đổi về hormon trong chu kỳ sinh lý

(M = có kinh, IRP-hMG = chất chuẩn gonadotropin).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Thoái hoá và bài xuất:

+ Estrogen: gan biến đổi estradiol và estron thành estriol theo con đường trong hình 6.42. Cả 3 chất này đều là cơ chất của những enzym liên hợp ở gan tạo ra các sản phẩm liên hợp glucuronid (95%) hay sulfat (4,5%) dễ tan và không gắn với protein vận chuyển, do đó bài xuất nhanh theo đường mật, phân và nước tiểu.

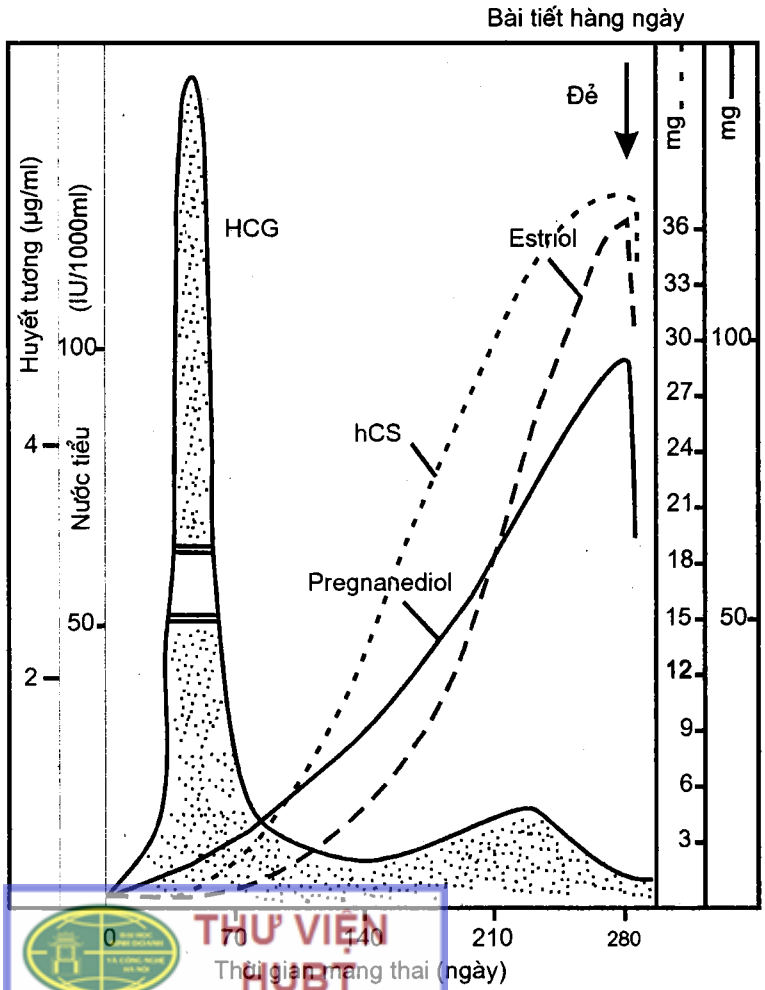
Theo dõi định lượng estrogen trong máu ở phụ nữ bình thường cho thấy:

- Theo chu kỳ kinh nguyệt: nồng độ estrogen thấp nhất vào những ngày trước kinh và giai đoạn nang (9-120pg/ml); trong chu kỳ kinh, đạt đỉnh cao nhất vào trước ngày rụng trứng (48-364gq/ml) và đỉnh thứ 2 ở thời kỳ hoàng thể (15-252pg/ml) (hình 6.44).
- Trong thời gian có thai (hình 6.45) estrogen tăng dần theo tháng thai. Ở những tháng gần đẻ, lượng estrogen phản ánh sự phát triển của thai:

  3 tháng đầu: 110 - 1.350pg/ml.

  3 tháng giữa: 700 - 17.000pg/ml.

  3 tháng cuối: 22.400 - 27.000pg/ml.



Hình 6. 45. Nồng độ hormon trong thời gian có thai bình thường

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Progesteron: cũng bị gan chuyển hoá mạnh thành nhiều chất. Ở người, sản phẩm chuyển hoá chính trong nước tiểu là pregnandiol -20- glucuronat (hình 6.46). Quá trình biến đổi này gồm 3 phản ứng khử nhờ NADH:

- Khử liên kết đôi A_4 tạo pregnandion.
- Khử nhóm CO ở C_3 → αOH tạo pregnanolon.
- Khử nhóm CO ở C_{20} → OH tạo pregnandiol.

Pregnandiol được bài xuất ra nước tiểu dưới dạng glucuro liên hợp. Nó xuất hiện vào ngày thứ 2 hay thứ 3 sau ngày rụng trứng và đạt đỉnh cao nhất vào ngày thứ 23 của chu kỳ kinh (5-10µg/24h). Trong máu progesteron ở giai đoạn nang: 0,1-2,3ng/ml, thời kỳ rụng trứng: 0,2-7,6ng/ml, giai đoạn hoàng thể: 0,1 - 1,8ng/ml.

Trong thời kỳ có thai progesteron cần cho sự phát triển của rau, giữ yên thai và phát triển nang của tuyến vú:

3 tháng đầu: 9 - 38ng/ml.

3 tháng sau: 19 - 130ng/ml.

3 tháng cuối: 52- 244ng/ml.

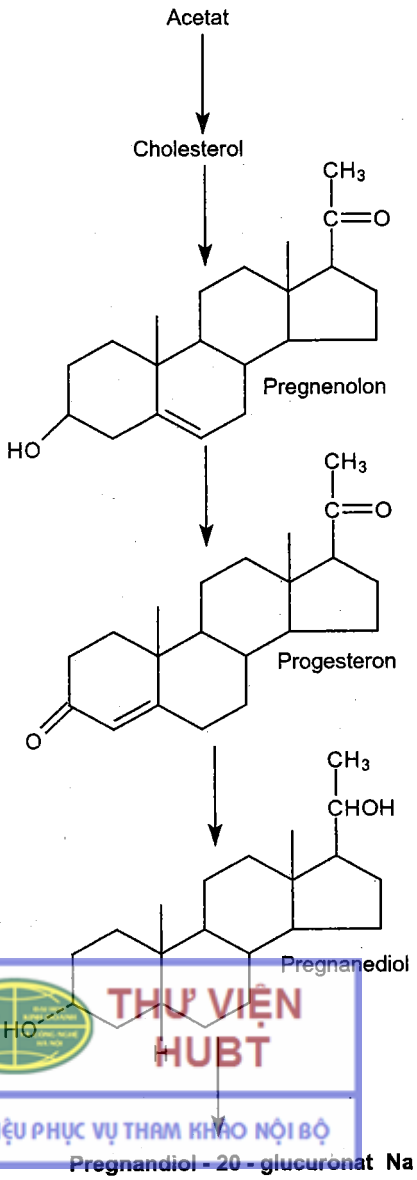
– Cơ chế hoá sinh các thuốc tránh thai tổng hợp:

Hiện nay những chất steroid tổng hợp được sử dụng nhiều nhất để làm thuốc tránh thai là:

+ 2 dẫn xuất của estradiol (hình 6.47a): ethinyl estradiol và mestranol.

+ 5 dẫn xuất của 19 nor-testosteron (hình 6.47b): norethindron, nor-ethinodrol, nor-ethindron acetat, ethynodiol diacetat và norgestrel.

Viên tránh thai phối hợp (E và P) có tác dụng ức chế sự rụng trứng do ức chế những trung tâm vùng dưới đồi gây ức chế LH theo cơ chế feedback. Ngoài ra thành phần estrogen trong hỗn hợp có tác dụng ức chế FSH, kìm hãm sự phát triển của nang trứng; còn progestin có tác dụng làm biến đổi niêm mạc trong cổ tử cung gây giảm những cơ hội làm tổ của trứng đã được thụ tinh đồng thời ức chế sự dịch chuyển của tinh trùng.

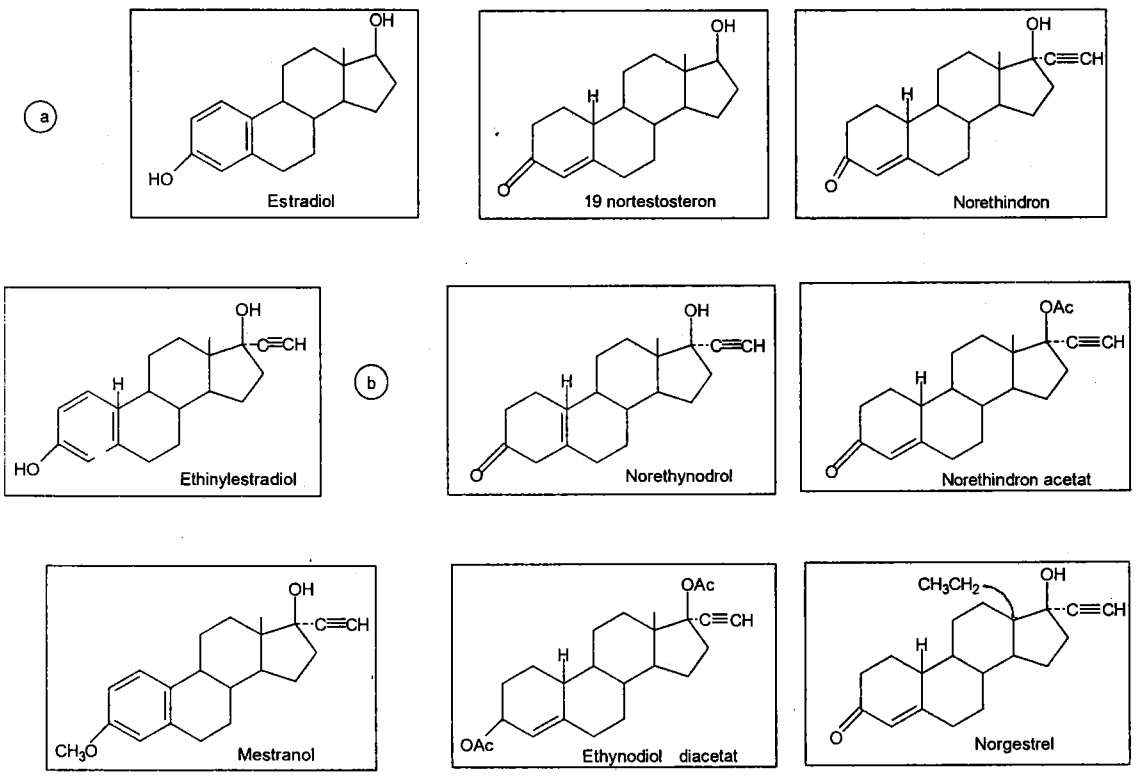


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Pregnandiol - 20 - glucuronat Na

Hình 6.46. Tổng hợp và thoái hoá của progesteron

Công thức phối hợp này không chỉ có hiệu quả tốt vì giữ được hoạt tính của hormon không bị chuyển hoá ở gan mà nó còn có thể giảm liều (E: 50µg và thấp hơn, P: 1mg và thấp hơn) nhưng không hề gây giảm tác dụng.

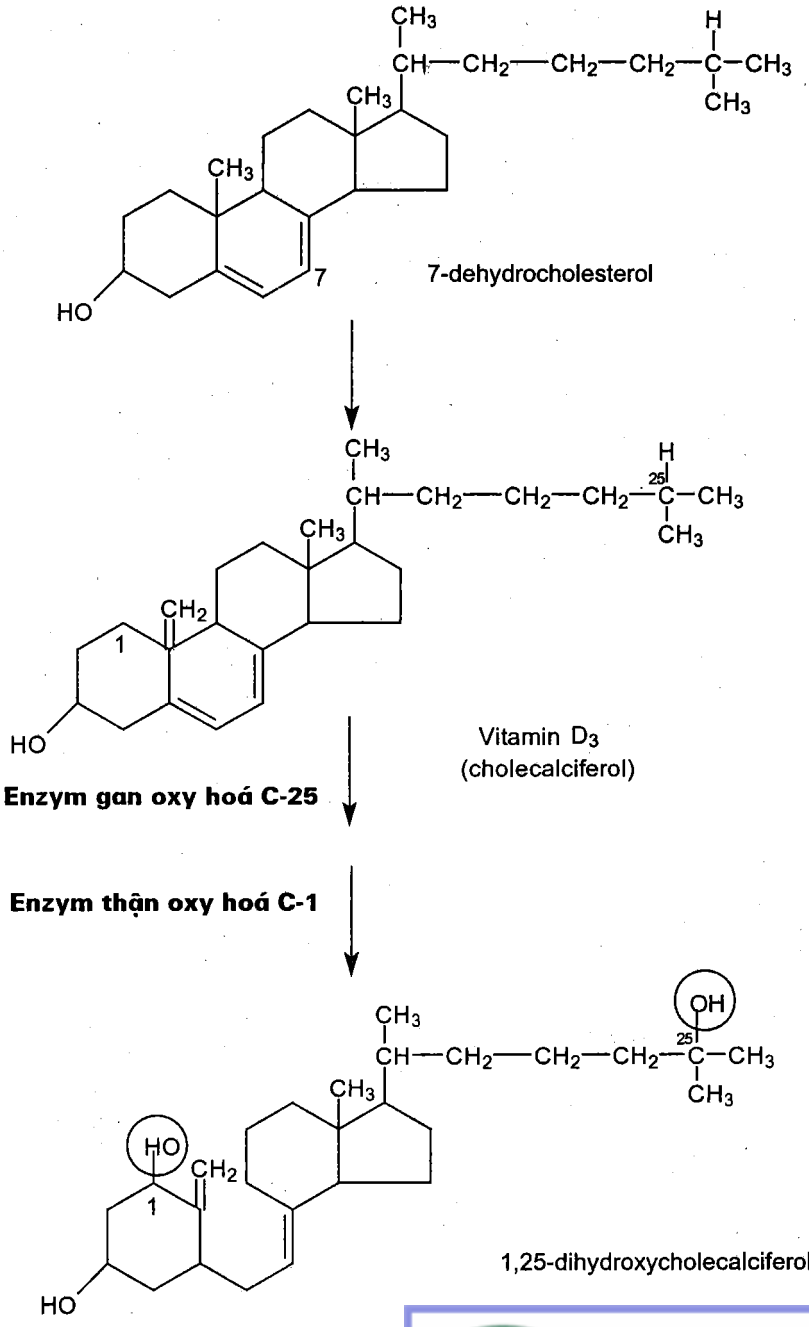


Hình 6.47. Một số thuốc tránh thai tổng hợp

4.4. Hormon dẫn xuất từ vitamin D

Dưới tác dụng của ánh sáng tử ngoại vitamin D_3 được tổng hợp từ 7 - dehydrocholesterol ở da. Nhờ enzym oxy hoá C-25 ởgan và enzym oxy hoá C-1 ở thận, nó được biến đổi thành hormon hoạt động là 1,25 dihydroxy cholecalciferol (hình 6.48) có tác dụng điều hoà chuyển hoá của Ca^{2+} và PO_4^{3-} (xem phần hormon tuyến cận giáp - calcitriol).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.48. Cấu tạo và sinh tổng hợp của hormon dẫn xuất từ vitamin D

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 7

TRAO ĐỔI CHẤT, OXY HOÁ SINH HỌC, CHU TRÌNH KREBS

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được sự liên quan giữa quá trình đồng hoá và dị hoá.*
2. *Nêu được 3 đặc điểm của các phản ứng chuyển hoá trong cơ thể.*
3. *Giải thích được bản chất của sự hô hấp tế bào.*
4. *Kể tên và cho thí dụ 5 loại liên kết giàu năng lượng.*
5. *Trình bày được quá trình phosphoryl oxy hoá.*
6. *Giới thiệu 3 cơ chế của sự phosphoryl hoá.*
7. *Vẽ và nêu được ý nghĩa của chu trình Krebs.*

1. Trao đổi chất

1.1. Khái niệm chung

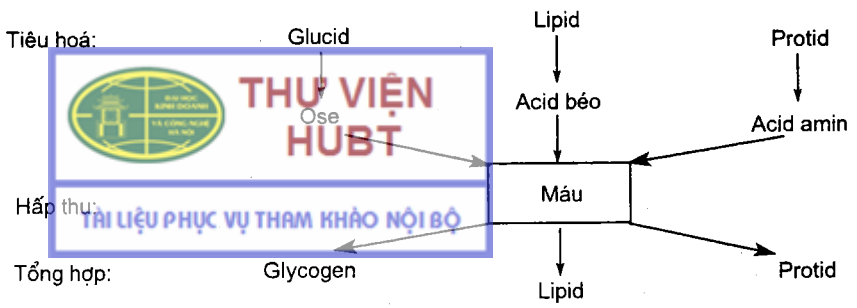
Trao đổi chất là đặc trưng của sự sống sinh vật. Sự sống không tồn tại khi sự trao đổi chất ngừng hoạt động. Sự trao đổi chất thể hiện qua sự tiếp nhận thức ăn, không khí từ bên ngoài vào và đào thải các chất cặn bã ra môi trường.

Muốn nghiên cứu quá trình trao đổi chất người ta cần biết các chất đi vào và đào thải ra thông qua các phản ứng trung gian tạo ra nó. Các quá trình này xảy ra phức tạp trong từng mô, từng tế bào, bao gồm các quá trình đồng hoá (tổng hợp) và dị hoá (thoái hoá) tạo nên chu kỳ trao đổi chất liên tục giữa chất nguyên sinh và chất nhận vào.

1.2. Quá trình đồng hoá và dị hoá

1.2.1. Quá trình đồng hoá

Là quá trình biến đổi các phân tử hữu cơ có trọng lượng phân tử lớn của thức ăn như glucid, lipid, protid có nguồn gốc khác nhau thành những phân tử nhỏ cơ bản cho cơ thể sử dụng như quá trình sau:



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các quá trình trên cần đến năng lượng.

1.2.2. Quá trình dị hoá

Là quá trình thoái hoá các chất của cơ thể, tạo thành sản phẩm trung gian và các chất cặn bã để đào thải (CO_2, H_2O, urê, v.v..). Quá trình dị hoá bao gồm các phản ứng oxy hoá khử, thuỷ phân, vận chuyển, tách nhóm... Đặc điểm của quá trình dị hoá là giải phóng năng lượng; một phần ở dạng nhiệt năng và một phần được tích trữ dưới dạng ATP để dùng cho các phản ứng tổng hợp, thoái hoá, co cơ, hấp thu, bài tiết, xung động thần kinh...

1.2.3. Sự mâu thuẫn và thống nhất của quá trình đồng hoá và dị hoá

Hai quá trình này ngược chiều nhau:

$$\text{Phân tử đơn giản} \underset{\text{Dị hoá}}{\overset{\text{Đồng hoá}}{\rightleftharpoons}} \text{Phân tử phức tạp}$$

Tuy vậy, chúng thống nhất với nhau: tiến hành song song, xen kẽ với nhau qua những sản phẩm trung gian. Năng lượng của quá trình thoái hoá được dùng cho quá trình tổng hợp.

1.3. Sinh vật tự dưỡng và dị dưỡng

Dựa vào quá trình trao đổi chất, người ta chia thế giới sinh vật làm hai loại:

1.3.1. Sinh vật tự dưỡng (thực vật)

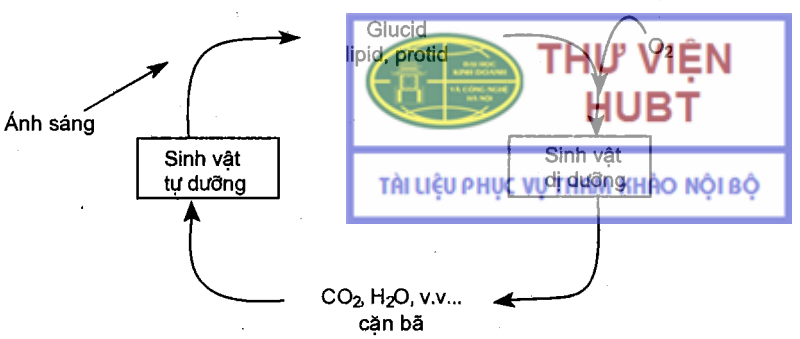
Có khả năng sử dụng các chất vô cơ đơn giản như CO_2, H_2O, muối để tạo chất hữu cơ phức tạp.

$$CO_2 + H_2O + \text{muối} \xrightarrow{\text{Ánh sáng}} \text{Glucid, lipid, protid}$$

1.3.2. Sinh vật dị dưỡng (động vật)

Sử dụng thức ăn do sinh vật tự dưỡng cung cấp để tạo năng lượng và các chất hữu cơ đặc trưng cho mình.

Quá trình chuyển hoá của thế giới sinh vật liên quan chặt chẽ với nhau tạo chu kỳ trao đổi chất chung.



THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Đặc điểm của quá trình trao đổi chất

Quá trình chuyển hoá trong cơ thể sống mang tính thống nhất và riêng biệt. Nhìn chung các con đường chuyển hoá lớn trong mọi cơ thể từ động vật, thực vật, đơn bào, đa bào đều theo những giai đoạn tương tự nhau. Tuy nhiên, đi sâu từng mô, cơ quan, cá thể từng loài thì lại có những nét riêng biệt.

Các phản ứng hoá học trong cơ thể xảy ra liên tục ở pH trung tính, 37°C, dưới tác dụng xúc tác của enzym.

Ở động vật, các quá trình chuyển hoá được điều khiển bởi hệ thống thần kinh.

1.5. Phương pháp nghiên cứu (2 cách)

Nghiên cứu cơ thể sống (in vivo), nghiên cứu sản phẩm chuyển hoá: phương pháp này không cho biết chi tiết con đường chuyển hoá.

Nghiên cứu trên cơ quan tách rời (in vitro): phương pháp này bổ sung cho phương pháp trên nhưng nhược điểm là tách rời cơ thể sống không đúng hoàn toàn. Để đạt đến mục đích nghiên cứu nhiều kỹ thuật hiện đại như quang phổ, sắc ký, phóng xạ đã được áp dụng.

1.6. Ý nghĩa của việc nghiên cứu quá trình trao đổi chất trong y, dược học

Nắm được quy luật biến hoá của vật chất để điều khiển theo hướng có lợi cho sức khoẻ của con người.

Chẩn đoán bệnh sớm, chính xác; hiểu được nguyên nhân, có hướng xử trí hiệu quả.

Giải thích tác dụng dược lý của thuốc giúp cho công tác nghiên cứu thuốc mới hoàn thiện.

2. Oxy hoá sinh học (hô hấp tế bào)

Oxy hoá sinh học hay hô hấp tế bào là quá trình của hệ thống các phản ứng oxy hoá khử của các chất được đưa vào cơ thể và được chuyển hoá thành năng lượng dưới dạng nhiệt năng hay dưới dạng ATP dự trữ trong cơ thể. Quá trình oxy hoá sinh học rất phức tạp, được thực hiện trong cơ thể bởi nhiều giai đoạn xúc tác bởi các hệ thống enzym trong tế bào.

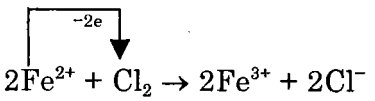
Hô hấp tế bào là sự "đốt cháy" các chất hữu cơ (glucid, lipid và protid) trong tế bào, quá trình này còn được gọi là oxy hoá khử tế bào. Hiện nay, người ta biết rằng sự đốt cháy các chất hữu cơ trong cơ thể hoàn toàn khác với sự đốt cháy các chất ngoài cơ thể. Đó là quá trình đốt cháy từ từ, từng bước, không có ngọn lửa, không tăng nhiệt độ, oxy của không khí thở vào không trực tiếp phản ứng với carbon và hydro của chất hữu cơ và năng lượng được giải phóng dần dần, hoặc tích trữ lại nếu chưa cần đến.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phổi là nơi thu nhận O_2 vào và thải CO_2 đi ra nhưng quá trình oxy hoá khử được tiến hành ở từng mô, từng tế bào, ngay cả mô tách rời khỏi cơ thể vẫn tiếp tục quá trình hô hấp tế bào một thời gian nữa.

2.1. Khái niệm về sự oxy hoá khử

Định nghĩa: quá trình oxy hoá khử là quá trình trao đổi điện tử. Sự oxy hoá là sự tách một hay nhiều điện tử, ngược lại, sử khư oxy là sự thu điện tử. Song song với sự oxy hoá có sự khử oxy vì điện tử được chuyển từ chất bị oxy hoá sang chất bị khử. Thí dụ:



Thế năng oxy hoá khử:

Trong phản ứng oxy hoá khử, thế năng oxy hoá khử được tính theo phương trình Nernst:

$$E = E_O + \frac{RT}{n\tau} \ln \frac{C_{ox}}{C_{kh}}$$

Trong đó:

E: Thế năng oxy hoá khử

E_o: Thế năng oxy hoá khử chuẩn

R: Hằng số khí

T: Nhiệt độ tuyệt đối

τ: Trị số Faraday (96.500 Coulomb hay 23.07 Kcal von^{-1}. mol^{-1}

n: Số điện tử di chuyển

C_{ox}: Nồng độ dạng oxy hoá trong dung dịch

C_{kh}: Nồng độ dạng khử trong dung dịch

Ta thấy, thế năng E phụ thuộc vào tỷ lệ giữa nồng độ oxy hoá và dạng khử. Nếu $C_{ox} = C_{kh}$ thì $E = E_o$.

Vì vậy, trong thí nghiệm, muốn xác định E_o ta cho $[Fe^{2+}] = [Fe^{3+}] = 1$mol.

Dựa vào thế năng oxy hoá khử của một hệ thống có thể xác định vị trí của hệ thống này trong dây chuyền phản ứng oxy hoá khử. Thí dụ: ta có hai hệ thống oxy hoá khử:

$$A_{kh} \rightleftharpoons A_{ox} + e$$

$$B_{kh} \rightleftharpoons B_{ox} + e$$

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thế năng oxy hoá khử chuẩn của hai hệ thống này là E_o^A và E_o^B. Nếu E_o^A thấp hơn E_o^B thì điện tử có chiều hướng chuyển từ A sang B, có nghĩa là A sẽ bị oxy hoá và B sẽ bị khử. Hệ thống có thế năng oxy hoá khử cao nhất sẽ là hệ thống oxy hoá mạnh nhất, nói cách khác hệ thống có thế năng oxy hoá khử càng cao bao nhiêu thì khả năng nhận điện tử của hệ thống càng lớn bấy nhiêu.

Nếu sự chênh lệch giữa hai thế năng E_o^B và E_o^A lớn, phản ứng thường là không thuận nghịch và năng lượng được toả ra thành một lượng nhiệt lớn. Điều này rất hiếm thấy trong tế bào sinh vật. Các phản ứng trong tế bào thường có độ chênh lệch nhỏ về thế năng oxy hoá khử (phản ứng có tính thuận nghịch), năng lượng được giải phóng tương đối ít và nếu năng lượng vượt quá mức nhất định thì sẽ được tích trữ lại dưới dạng các liên kết hoá học.

Sự tương quan giữa thế năng oxy hoá khử và biến thiên năng lượng tự do biểu diễn bằng phương trình sau:

$$\Delta F_o = - n \tau \Delta E_o$$

Trong đó:

ΔF_o: Biến thiên năng lượng tự do của phản ứng

ΔE_o: Hiệu số thế năng oxy hoá khử của hệ thống

τ: Trị số Faraday

n: Số điện tử di chuyển

Thế năng oxy hoá khử chuẩn của một số hệ thống

Hệ thống		E_o (volt)
Dạng khử	Dạng oxy hoá	pH=7, to = 25°C
H_2	$2H^+$	-0,42
NADH + H^+	NAD^+	-0,32
Ribofavin dạng khử	Ribofavin dạng oxy hoá	-0,05
Ubiquinin dạng khử	Ubiquinin dạng oxy hoá	+0,10
Cytocrom b (Fe^{2+})	Cytocrom b (Fe^{3+})	+0,12
Cytocrom c_1 (Fe^{2+})	Cytocrom c_1 (Fe^{3+})	+0,21
Cytocrom c (Fe^{2+})	Cytocrom c (Fe^{3+})	+0,25
Cytocrom a (Fe^{2+})	Cytocrom a (Fe^{3+})	+0,29
H_2O	1/2 O_2	+0,82

2.2. Bản chất của sự hô hấp tế bào

Bản chất chủ yếu của sự hô hấp tế bào là sự đốt cháy các chất hữu cơ trong cơ thể để tạo thành khí carbonic và nước, tạo được nhiều năng lượng.

Khí carbonic được tạo thành trong quá trình khử carboxyl dưới sự xúc tác của enzym decarboxylase.

THƯ VIỆN HUBT

$$R\text{-}COOH \rightarrow RH + CO_2$$

Về mặt năng lượng, quá trình này ít tạo ra năng lượng cho cơ thể.

Quá trình đốt cháy hydro để tạo thành nước trong cơ thể nhờ một loạt dây chuyền phản ứng, bao gồm nhiều chặng tách dần hydro ra khỏi cơ chất được vận chuyển qua chuỗi dài của các chất trung gian để đưa đến nguyên tử oxy. Trong quá trình này, hydro và oxy được hoạt hoá thành các dạng ion H^+ và O^{2-}. Những

ion này hoạt động hoá học rất mạnh nên khi gặp nhau, chúng dễ dàng tạo nước. Quá trình vận chuyển hydro dưới dạng proton (H^+) từ các chất bị oxy hoá đồng thời với quá trình vận chuyển điện tử tới oxy tạo thành nước, giải phóng rất nhiều năng lượng cho cơ thể. Trong quá trình phản ứng oxy hoá khử của tế bào không có sự tác dụng trực tiếp của oxy đối với hydro và carbon của cơ chất, cho nên theo Szent Gyorgy, thì xét cho cùng nguyên liệu trong bữa ăn của chúng ta chỉ là hydro.

2.3. Chuỗi hô hấp tế bào

– Chuỗi hô hấp tế bào là một hệ thống các enzym xúc tác vận chuyển H^+ và điện tử từ cơ chất đến phân tử oxy để tạo H_2O. Các thành phần tham gia vận chuyển hydro và điện tử như sau:

+ Enzym vận chuyển hydro gồm các dehydrogenase đặc hiệu, có coenzym NAD^+, FAD (flavin adenin dinucleotid), FMN (flavin mononucleotid).

+ Enzym vận chuyển điện tử gồm hệ thống cytocrom.

+ Ngoài ra còn có một số enzym phụ và chất phụ như catalase, peroxydase, vitamin C, glustathion.

– Thứ tự hoạt động của enzym được sắp xếp nghiêm ngặt theo thế năng oxy hoá khử từ thấp đến cao, điện tử được chuyển vận trong chuỗi hô hấp tế bào theo từng chặng đi từ chất mang điện tích âm nhất đến oxy.

$$\text{Cơ chất} \rightarrow NAD^+ \rightarrow FMN \rightarrow CoQ \rightarrow Cytb \rightarrow Cytc_1 \rightarrow Cytc \rightarrow Cyt\ (a + a_3) \rightarrow O_2$$

Chúng ta sẽ lần lượt xem xét từng giai đoạn:

Giai đoạn 1: thông thường hydro được tách từ cơ chất bởi dehydrogenase có coenzym NAD^+ (hoặc $NADP^+$). Hydro của cơ chất gắn vào NAD^+, cơ chất từ dạng khử chuyển thành dạng oxy hoá và ngược lại NAD^+ từ dạng oxy hoá biến sang dạng khử. Mỗi cơ chất có một dehydrogenase đặc hiệu tương ứng.

$$SH_2 + NAD^+ \rightarrow S + NADH + H^+$$

NADH không thể tự oxy hoá bởi oxy được, nghĩa là không thể trực tiếp chuyển hydro cho oxy mà phải chuyển sang cho dehydrogenase khác có coenzym là FMN hoặc FAD.

Giai đoạn 2: NADH (hoặc NADPH) bị oxy hoá bởi dehydrogenase. Enzym này là một flavoprotein có nhóm phụ là FMN hoặc FAD. Hai electron được chuyển từ NADH + H^+ tới FMN (hoặc FAD) cho $FMNH_2$ (hoặc $FADH_2$):

$$NADH + H^+ + FMN \rightarrow NAD^+ + FMNH_2$$

NADH dehydrogenase cũng chứa sắt, chất này có lẽ giữ vai trò chuyển electron. Sắt không tham gia vào một nhóm hem nào. NADH dehydrogenase là một protein chứa sắt không thuộc hem.

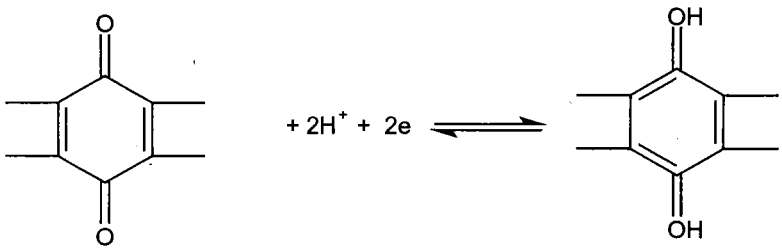
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cần chú ý rằng: một số flavoenzym có thể có khả năng nhận hydro trực tiếp từ cơ chất.

Giai đoạn 3: H^+ và electron được chuyển từ $FMNH_2$ tới coenzym Q

$FMNH_2$ + CoQ (dạng oxy hoá) → FMN + $CoQH_2$ (dạng khử)

Coenzym Q là một dẫn xuất quinon, còn được gọi là ubiquinon. Coenzym Q là một chất tác dụng chuyển vận khá linh hoạt electron giữa flavoprotein và hệ thống cytocrom. Khi nhận H^+ và electron, coenzym Q từ dạng oxy hoá (quinon) chuyển thành dạng khử (quinol hay hydroquinon).



CoQ $CoQH_2$

Giai đoạn 4: các enzym vận chuyển electron từ $CoQH_2$ đến oxy. Đó là hệ thống các cytocrom, nó giữ vai trò trung tâm trong hô hấp tế bào. Mỗi cytocrom là một protein enzym chuyển vận electron có chứa nhóm ngoại hem. Ở các phân tử cytocrom, nguyên tử sắt liên tục đi từ trạng thái sắt hai (Fe^{2+}) (dạng khử) tới trạng thái sắt ba (Fe^{3+}) (dạng oxy hoá) trong quá trình chuyển vận electron. Nhóm hem chuyển vận một electron; ngược lại với NADH, flavin và coenzym Q là những chất chuyển vận hai electron.

Có 5 cytocrom giữa CoQ và O_2 trong chuỗi chuyển vận electron. Thế năng oxy hoá khử của chúng tăng theo thứ tự sau: cytb, $cytc_1$, cytc, cyta, $cyta_3$. Các cytocrom này có cấu trúc và tính chất khác nhau. Nhóm phụ của cytocrom b, c_1, c là protonporphyrin có sắt, thường gọi là hem, giống như nhóm phụ của myoglobin và hemoglobin. Cytocrom a và a_3 là những thành phần cuối của chuỗi hô hấp tế bào, chúng ở dạng một phức chất, gọi là cytocrom oxydase. Electron được chuyển tới phần cytocrom a của phức chất, rồi tới cytocrom a_3 có chứa đồng (Cu). Nguyên tử đồng liên tiếp chuyển từ dạng đồng hai (Cu^{2+}) (dạng oxy hoá) sang dạng đồng một (Cu^+) (dạng khử) trong quá trình vận chuyển electron, có lẽ nó tham gia xúc tác vận chuyển electron từ hem A của cytocrom a_3 tới oxy.

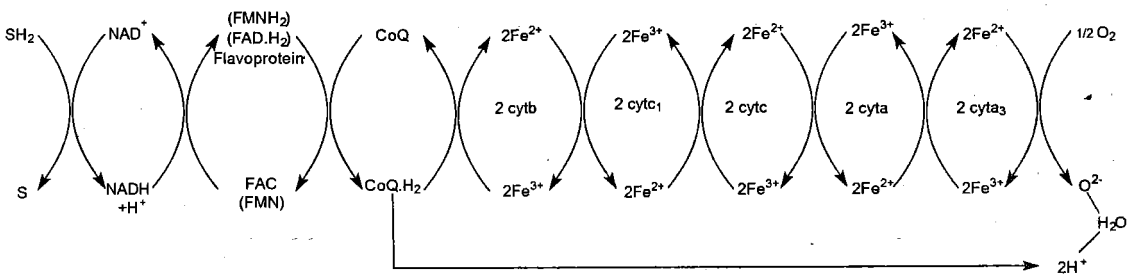
Quá trình vận chuyển electron qua hệ thống cytocrom tới oxy có thể viết như sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$2e^-$	+ 2. cytb Fe^{3+}	→ 2. cytb Fe^{2+}	
2. cytb Fe^{2+}	+ 2. $cytc_1$ Fe^{3+}	→ 2. cytb Fe^{2+}	+ 2. $cytc_1$ Fe^{2+}
2. $cytc_1$ Fe^{2+}	+ 2. cytc Fe^{3+}	→ 2. $cytc_1$ Fe^{3+}	+ 2. cytc Fe^{2+}
2. cytc Fe^{2+}	+ 2. cyta Fe^{3+}	→ 2. cytc Fe^{3+}	+ 2. cyta Fe^{2+}
2. cyta Fe^{2+}	+ 2. $cyta_3$ Fe^{3+}	→ 2. cyta Fe^{3+}	+ 2. $cyta_3$ Fe^{2+}
2. $cyta_3$ Fe^{2+}	+ 1/2 O_2	→ 2. $cyta_3$ Fe^{3+}	+ O^{2-}

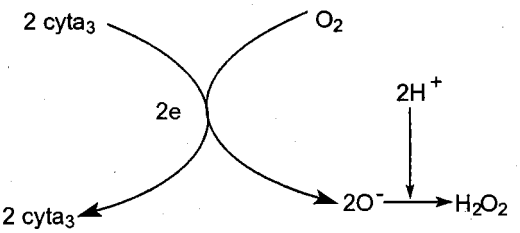
– Toàn bộ chuỗi hô hấp có thể biểu thị bằng sơ đồ:

Sơ đồ chuỗi hô hấp tế bào (từ cơ chất SH_2 tới oxy phân tử qua NAD, flavoprotein, coenzym Q, hệ thống cytocrom).



Sơ đồ chuỗi hô hấp tế bào (từ cơ chất SH_2 tới oxy phân tử qua NAD^+ flavoprotein, coenzym Q, hệ thống cytocrom

Thông thường, kết quả của chuỗi hô hấp là H_2O, nhưng cũng có trường hợp oxy được hoạt hoá dưới dạng O^-, do đó tạo ra H_2O_2.



H_2O_2 (hydroperoxyd) là một chất độc đối với tế bào, lập tức bị catalase phân huỷ:

$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} H_2O + \frac{1}{2}O_2$$

Rõ ràng, quá trình vận chuyển hydro đến oxy tạo ra H_2O, thực chất là một quá trình trao đổi electron (cho và nhận) một cách liên tục. Bản chất của nó là một quá trình oxy hoá khử. Vì vậy, người ta gọi hô hấp tế bào là oxy hoá khử sinh học.

– Trên đây là chuỗi hô hấp tế bào bình thường, nhưng trong một trường hợp, chuỗi có thể kéo dài hoặc ngắn hơn. Điều này tuỳ thuộc vào thế năng oxy hoá khử của cơ chất:

+ Chuỗi hô hấp tế bào dài: khi oxy hoá cơ chất là acid pyruvic và acid α - cetoglutaric, hydro tách ra từ cơ chất được gắn vào lipothiamin pyrophosphat (LTTPP) rồi mới đến NAD^+

Cơ chất → LTPP → NAD^+ → flavoprotein → cytocrom → oxy

+ Chuỗi hô hấp tế bào ngắn: trường hợp oxy hoá acid béo, hydro từ cơ chất chuyển thẳng tới FAD.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cơ chất → flavoprotein → cytocrom oxy

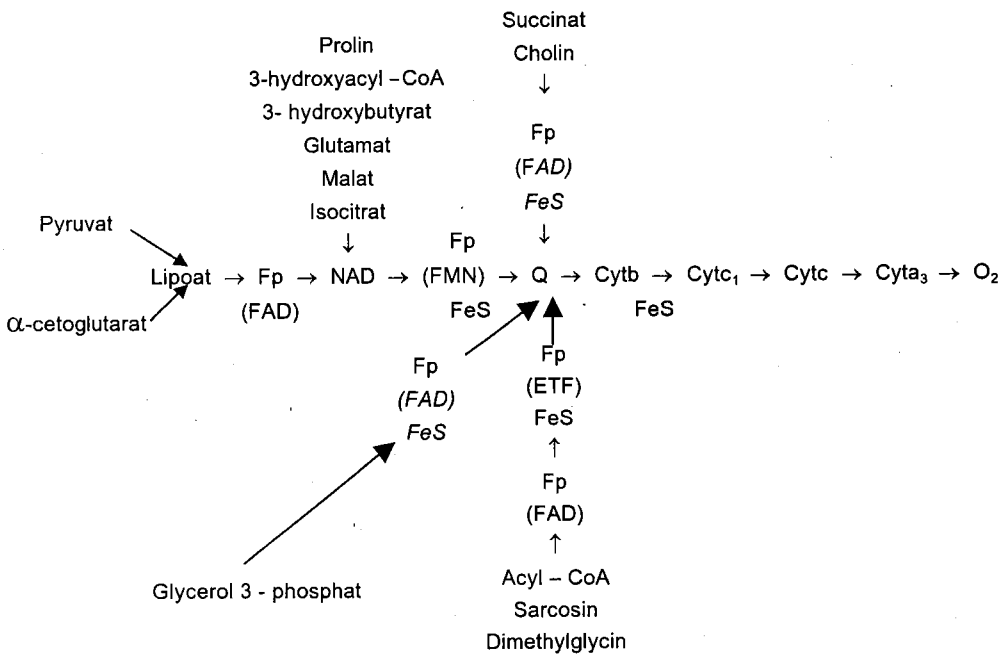
+ Chuỗi hô hấp tế bào rất ngắn: trường hợp này, chỉ có một hay hai, hay không có cytocrom nào tham gia vào chuỗi hô hấp tế bào, như trường hợp oxy hoá l hoặc d-acid amin do tác dụng của một số enzym: acid amin oxydase (dehydrogenase hiếu khí), hydro tách ra từ acid amin bởi flavoenzym được chuyển trực tiếp tới oxy và tạo thành hydroperoxyd.

Cơ chất → flavoprotein → oxy

Flavoprotein – H_2 + O_2 → flavoprotein + H_2O_2

Tuy nhiên, con đường này xảy ra hết sức chậm. Trong khi đó, sự vận chuyển trong chuỗi hô hấp tế bào với sự tham gia của hệ thống cytocrom lại xảy ra rất nhanh chóng.

Quan niệm hiện đại về hô hấp tế bào còn bổ sung thêm nhiều chi tiết của quá trình hô hấp tế bào kinh điển như đã trình bày ở trên. Những chặng di chuyển điện tử hydro còn phụ thuộc vào trạng thái cơ chất đến các phức hợp như mô hình 7.1 và 7.3.

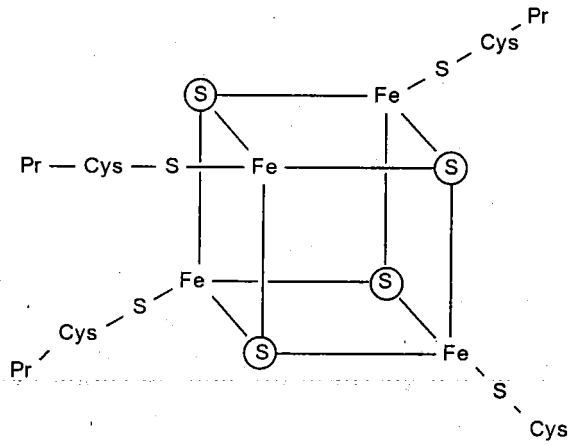


Hình 7.1. Những giai đoạn chuỗi hô hấp tế bào chuyển hoá các chất

Fp: Flavoprotein FeS: Phức hợp protein chứa Fe và S

THƯ VIỆN HUBT

Trong mô hình này, flavoprotein đặc biệt (ETF- electron transferring flavoprotein) có khả năng chuyển điện tử bên cạnh hệ thống cytocrom (thành phần của chuỗi hô hấp tế bào), còn được tìm thấy protein có chứa Fe và S (FeS), sắt không phải của hem thuộc loại metalo flavoprotein như dạng Fe_4S_4 như hình 7.3.



Hình 7.2. Phức hợp protein - Fe và S

Pr: protein, cys: Cystein

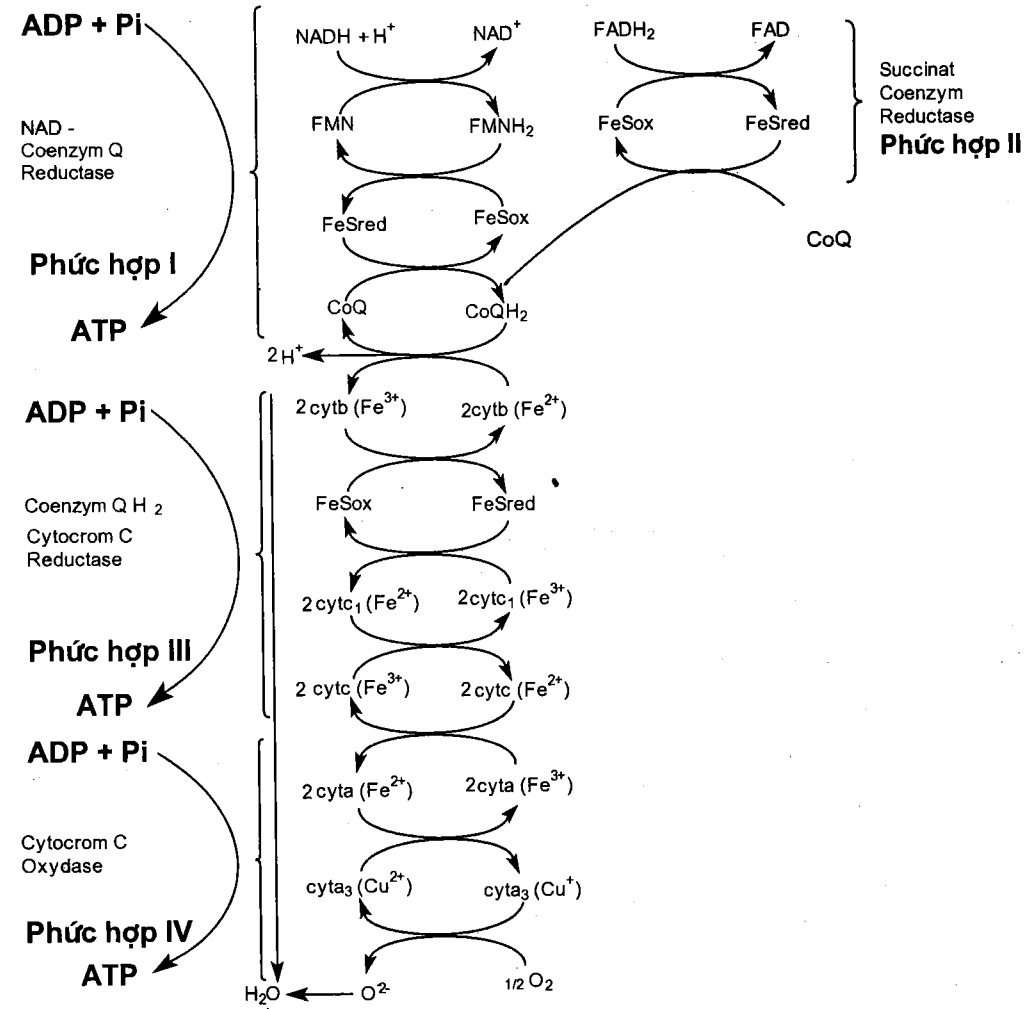
Vài phức hợp protein - Fe và S chỉ chứa 2Fe và 2S là Fe_2S_2

Chuỗi hô hấp tế bào hoạt động theo 4 phức hợp (hình 7.3):

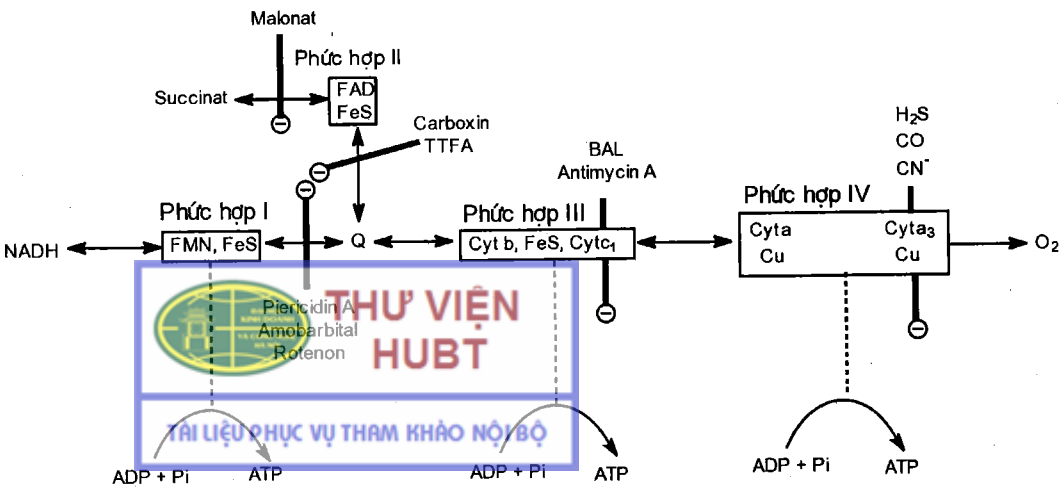
- Phức hợp I là NADH dehydrogenase (FMN; FS).
- Phức hợp II là succinat dehydrogenase (FAD; FeS).
- Phức hợp III là ubiquinon, cytocrom oxydoreductase (hem; FeS).
- Phức hợp IV là cytocrom oxydase (hem; Cu^{+}, Cu^{++}).

Trên những phức hợp này thuốc và các hoá chất gây kìm hãm như hình 7.4.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 7.3. Sơ đồ chuỗi hô hấp của ty thể từ phức I đến IV

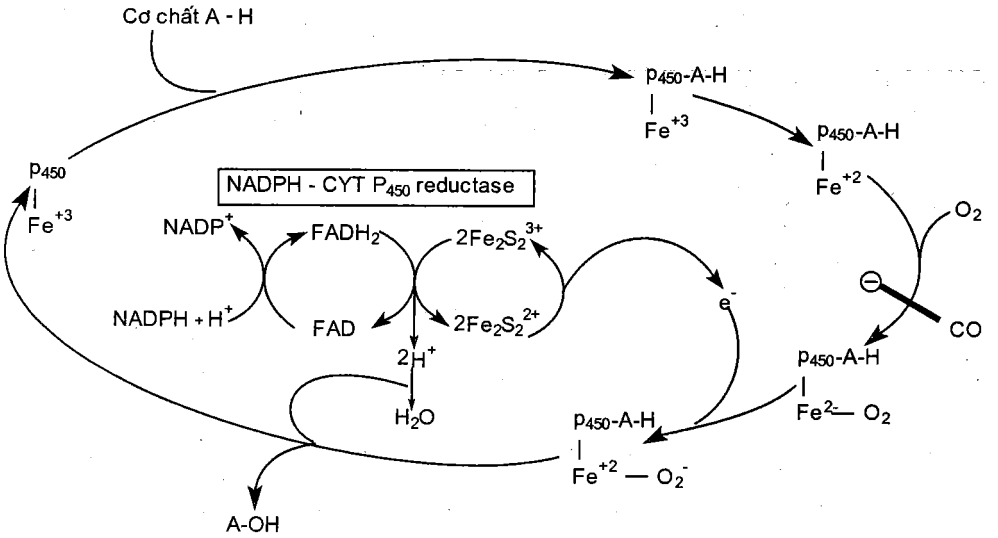


Hình 7.4. Những vị trí ức chế chuỗi hô hấp tế bào bởi thuốc

Thuốc còn có tác dụng đối với hệ thống enzym cytocrom P_{450} monooxygenase của ty thể như quá trình hydrolase:

$$\text{Thuốc dạng} -H + O_2 + 2Fe^{2+} + 2H^+ \rightarrow \text{Thuốc dạng} -OH + H_2O + 2Fe^{3+}$$
$$(P_{450}) \qquad\qquad (P_{450})$$

Cytocrom P_{450} và phức hợp protein - sắt - lưu huỳnh liên quan đến nhiều hệ thống coenzym dehydrogenase trong chuỗi hô hấp tế bào. Quá trình liên quan thể hiện qua chu trình hydroxyl hoá của cytocrom P_{450} ty thể (hình 7.5).



Hình 7.5. Vai trò cytocrom P_{450} trong chuỗi hô hấp tế bào

Sự chuyển hoá thuốc của hệ thống này là benzpyren, aminopyrin, anilin, morphin, benzphetamin. Nhiều loại thuốc, trong đó có phenobarbital có khả năng khởi động hình thành cytocrom P_{450} của ty thể.

Ngoài những enzym hệ thống của chuỗi hô hấp tế bào còn có superoxyd dismutase rất được chú ý vì oxy của nó sinh chất độc H_2O_2 và tạo ra ion gốc tự do $O_2^{\cdot-}$ do oxy bị khử trong tế bào bởi enzym này. Superoxyd được hình thành khi flavin bị khử. Trong chuỗi hô hấp tế bào, gốc tự do của $O_2^{\cdot-}$ được hình thành.

$$\text{Enzym} - H_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow \text{Enzym} - H + O_2^{\cdot-} + H^+$$

Sau đó, superoxyd có thể bị khử, oxy hoá bởi cytocrom c.

$$O_2^{\cdot-} + \text{Cytc } (Fe^{3+}) \rightarrow O_2 + \text{Cytc } (Fe^{2+})$$

Một quá trình khác có thể xảy ra dưới sự tác dụng của superoxyd dismutase.

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Trong phản ứng này superoxyd tác dụng như chất khử và chất oxy hoá. Nhiều chứng cứ nêu rằng $O_2^{\cdot-}$ kết hợp với P_{450} cytocrom là sản phẩm trung gian trong phản ứng hydroxyl hoá.

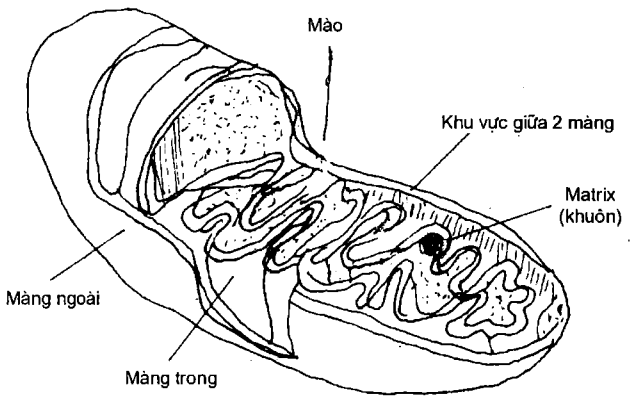
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.4. Vài nét về ty thể tế bào

Ty thể là những bào quan hình bầu dục, dài khoảng 2μm và đường kính 0,5μm. Từ năm 1940, người ta đã phân lập được ty thể, sau đó Eugene Kenedy và Albert Lehninger đã phát hiện ra trong ty thể có cả một hệ thống enzym hô hấp, các enzym của chu trình acid citric và quá trình oxy hoá acid béo.

Qua kính hiển vi điện tử, George Palade và Pritjof Sjostrand nhận thấy ở ty thể có hai hệ thống màng là màng trong và màng ngoài.

Màng ngoài phẳng, màng trong có nhiều nếp gấp không đều gọi là vách hay mào (crista); như vậy là có hai khu vực trong ty thể: khu vực giữa hai màng và khu vực khuôn (matrix) gắn vào màng trong. Mỗi khu vực của ty thể có những tính chất đặc trưng và chứa những enzym khác nhau cần cho các quá trình sinh học xảy ra trong ty thể (hình 7.6).



Hình 7.6. Ty thể của tế bào

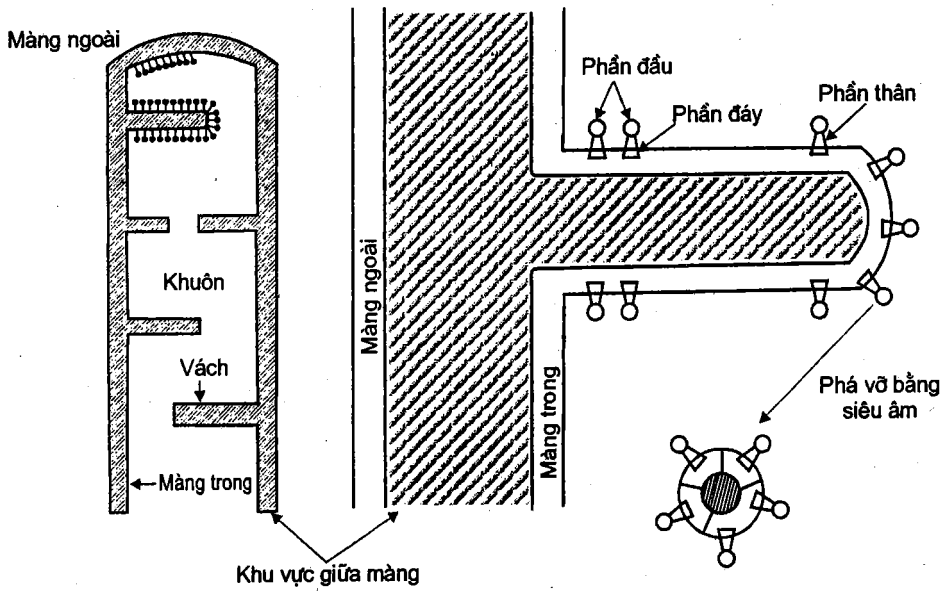
Màng ngoài cho qua lại đa số các chất chuyển hoá, có thể tách ra bằng cách xử lý với digitonin. Màng ngoài chứa các enzym trao đổi acid béo, phospholipid, lipid và các enzym nối dài mạch acid béo. Những enzym này có thành phần giống như các enzym của tiểu thể (microsom). Chức năng chủ yếu của màng ngoài là cách ly phần trong của ty thể kể cả màng trong ty thể với bào tương (hay tế bào chất). Enzym đặc trưng của màng ngoài là amino oxydase xúc tác sự chuyển hoá của các acid amin.

Màng trong không cho thấm qua nhiều chất kể cả các phần tử nhỏ và ion. Có những protein đặc hiệu chuyển vận các phần tử như ADP, acid béo nhiều carbon... qua màng trong của ty thể. Màng trong được cấu tạo bởi nhiều đơn vị giống nhau, mỗi đơn vị gồm ba phần: đầu, thân và đáy. Bằng phương pháp siêu âm, ta có thể tạo ra các nang gồm màng trong với những đầu hướng ra ngoài. Phần lớn lipid màng trong là phospholipid. Khoảng 20-30% hàm lượng protein của màng trong là enzym, trước hết là các enzym của chuỗi hô hấp tế bào và các enzym phosphoryl oxy hoá. Toàn bộ chuỗi vận chuyển và ATP synthetase nằm ở phần đầu. Như vậy, màng trong chứa NAD^+, flavoprotein và cytocrom, bố trí thành những phức hệ, mỗi phức hệ là một hệ thống hô hấp độc lập bao gồm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

NADH dehydrogenase, succinat dehydrogenase, coenzym Q và các cytocrom theo các tỷ lệ phân tử gam chặt chẽ.

Các đơn vị hô hấp này liên kết trực tiếp với yếu tố phosphoryl hoá F_1 (yếu tố liên hợp), một loại protein có trọng lượng phân tử 280.000 và đường kính phân tử khoảng 8μm (hình 7.7).



Hình 7.7. Cấu trúc của màng ty thể của tế bào

Năng lượng được tạo ra trong quá trình chuyển vận electron ở phần đáy có thể được tích trữ lại trong protein gắn ở phần đáy và rồi có thể được chuyển qua protein phần thân tới phần đầu và từ đó chuyển sang liên kết phosphat của ATP.

Mặt trong của màng trong gắn với các pyridin nucleotid vốn hoạt động như coenzym của các phản ứng trong cơ chất của ty thể. Màng trong còn chứa các enzym nối dài mạch acid béo bắt đầu với mười carbon và các enzym xúc tác tổng hợp porphyrin và hem. Các enzym hoà tan của chu trình acid citric và các enzym của quá trình oxy hoá acid béo nằm ở khuôn. Điều này đòi hỏi phải có cơ chế chuyển vận ion, acid béo và các chất hữu cơ khác cũng như các nucleotid qua màng trong ty thể.

2.5. Sự phosphoryl oxy hoá

2.5.1. Sự phosphoryl hoá

Sự phosphoryl hoá là sự gắn một gốc acid phosphoric (còn gọi là gốc phosphat) vào một phân tử chất hữu cơ:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO, NGHIÊN CỨU

$$RH + HO - PO_3H_2 \longrightarrow R - PO_3H_2 + H_2O$$

Chất hữu cơ — Acid phosphoric — Hợp chất phosphat hữu cơ (có thể viết tắt R-P)

Chất hữu cơ phản ứng với acid phosphoric tạo nên một liên kết phosphat hữu cơ sau khi loại bỏ một phân tử nước. Phản ứng phosphoryl hoá là phản ứng tổng hợp, cần sự tham gia của enzym phosphorylase hoặc kinase và năng lượng. Như vậy, khi tạo hợp chất thì năng lượng được tích trữ trong những liên kết phosphat.

Phản ứng ngược lại với phosphoryl hoá là phản ứng khử phosphoryl, thí dụ phản ứng thuỷ phân cắt đứt liên kết phosphat nhờ sự xúc tác của phosphatase. Trong quá trình này, năng lượng được giải phóng ra bằng số năng lượng đã tạo thành liên kết phosphat.

$$R - PO_3H_2 + H_2O \longrightarrow RH + H_3PO_4$$

Phosphoryl hoá là một trong những phản ứng quan trọng bậc nhất trong chuyển hoá. Nó đóng vai trò chủ yếu trong việc tích trữ và vận chuyển năng lượng. Rất nhiều chất chỉ có thể đi vào chuyển hoá trong tế bào và mô sau khi đã được phosphoryl hoá (phosphoryl hoá đóng vai trò hoạt hoá các chất).

2.5.2. Các loại liên kết phosphat

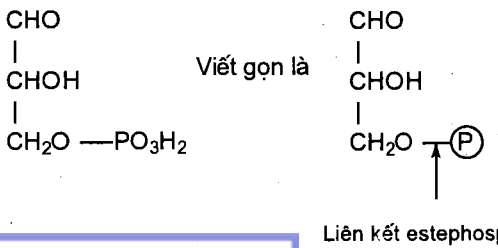
Căn cứ vào năng lượng tự do được giải phóng từ quá trình thuỷ phân cắt đứt liên kết phosphat của những hợp chất phosphat hữu cơ, người ta chia các loại liên kết phosphat làm hai loại: liên kết phosphat nghèo năng lượng và liên kết phosphat giàu năng lượng.

– *Liên kết phosphat nghèo năng lượng:*

Khi thuỷ phân để cắt đứt liên kết phosphat này, năng lượng chỉ có từ 1000 - 5000 calo được giải phóng [$\Delta Fo = -(1000$ đến $5000)$calo]. Thuộc loại này có liên kết este phosphat, hình thành do gốc acid phosphoric kết hợp với một chức alcol của chất hữu cơ:

$$R\text{-}OH + HO\text{-}PO_3H_2 \rightarrow R\text{-}O\text{-}PO_3H_2$$

Thí dụ: trong phân tử phospho glyceral dehyd



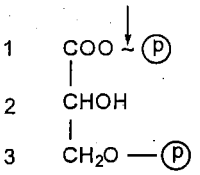
– *Liên kết phosphat giàu năng lượng:*

Khi thuỷ phân cắt đứt liên kết phosphat giàu năng lượng thì có > 7000 calo được giải phóng ($\Delta Fo > -7000$ calo). Liên kết này được ký hiệu ~P. Liên kết phosphat giàu năng lượng là những liên kết lỏng lẻo, dễ bị phá vỡ. Thuộc loại liên kết này gồm:

THƯ VIỆN HUBT

+ Liên kết acyl phosphat: tạo thành do gốc acid phosphoric kết hợp với nhóm chức acid của chất hữu cơ, ký hiệu là R-COO~P.

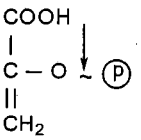
Thí dụ: trong acid 1,3-diphosphoglyceric.



Trong phân tử chất này có hai liên kết phosphat. Ở vị trí (3) là liên kết este phosphat nghèo năng lượng, ở vị trí (1) là liên kết acyl phosphat giàu năng lượng.

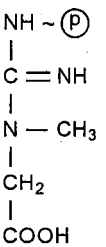
+ Liên kết enol phosphat: tạo thành do gốc acid phosphoric kết hợp với nhóm chức enol của chất hữu cơ, ký hiệu là R-C-O~P

Thí dụ: trong acid phosphoenol pyruvic



+ Liên kết amid phosphat (hay liên kết phosphamid): tạo thành do gốc acid phosphoric kết hợp với nhóm amin của chất hữu cơ, ký hiệu là R-NH~P

Thí dụ: trong creatin phosphat.

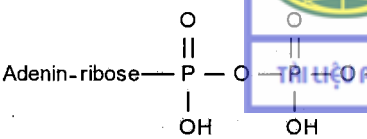


+ Liên kết anhydrid phosphat (hay liên kết pyrophosphat): tạo thành do phản ứng khử nước giữa hai gốc phosphat, ký hiệu là R-P ~P.

Thí dụ: trong adenosin triphosphat

Chất có liên kết phosphat giàu năng lượng quan trọng nhất của cơ thể là adenosin triphosphat (ATP). ATP có chứa một liên kết este phosphat nghèo năng lượng và hai liên kết pyrophosphat giàu năng lượng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Viết tắt là adenin - ribose -Ⓟ~Ⓟ~Ⓟ.

– *Chú ý:* ngoài các liên kết phosphat giàu năng lượng, còn có các liên kết hoá học giàu năng lượng khác như liên kết thioeste, hình thành do phản ứng giữa nhóm thiol (~SH) và nhóm chức acid (-COOH).

Thí dụ: trong acetyl coenzym A

$$CH_3\text{-}CO\sim SCoA$$

2.5.3. *Sự phosphoryl oxy hoá và quá trình tích trữ năng lượng*

– Trong quá trình oxy hoá khử tế bào, electron được chuyển vận từ hệ thống có thế năng oxy hoá khử thấp đến hệ thống có thế năng oxy hoá khử cao.

+ Nếu khoảng chênh lệch điện thế giữa hai hệ thống nhường và nhận electron xấp xỉ 0,22V thì năng lượng giải phóng ra đủ để tạo một liên kết giàu năng lượng trong ATP nhờ phản ứng phosphoryl hoá ADP (quá trình tổng hợp ATP từ ADP cần 7300 calo/mol).

$$ADP + H_3PO_4 \rightarrow ATP + H_2O$$

+ Nếu sự chênh lệch điện thế giữa hai hệ thống nhường và nhận electron quá nhỏ thì năng lượng giải phóng không đủ tạo liên kết giàu năng lượng trong ATP.

Vậy sự phosphoryl hoá ADP thành ATP đi kèm theo sự oxy hoá khử nên gọi là sự phosphoryl oxy hoá.

Mỗi lần tạo thành ATP từ ADP thì cơ thể tích trữ được một liên kết phosphat giàu năng lượng. ATP luôn luôn được cơ thể thuỷ phân thành ADP, H_3PO_4 và năng lượng giải phóng, để cơ thể sử dụng trong mọi hoạt động sống. ATP lại luôn luôn tái tổng hợp từ ADP nhờ năng lượng sinh ra trong quá trình hô hấp tế bào.

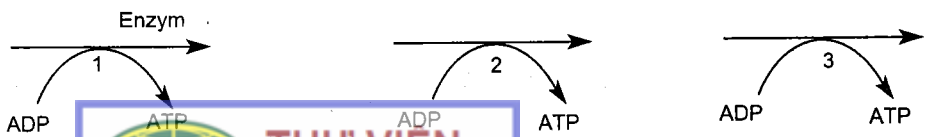
– Trong chuỗi hô hấp tế bào, ATP được tạo ra ở ba vị trí sau:

+ Vị trí 1: giữa NADH và coenzym flavin của NADH dehydrogenase ($\Delta Fo = -12.000$ calo/mol).

+ Vị trí 2: giữa cytocrom b và cytocrom c_1 ($\Delta Fo = -10.000$ calo/mol)

+ Vị trí 3: giữa cytocrom ($a + a_3$ và oxy ($\Delta Fo = -24.000$ calo/mol).

$SH_2 \rightarrow$ NADH $\rightarrow$ flavo $\rightarrow$ CoQ $\rightarrow$ Cytb $\rightarrow$ $Cytc_1$ $\rightarrow$ Cytc $\rightarrow$ $Cyt(a+a_3) \rightarrow O_2$



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Nếu so sánh kết quả về lượng ATP được tạo thành từ các cơ chất khác nhau thì sẽ thấy rằng:

+ Sự oxy hoá NADH hoàn toàn sẽ cho 3 ATP.

+ Sự oxy hoá succinat chỉ cho 2 ATP, các electron đi từ $FADH_2$ vào chuỗi vận chuyển electron ở vị trí coenzym Q có mức năng lượng thấp hơn sự phosphoryl hoá ở vị trí 1.

+ Sự oxy hoá ascorbat sẽ chỉ cho 1 ATP vì electron của ascorbat chuyển tới cytocrom c ở mức năng lượng thấp hơn sự phosphoryl hoá ở vị trí 2.

– Tỷ số P/O là số phân tử phosphat vô cơ được chuyển thành dạng hữu cơ đối với sự tiêu thụ một nguyên tử oxy. Tỷ số này biểu thị sự tương quan giữa quá trình phosphoryl hoá và sự oxy hoá khử tế bào, được gọi là chỉ số phosphoryl oxy hoá.

+ Tỷ số P/O đối với sự oxy hoá NADH là 3

+ Tỷ số P/O đối với sự oxy hoá succinat là 2

+ Tỷ số P/O đối với sự oxy hoá ascorbat là 1

+ Tỷ số P/O đối với sự oxy hoá cơ chất có thế năng oxy hoá khử thấp hơn NADH như phospho glyceraldehyd là 4 (thêm một ATP tạo ra khi electron từ cơ chất chuyển tới NAD^+.

– Trong quá trình nghiên cứu chuyển vận electron, người ta tìm thấy các chất ức chế đặc hiệu, tác động vào một số vị trí trong chuỗi hô hấp tế bào. Một số chất điển hình là:

+ Rotenon: ức chế đặc hiệu quá trình chuyển electron từ NADH - dehydrogenase tới coenzym Q. Điều này làm cho quá trình tổng hợp ATP ở vị trí 1 bị chặn lại.

Ngược lại, rotenon không ức chế oxy hoá succinat vì electron vẫn được chuyển từ cơ chất tới coenzym Q.

+ Antimycin: ức chế quá trình chuyển electron giữa cytocrom b và cytocrom carbon C_1, do đó chặn tổng hợp ATP ở vị trí 2. Ascorbat có khả năng vượt chặng bị chặn này, vì nó khử trực tiếp cytocrom c, electron chuyển từ cytocrom c tới oxy với sự tổng hợp song song ATP ở vị trí 3.

CN^- và CO: chặn tổng luồng electron giữa cytocrom ($a + a_3$) và oxy, dẫn đến việc không có sự phosphoryl hoá ADP thành phần ATP ở vị trí 3.

2.5.4. Điều hoà sự phosphoryl oxy hoá

– Nhu cầu ATP: trong những điều kiện sinh lý, sự vận chuyển electron gắn liền với quá trình phosphoryl hoá nghĩa là electron sẽ không được vận chuyển bình thường qua chuỗi hô hấp tế bào tới oxy nếu không có sự phosphoryl hoá ADP thành ATP xảy ra song song.

Điều kiện của sự phosphoryl oxy hoá là cần cơ chất, những chất vận chuyển trung gian electron, oxy, ADP và phosphat vô cơ, trong đó yếu tố quyết định là mức ADP.

THƯ VIỆN HUBT

Tốc độ tiêu thụ oxy của dịch nghiền đồng nhất mô tăng rõ nét khi cho thêm ADP vào môi trường và tốc độ này trở lại mức ban đầu khi ADP được chuyển hết thành ATP.

Sự điều hoà tốc độ quá trình phosphoryl oxy hoá bởi mức ADP gọi là quá trình điều hoà hô hấp. Tầm quan trọng sinh lý của cơ thể điều hoà này rất rõ. Lượng ADP tăng khi ATP bị phá huỷ và như vậy, sự phosphoryl oxy hoá được

ghép với sự sử dụng ATP. Electron không được chuyển vận từ các phân tử chất đốt tới oxy nếu không có nhu cầu tổng hợp ATP.

– *Chất phá ghép:* hiện tượng phá ghép và quá trình phosphoryl hoá trong phản ứng oxy hoá khử của tế bào có sự liên quan với nhau. Có chất phá ghép không ảnh hưởng đến quá trình vận chuyển điện tử, nhưng vẫn ngăn chặn sự phosphoryl hoá chuyển ADP thành ATP. Sự phá ghép giữa phản ứng cung cấp năng lượng và phản ứng dự trữ năng lượng. Sự rối loạn điều hoà hô hấp này gây sự tăng tiêu thụ oxy, kích thích tăng oxy hoá NADH. Chất phá ghép điển hình được nghiên cứu là 2,4 dinitrophenol (DNP). Có thể hiện tượng phá ghép là hiện tượng có ích về mặt sinh học, đó là biện pháp tạo nhiệt để giữ vững thân nhiệt ở những động vật đông miên, ở một số động vật mới sinh, ở những loại động vật có vú thích nghi với lạnh. Trong cơ thể, acid béo tác dụng như chất phá ghép ở mô mỡ sẫm, ngược lại adrenalin, noradernalin gây giải phóng acid béo.

2.5.5. Cơ chế của sự phosphoryl hoá

Cơ chế của sự phosphoryl hoá hết sức phức tạp, sự liên quan giữa hô hấp tế bào đến quá trình phosphoryl hoá và tổng hợp ATP đã rõ ràng. Tuy vậy, về mặt cơ chế, quá trình phosphoryl hoá đã được nhiều nhà khoa học tranh luận và đưa ra được một nhận xét chung về sự tham gia của enzym vào quá trình vận chuyển điện tử. Quá trình phosphoryl rất phức tạp, được cư trú ở màng trong của ty thể, có thể gồm ba thuyết: thuyết ghép hoá học, thuyết ghép cấu hình, và thuyết thẩm thấu hoá học.

– *Thuyết ghép hoá học:*

Năm 1953, Slater cho rằng sự vận chuyển điện tử được ghép với tổng hợp ATP qua một loạt phản ứng với một chất trung gian đồng hoá trị có năng lượng cao, tạo thành do quá trình vận chuyển điện tử. Chẳng hạn ở một hệ thống giữa chất cho là AH_2 và chất nhận là B, năng lượng của phản ứng oxy hoá khử này không được sử dụng trực tiếp để phosphoryl hoá ADP thành ATP. Trong ty thể một chất trung gian tạo thành để thực hiện quá trình này như sau:

$$AH_2 + B + C \longrightarrow A \sim C + BH_2$$

$$A \sim C + ADP + Pi \longrightarrow A + C + ATP$$

Hợp chất C có thể kết hợp tạm thời với phosphat (Pi) tạo hợp chất giàu năng lượng C~P rồi hợp chất này chuyển nhóm phosphat cho ADP để hình thành ATP.

Chất trung gian giàu năng lượng A~C có vai trò tương tự như chất trung gian 3 - phosphoglycerol phosphat trong quá trình đường phân tạo ATP.

3-phosphoglyceraldehyd + Pi + NAD^+ → 1,3 diphosphoglycerat + NADH +H^+

1,3 diphosphoglycerat + ADP → 3 phosphoglycerat + ATP

Quá trình trên chịu tác dụng của dinitrophenol là chất phá ghép.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Thuyết ghép cấu hình:*

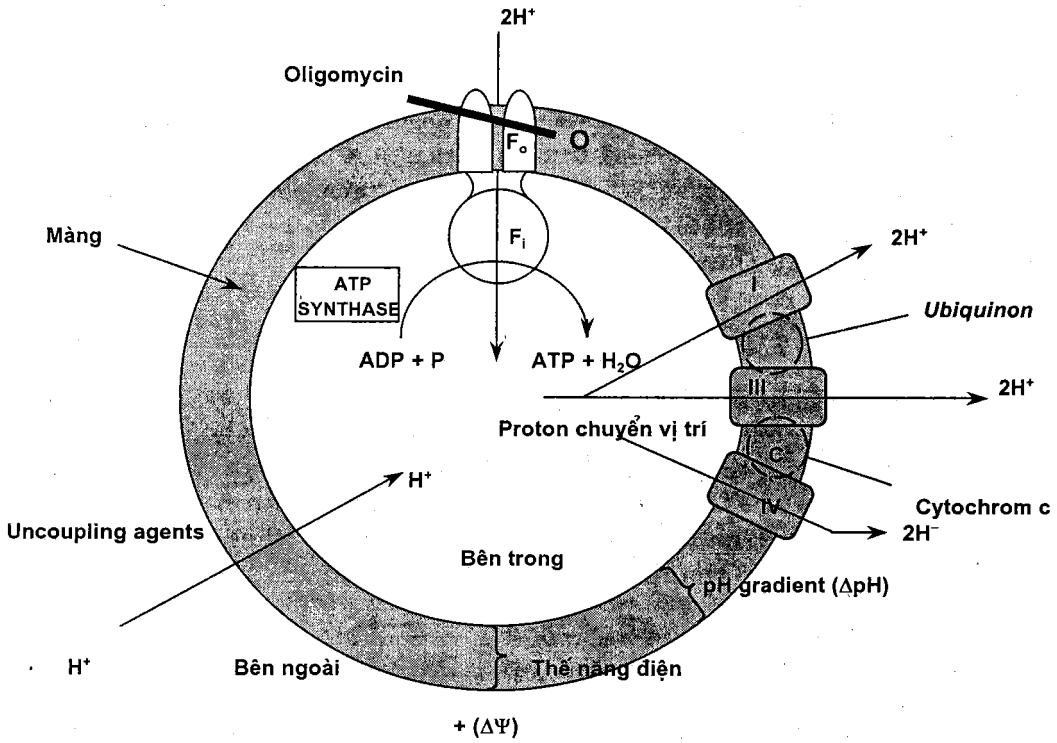
Theo Green và Boyer thì sự vận chuyển điện tử trong quá trình hô hấp tế bào tạo ra sự thay đổi cấu hình các chất mang điện tử, ion H^+ có bản chất protein

của màng trong ty thể, làm cho chúng có năng lượng cao. Có thể sự thay đổi cấu hình này làm thay đổi ATPase trở thành năng lượng cao liên quan đến tổng hợp ATP như sau:

$$ADP + Pi \underset{\text{Cao năng}}{\overset{\text{ATPase}}{\rightleftharpoons}} ATP + H_2O$$

– *Thuyết thẩm thấu hoá học (chemiosmotic):*

Năm 1961, nhà sinh hoá người Anh, Peter Mitchell cho rằng màng trong của ty thể không cho qua các proton. Các phản ứng oxy hoá của chuỗi hô hấp tế bào hướng vào phía trong của màng có nhiệm vụ đưa proton từ trong khuôn (matrix) ra ngoài qua màng trong của ty thể tạo ra một gradient điện hoá học của H^+ (như hình 7.8). Trong mô hình này, F_o, F_1 là tiểu đơn vị protein của chuỗi hô hấp tế bào.



Hình 7.8. Nguyên tắc của thuyết thẩm thấu hoá học

Phức hợp I, III và IV có tác dụng như bơm proton. Sự tổng hợp ATP bị ức chế bởi oligomycin thông qua Fo.

Chuỗi vận chuyển điện tử được xem như "bơm H^+" hoạt động trên bề mặt của các chất vận chuyển hydro nhờ coenzym NAD, FAD, UQ làm tăng nồng độ ion H^+ ở phía trong của màng (giảm pH) và giảm nồng độ ion H^+ ở phía trong matrix (tăng pH). Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển điện tử được sử dụng để bơm H^+ từ matrix ra ngoài. Quá trình vận chuyển ion H^+ cũng tạo ra điện thế qua màng dương ở phía ngoài màng. Những ion H^+ ở phía ngoài trở lại matrix theo chiều gradient điện hoá qua hệ thống FoF_1 ATPase.

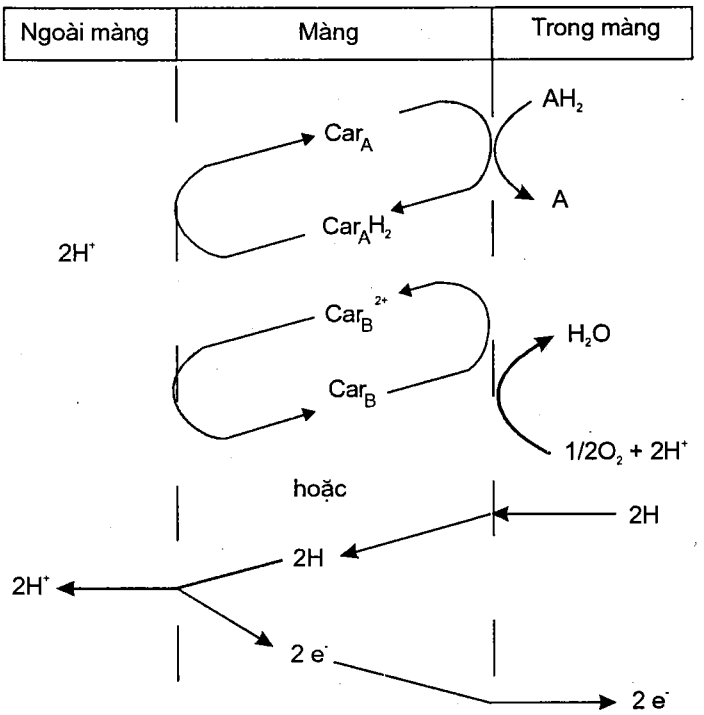
THƯ VIỆN HUBT

Quá trình tạo ATP nhờ năng lượng tự do được giải phóng khi H^+ chuyển qua vùng có nồng độ ion H^+ thấp nhất.

Giả thuyết này đề xuất chu trình liên tục thay đổi nồng độ H^+ trong quá trình oxy hoá khử bởi sự vận chuyển proton (hình 7.9) như protein mang Car. A và Car.B.

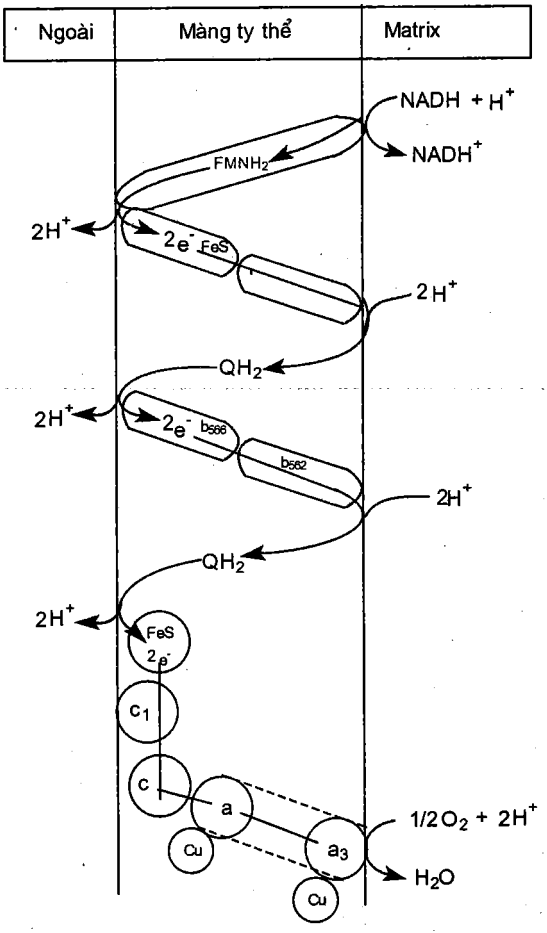
Thuyết thẩm thấu hoá học được giải thích và làm rõ trong quá trình hô hấp tế bào, vai trò của semiquinon (QH), cytocrom oxidoreductase tác động như bơm proton. Sự liên quan vận chuyển điện tử, proton được hệ thống ở hình 7.10.

Quá trình phosphoryl hoá xảy ra ở trên những đơn vị nhỏ gồm hai tiểu đơn vị protein F_1 và Fo ở màng bề mặt của matrix của mitochondrie. Bằng phương pháp siêu âm có thể tách được các phần này, đơn vị F_o nằm ở màng matrix, đơn vị F_1 nằm ở phía ngoài gắn chặt với đơn vị F_o.



Hình 7.9. Sự vận chuyển proton trong quá trình oxy hoá khử

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 7.10. Quá trình vận chuyển proton
và điện tử theo giả thuyết thẩm thấu hoá học

2.5.6. Vai trò của phosphoryl hoá

Phosphoryl hoá có vai trò rất quan trọng trong sự phát triển của sinh vật. Có thể nói ngừng phosphoryl hoá sinh vật sẽ không tồn tại. Phosphoryl hoá có nhiều vai trò quan trọng trong các chuyển hoá đồng hoá cũng như dị hoá bởi những phản ứng mở đầu hay tích trữ năng lượng.

– Tích trữ và vận chuyển năng lượng: năng lượng giải phóng từ các quá trình thoái hoá được dự trữ trong các liên kết phosphat của ATP nhờ phản ứng phosphoryl hoá.

THƯ VIỆN HUBT

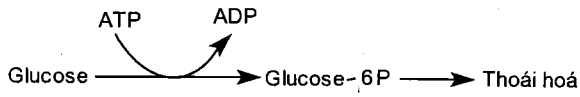
$$ADP + Pi \rightarrow ATP$$

Khi cơ thể cần năng lượng hoạt động của cơ thể như co cơ thì ATP dễ dàng thuỷ phân để giải phóng năng lượng. Về mặt năng lượng, ATP được coi là năng lượng của cơ thể ở dạng dự trữ.

– Hoạt hoá các chất hữu cơ: một số chất chỉ tham gia chuyển hoá sau khi được phosphoryl hoá.

+ Trong thoái hoá các chất:

Nhiều chất trước khi thoái hoá cần được phosphoryl hoá, ví dụ thoái hoá glucose.

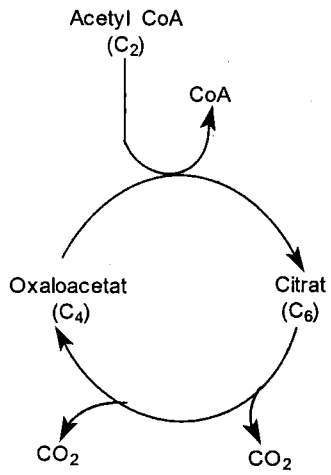


Acid béo muốn thoái hoá cần có ATP để hoạt hoá acid béo.

+ Trong quá trình tổng hợp: nhiều quá trình tổng hợp như tổng hợp glycogen, protein cần được hoạt hoá.

– Quá trình hấp thu tích cực: nhiều quá trình hấp thu tích cực của các loại đường, lipid cần có vai trò phosphyl hoá.

3. Chu trình acid citric (chu trình Krebs)

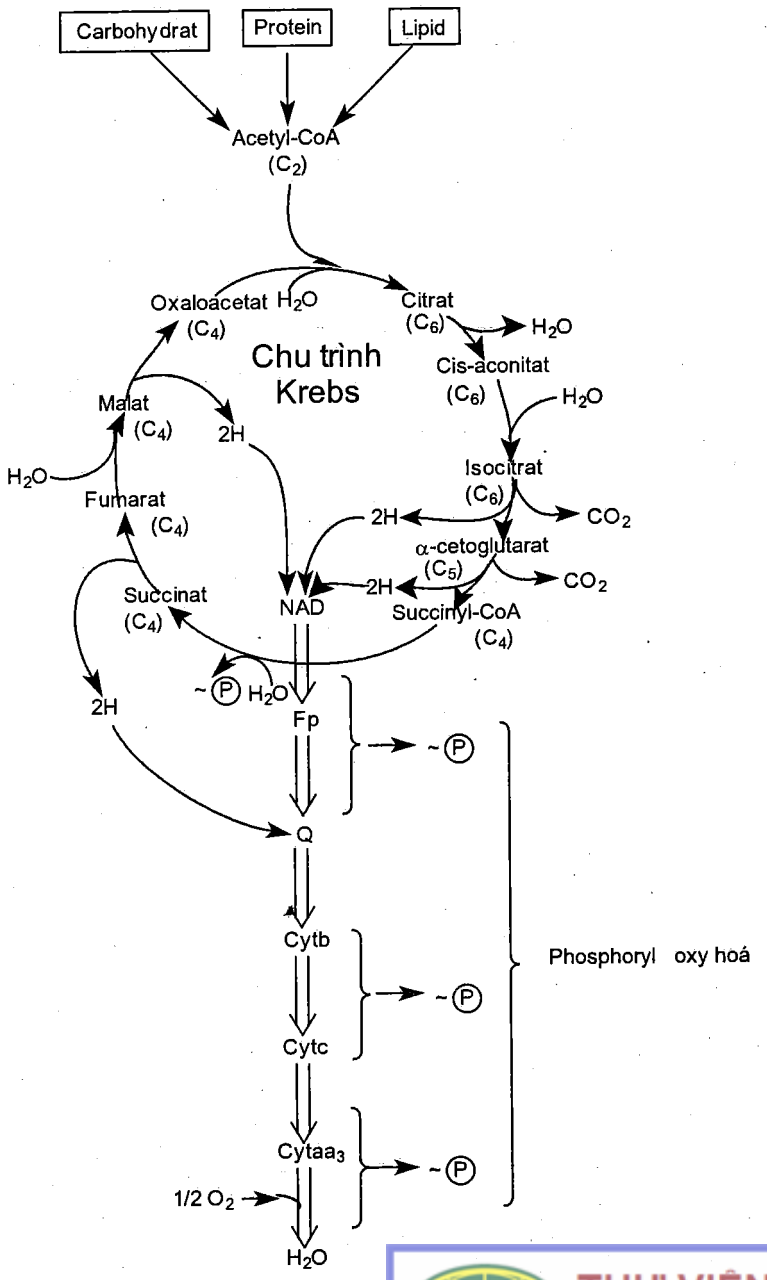


Hình 7.11. Chu trình Krebs với chất mồi xúc tác oxaloacetat

Chu trình Krebs do Krebs tìm ra năm 1937, còn gọi là chu trình acid citric hay tricarboxylic. Sản phẩm thoái hoá của glucose, lipid, protid là các mẩu acetyl-CoA được đốt cháy trong chu trình Krebs với chất mồi oxaloacetic (hình 7.11), bị đốt cháy liên tiếp giải phóng nhiều năng lượng, CO_2 và nước. Quá trình tạo nước được tiếp diễn thông qua sự vận chuyển hydro từ chu trình Krebs vào chuỗi hô hấp tế bào tạo ra nhiều năng lượng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.1. Vai trò thoái hoá của chu trình acid citric



⇒ – Chuỗi hô hấp tế bào

Fp – Flavoprotein

Cyt – cytocrom

~Ⓟ – Dây nối phospho giàu năng lượng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 7.12. Những bước đường chủ yếu của chu trình Krebs và chuỗi hô hấp tế bào

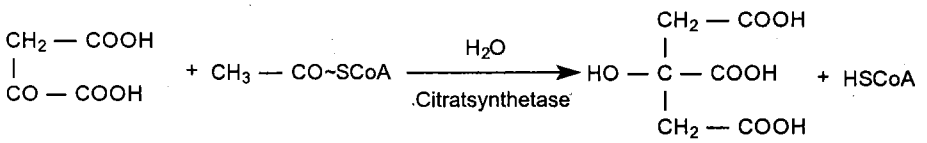
Sản phẩm đầu tiên của chu trình acid citric là sự hình thành acid citric từ acetyl - CoA có 2 carbon với acid oxaloacetic là acid hữu cơ dicarbonxylic có 4 carbon. Tiếp đó hàng loạt phản ứng xảy ra loại 2 phân tử CO_2 và tạo oxaloacetic mới và quá trình lại tiếp tục tiếp diễn. Sự thoái hoá acetyl-CoA trong chu tình Krebs tạo nhiều năng lượng, đó là sự khử hydro, vận chuyển điện tử trong chuỗi hô hấp tế bào để sản sinh lượng lớn ATP nhờ phản ứng phosphoryl hoá (hình 7.12). Enzym của chu trình Krebs nằm ở matrix ty thể ở dạng tự do gắn với bề mặt của màng ty thể.

3.2. Các giai đoạn của chu trình acid citric

Chu trình acid citric chia làm 8 giai đoạn

3.2.1. Ngưng tụ acetyl-CoA với oxaloacetic

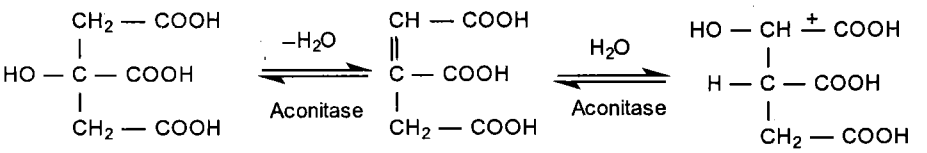
Phản ứng ngưng tụ oxaloacetic (4C) với acetyl - CoA (2C) loại ra một phân tử coenzym A để tạo thành acid citric nhờ xúc tác của enzym citrat synthetase



A.oxaloacetic Acetyl-CoA A. citric Coenzym A

3.2.2. Đồng phân hoá citrat thành isocitrat

Dưới sự xúc tác của enzym aconitase, phản ứng xảy ra hai giai đoạn: giai đoạn khử nước và giai đoạn hợp nước, acid isocitric được hình thành, mất dạng đối xứng của acid citric.



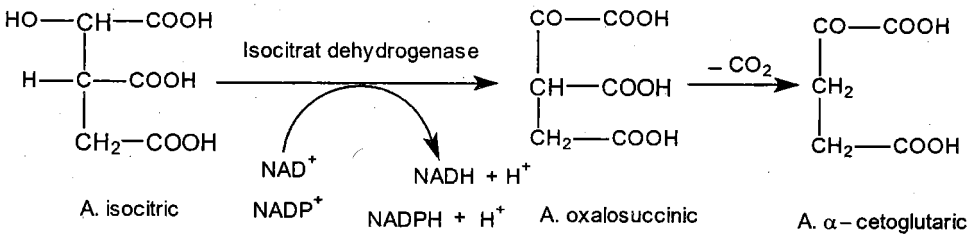
A. citric **A. cisaconitic** **A. isocitric**

3.2.3. Khử carboxyl oxy hoá isocitrat thành α-cetoglutarat

Phản ứng xúc tác bởi enzym isocitrat dehydrogenase của ty thể coenzym NAD^+ tạo chất trung gian oxalosuccinat. Ngoài coenzym NAD^+, còn có $NADP^+$ tương ứng với một enzym tìm thấy ở dịch gian bào.

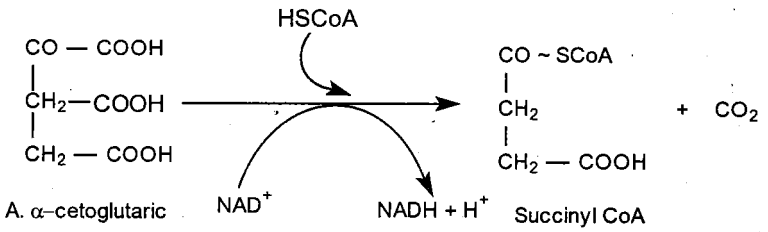
Tiếp theo phản ứng khử hydro là phản ứng khử carboxyl ở vị trí β của nhóm ceton tạo ra chất trung gian. Sản phẩm phản ứng là acid α-cetoglutaric có 5 carbon.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

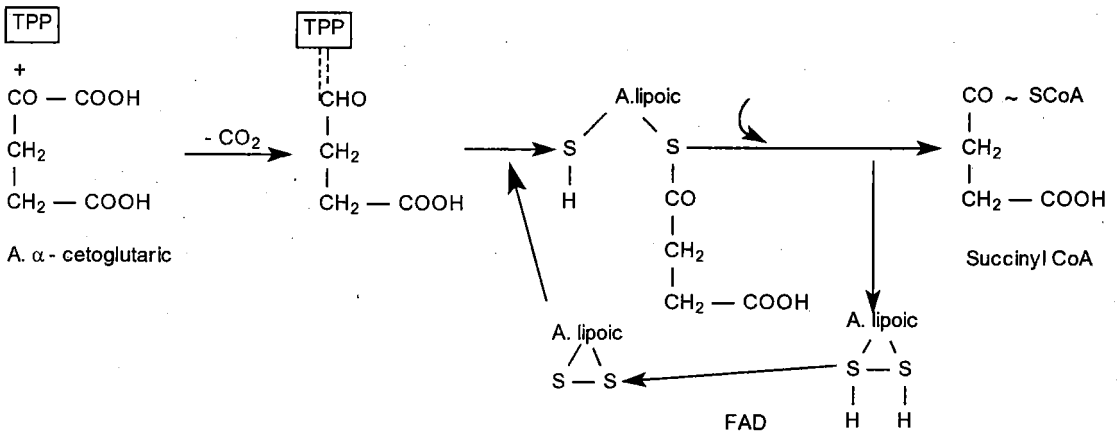


3.2.4. Khử carboxyl oxy hoá α-cetoglutarat thành succinyl CoA

Khử carboxyl oxy hoá acid α-cetoglutaric thành succinyl CoA được xúc tác bởi một phức hợp đa men, gọi là α-cetoglutarat dehydrogenase có 5 coenzym tham gia là TPP, acid lipoic, CoA, FAD và NAD^+. Với ba enzym xúc tác là α-cetoglutarat dehydrogenase, trans-succinylase, dihydro lipoyl dehydrogenase. Quá trình xảy ra như sau:



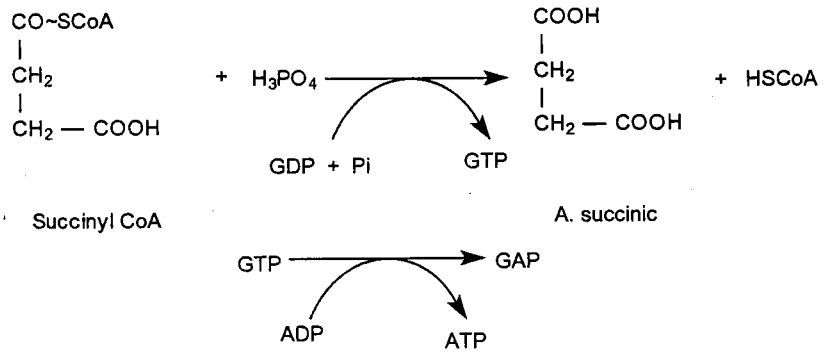
Cơ chế phản ứng:



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

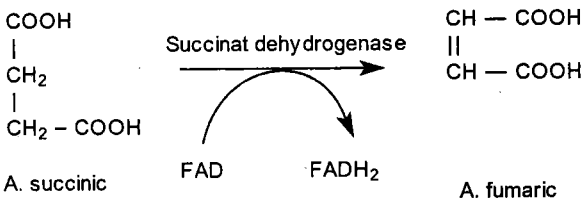
3.2.5. Tạo acid succinic từ succinyl CoA

Dưới tác dụng xúc tác của enzym succinat thiokinase,acid succinic được hình thành và năng lượng duy nhất được cung cấp trực tiếp 1 dây nối giàu năng lượng trong chu trình Krebs tạo được 1 ATP.



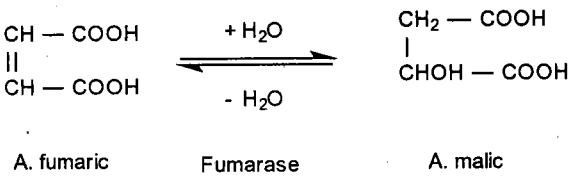
3.2.6. Oxy hoá succinat thành fumarat

Dưới tác dụng của succinat dehydrogenase có coenzym FAD, FAD gắn đồng hoá trị với mạch nhánh histidin của enzym. Enzym này chứa 4 nguyên tử Fe và 4 nhóm -SH và 2 nhân flavin của FAD, đây là chất điển hình chứa Fe không hem. Hai điện tử của $FADH_2$ được chuyển trực tiếp lên Fe^{3+} của enzym.



3.2.7. Hydrat hoá fumarat thành malat

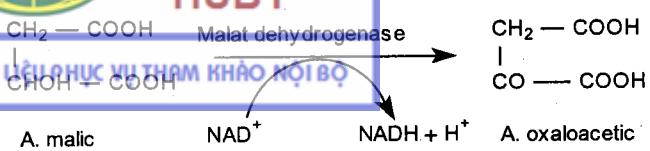
Dưới tác dụng xúc tác của enzym fumarase, một enzym giống aconitase, malat được hình thành từ fumarat.



3.2.8. Oxy hoá malat thành oxaloacetat

Nhờ xúc tác của enzym malat dehydrogenase, nhóm chức alcol của acid malic bị oxy hoá thành nhóm chức ceton, dưới tác dụng của malat dehydrogenase có coenzym NAD^+.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Phản ứng cuối cùng này đóng vòng chu trình acid citric và phân tử oxaloacetic mới hình thành có thể tiếp tục ngưng tụ với một phân tử acetyl CoA khác.

3.3. Kết quả của chu trình acid citric

Toàn bộ kết quả của chu trình acid citric được thấy ở hình 7.13.

– Kết quả của chu trình là sự oxy hoá hoàn toàn gốc acetyl. Có hai phản khử carboxyl, loại carbon dưới dạng CO_2 và bốn phản ứng oxy hoá chuyển tám nguyên tử hydro thành H_2O. Cần thấy rằng, carbon chuyển thành CO_2 không phải là carbon của acetyl-CoA mà thuộc về hai gốc carboxyl của acid oxaloacetic ban đầu.

– Hai nguyên tử carbon dưới dạng acetyl-CoA đi vào chu trình qua sự ngưng tụ với acid oxaloacetic. Hai nguyên tử carbon thuộc acid oxaloacetic ra khỏi chu trình dưới dạng CO_2, trong 2 quá trình khử carboxyl dưới tác dụng của isocitrat dehydrogenase và α-cetoglutarat dehydrogenase.

– Bốn cặp nguyên tử hydro ra khỏi chu trình qua bốn phản ứng oxy hoá khử:

+ Một NAD^+ bị khử oxy trong phản ứng khử carboxyl oxy hoá acid isocitric.

+ Một NAD^+ bị khử oxy trong phản ứng khử carboxyl oxy hoá acid α-cetoglutaric.

+ Một FAD bị khử oxy trong phản ứng oxy hoá acid succinic.

+ Một NAD^+ bị khử oxy trong phản ứng oxy hoá acid malic.

– Hai phân tử H_2O được sử dụng trong quá trình tổng hợp acid citric và hydrat hoá acid fumaric.

– $NADH_2$ và $FADH_2$ được tạo ra trong các phản ứng oxy hoá của chu trình sẽ bị oxy hoá qua chuỗi hô hấp tế bào để giải phóng năng lượng, tổng hợp ATP.

Nếu đi từ $NADH_2$ ta sẽ thu được 3 ATP.

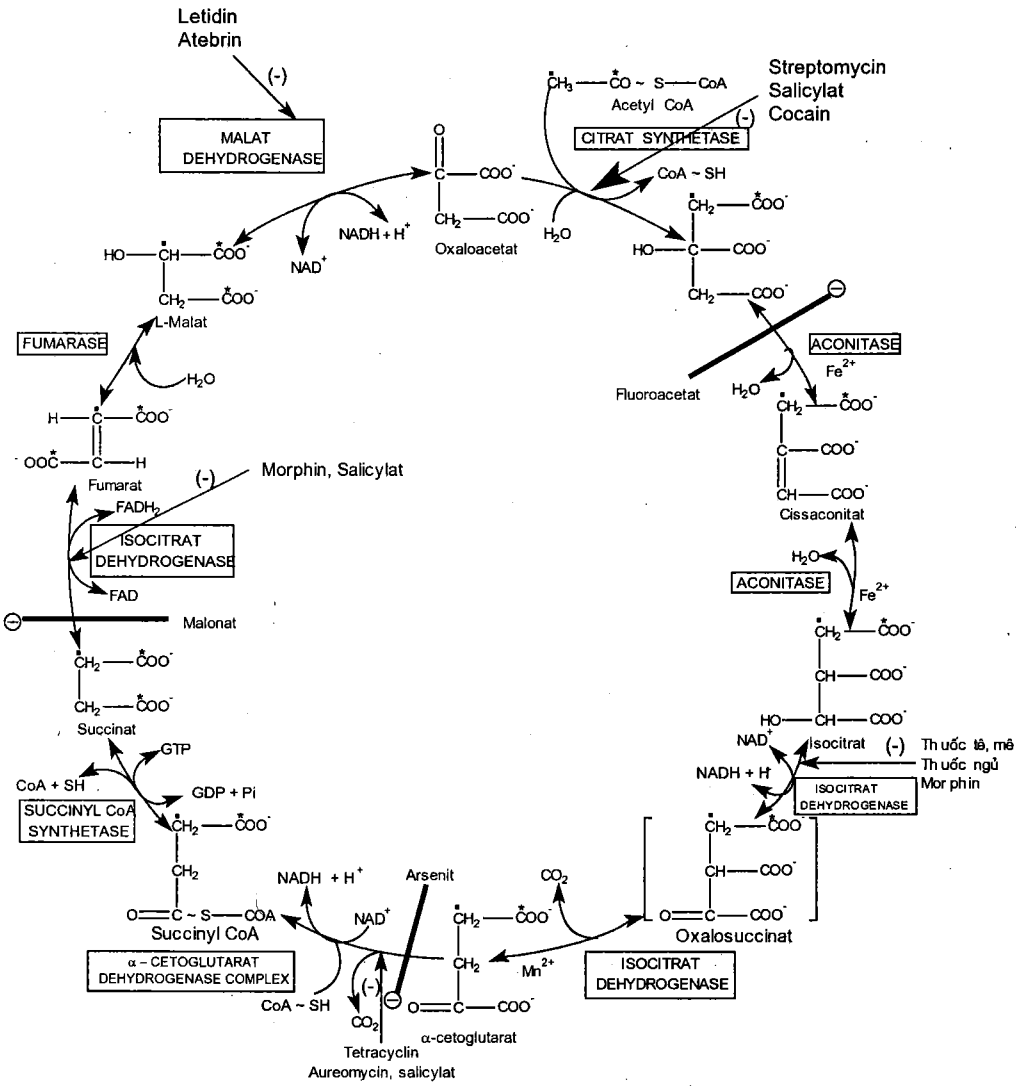
Nếu đi từ $FADH_2$, ta sẽ thu được 2 ATP.

Tổng cộng lại khi ba phân tử $NADH_2$ và một phân tử $FADH_2$ được oxy hoá hoàn toàn qua chuỗi hô hấp tế bào sẽ thu được mười một liên kết phosphat giàu năng lượng trong ATP.

– Một liên kết phosphat giàu năng lượng (dưới dạng GTP) hình thành từ liên kết thioeste giàu năng lượng trong succinyl CoA, tạo một ATP.

Tóm lại: một vòng của chu trình acid citric đốt cháy một phân tử hai carbon sẽ cung cấp năng lượng dự trữ tương đương 12ATP. Thực tế thì trong chu trình acid citric có nhiều phản ứng giải phóng năng lượng nhưng chỉ có một phần năng lượng được giữ lại (12ATP), còn phần còn lại toả ra dưới dạng nhiệt năng. Fluoro acetat, arsenit, malonat gây ức chế chu trình Krebs.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

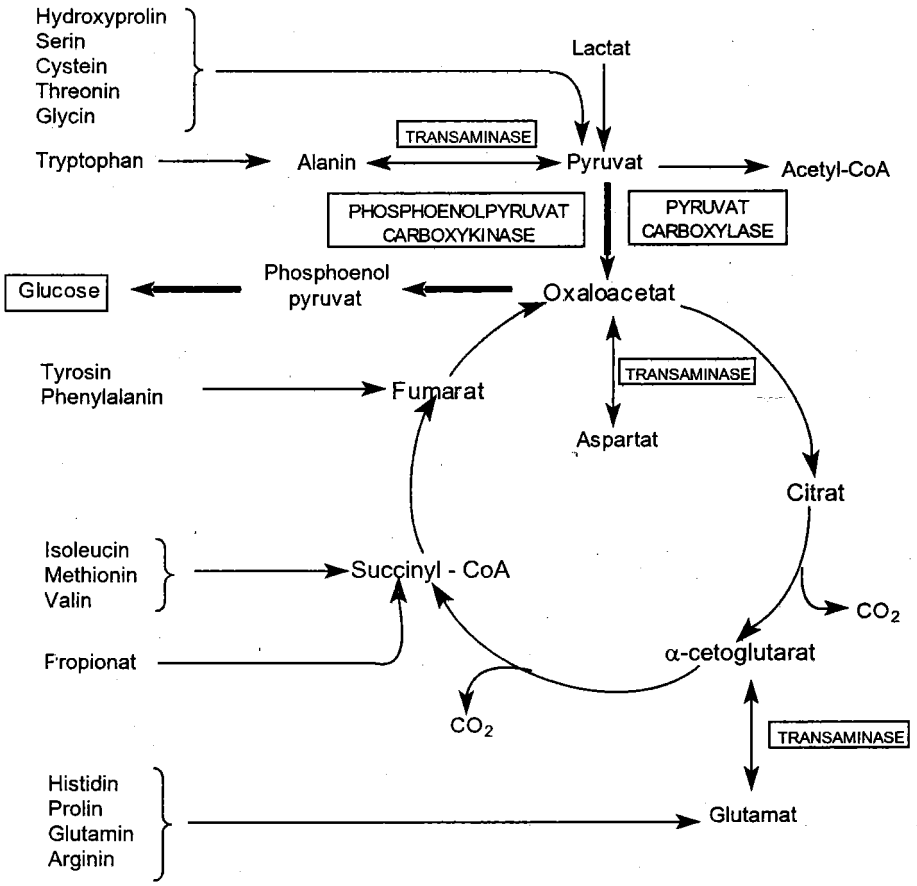


Hình 7.13. Sơ đồ chu trình acid citric (chu trình Krebs)

3.4. Ý nghĩa của chu trình acid citric

Chu trình Krebs là giai đoạn thoái hoá cuối cùng chung cho glucid, lipid, protid. Chu trình xảy ra trong điều kiện hiếu khí, có hiệu ứng cao về mặt năng lượng. Chu trình cung cấp nhiều năng lượng dưới dạng ATP cần thiết cho nhiều quá trình chuyển hoá khác. Chu trình Krebs xảy ra ở ty thể, liên quan khăng khít với quá trình chuyển hoá đường xảy ra ở bào tương (hình 7.14), với nhiều chuyển hoá khác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 7.14. Chu trình acid citric trong quá trình chuyển hoá glucose

Chu trình Krebs còn là nơi cung cấp các sản phẩm trung gian cần thiết của cơ thể như oxaloacetic, acid α- cetoglutaric, succinyl CoA, acid fumaric. Đó là vị trí nối liền giữa chu trình acid tricarbonylic với các chu trình và chuyển hoá khác trong cơ thể. Do vậy, chu trình acid citric trở thành vị trí trung tâm điều hoà các chất trong cơ thể.

3.5. Điều kiện hoạt động và sự điều hoà chu trình Krebs

3.5.1. Điều kiện hoạt động của chu trình

Chu trình Krebs xảy ra trong điều kiện hiếu khí. Hydro tách ra từ chu trình kết hợp với oxy qua chuỗi hô hấp tế bào để sản sinh nhiều năng lượng.

Tốc độ của chu trình phụ thuộc vào sự tiêu thụ ATP. Trong quá trình tách hydro, chu trình Krebs đòi hỏi sự có mặt của NAD^+, FAD. Dạng khử $NADH_2$ và $FADH_2$ khi chuyển hydro tới oxy sẽ tạo năng lượng ATP. Tốc độ chu trình giảm khi mức độ ATP trong tế bào cao.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.5.2. Sự điều hoà chu trình Krebs

Sự điều hoà chu trình acid citric phức tạp, phụ thuộc nhiều yếu tố:

– Điểm điều hoà quan trọng trong chu trình acid citric là sự ức chế của ATP kiểu dị lập thể của enzym citrat synthetase, ngăn chặn sự hình thành acid citric. ATP làm giảm giá trị K_m của enzym đối với acetyl-CoA. Khi lượng ATP nhiều sẽ làm tăng mức bão hoà enzym bởi acetyl-CoA nên giảm hình thành acid citric.

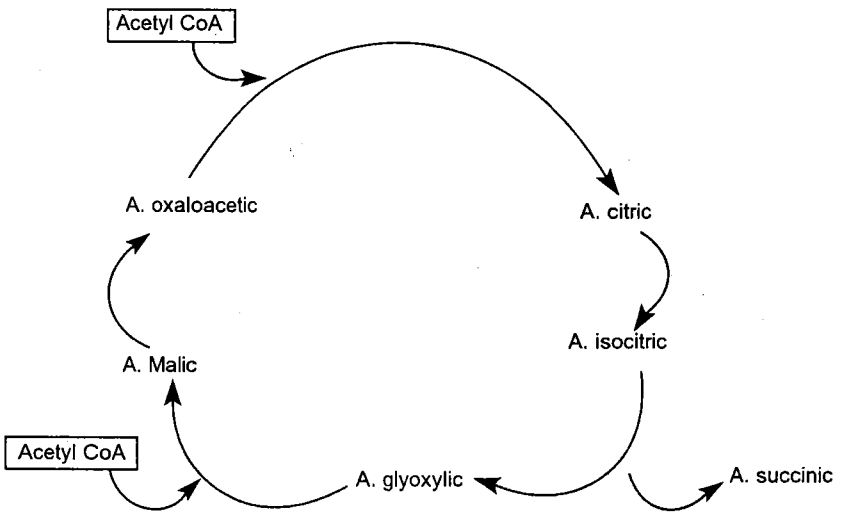
– Điểm điều hoà thứ hai là phản ứng được xúc tác bởi isocitrat dehydrogenase, được hoạt hoá dị lập thể bởi ADP nên ái lực của nó đối với cơ chất sẽ tăng. Sự gắn acid citric, NAD^+, Mg^{2+}, ADP phối hợp tương trợ nhau tạo điều kiện cho enzym hoạt động. Ngược lại, $NADH_2$ ức chế isocitrat dehydrogenase bằng cách đẩy chỗ của NAD^+.

– Điểm điều hoà thứ 3 trong chu trình là phản ứng xúc tác bởi α-cetoglutarat dehydrogenase. Cơ chế điều hoà giống như phản ứng xúc tác bởi enzym pyruvat dehydrogenase. Sản phẩm succinyl CoA, $NADH_2$ và ATP nồng độ cao ức chế phản ứng.

3.6. Chu trình acid glyoxylic

Một số vi khuẩn và nấm mốc còn có quá trình chuyển hoá trung gian của các hợp chất carbon bởi một chu trình hơi khác chu trình Krebs, gọi là chu trình acid glyoxylic.

Tóm tắt sơ dồ như sau (hình 7.15)



Hình 7.15. Chu trình acid glyoxylic

Trong chu trình glyoxylic có hai đặc tính là:

– Acid isocitric được phân tách thành acid succinic và acid glyoxylic nhờ enzym isocitrat lyase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các giai đoạn thoái hoá:

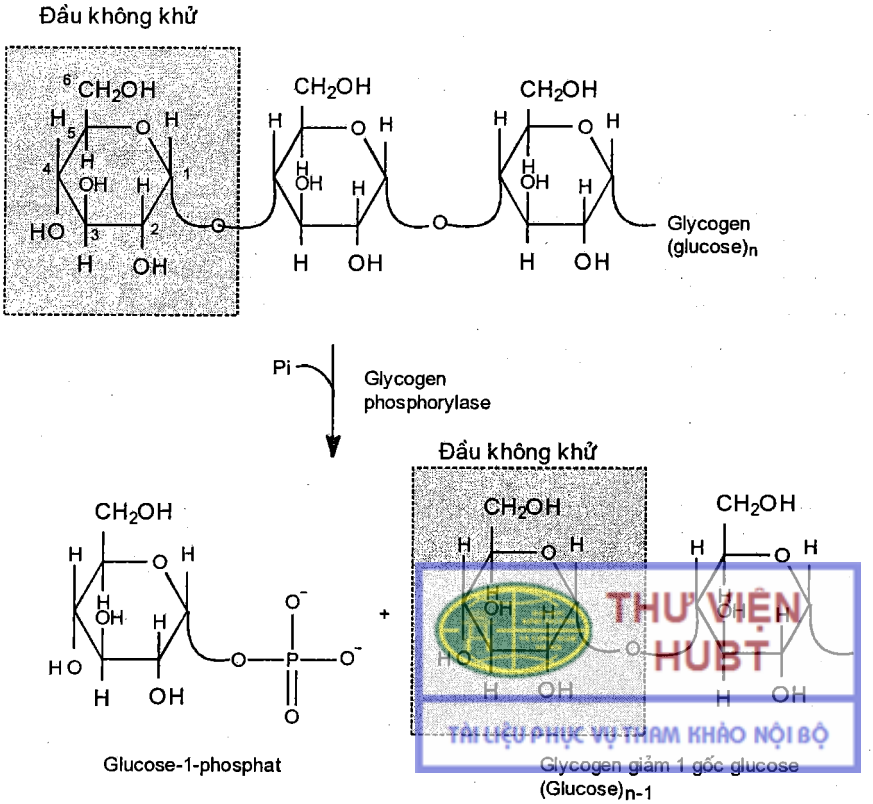
Hai enzym chính tham gia vào quá trình thoái hoá glycogen thành glucose là glycogen phosphorylase và phosphoglucomutase. Có thể chia thành 3 giai đoạn:

– *Giai đoạn thuỷ phân mạch thẳng của glycogen:*

Glycogen phosphorylase xúc tác phản ứng cắt gốc glucose tận cùng ở đầu không khử của mạch thẳng glycogen. Đó là phản ứng thuỷ phân liên kết α1 → 4 glucosid với sự tham gia của phosphat vô cơ (Pi) tạo thành α -D-glucose-1-phosphat (G1P) và chuỗi mạch thẳng của phân tử glycogen ngắn đi 1 phân tử glucose (hình 8.2). Quá trình này được lặp lại nhiều lần, tách dần từng gốc glucose dưới dạng G1P cho tới khi mạch đang thoái hoá chỉ còn lại 4 đơn vị glucose tại một điểm nhánh (α1 → 6) thì dừng lại (hình 8.3).

+ Phản ứng xúc tác của phosphorylase này không giống với phản ứng thuỷ phân liên kết glucosid bởi amylase trong ống tiêu hoá đối với glycogen hay tinh bột. Một số năng lượng của liên kết được giữ lại trong quá trình tạo este G1P.

+ Pyridoxal phosphat là cofactor chủ yếu trong phản ứng xúc tác của glycogen phosphorylase, nhóm phosphat của nó đóng vai trò là một chất xúc tác acid kích thích Pi tấn công vào liên kết glucosid (khác với vai trò cofactor của pyridoxal phosphat trong chuyển hoá acid amin).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.2. Phản ứng xúc tác của glycogen phosphorylase tạo G1P và glycogen ngắn hơn 1 glucose

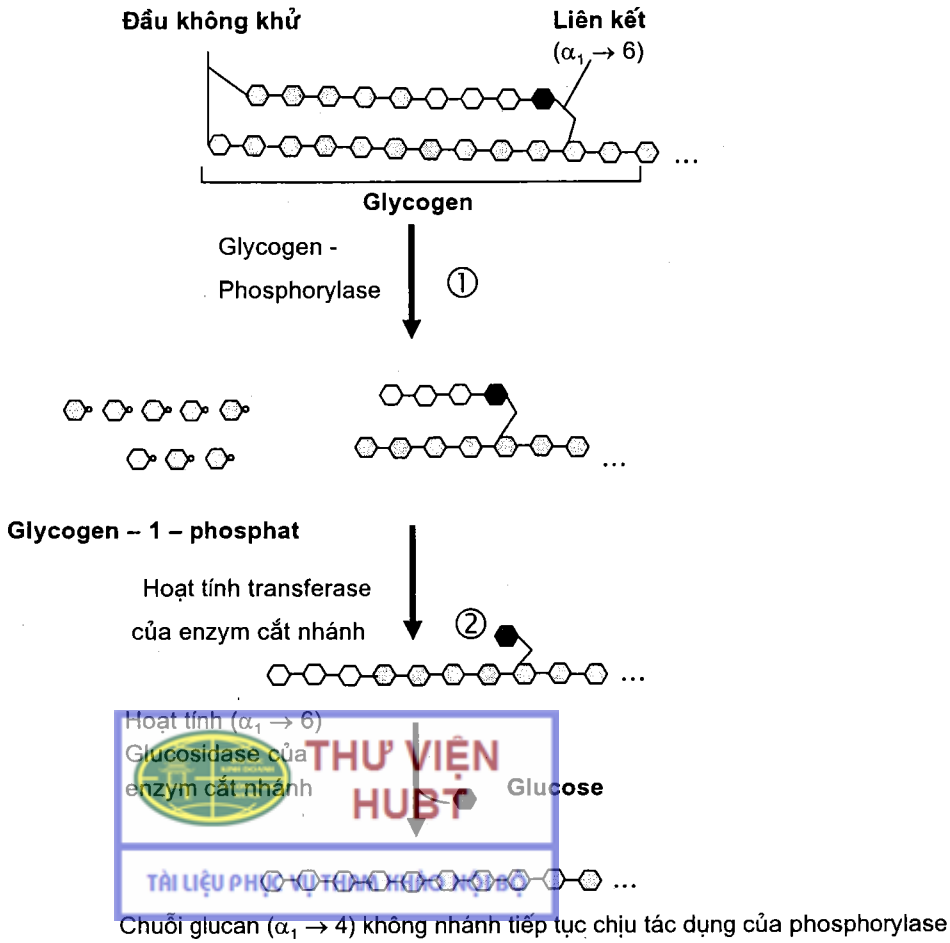
– *Giai đoạn cắt các mạch nhánh của glycogen (hình 8.3):*

Tiếp theo giai đoạn xúc tác của glycogen phosphorylase ở trên, 4 gốc glucose cạnh điểm nhánh được loại ra theo một quá trình gồm 2 bước nhờ tác dụng của enzym cắt nhánh (debranching enzyme). Enzym này có 2 chức năng:

+ Chức năng vận chuyển: có tác dụng vừa chuyển chuỗi 3 gốc glucose từ nhánh tới một đầu không khử cạnh nó, vừa gắn chuỗi lại bằng liên kết ($\alpha_1 \rightarrow 4$) [Enzym oligo ($\alpha_1 \rightarrow 6$)–($\alpha_1 \rightarrow 4$) glucan transferase hay còn gọi là amylo (α_1–6→1–4) trans-glucosidase].

+ Chức năng cắt nhánh: có tác dụng cắt gốc glucose còn lại tại điểm nhánh (α1→), giải phóng glucose dưới dạng tự do [enzym ($\alpha_1 \rightarrow$) glucosidase hay còn gọi là amylo ($\alpha_1 \rightarrow$ 6) glucosidase].

Phản ứng cắt nhánh cho phép phosphorylase tiếp tục hoạt động để đi đến thoái hoá hoàn toàn phân tử glycogen. Như vậy, sản phẩm của hai giai đoạn thoái hoá glycogen nói trên là glucose-1-phosphat (G1P) chiếm khoảng 93% và glucose tự do khoảng 7%.



Hình 8.3. Hai giai đoạn thoái hoá glycogen → glucose

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TỪ XA HỌC NỘI BỘ

– *Giai đoạn biến đổi G1P thành glucose:*

Ở các tổ chức, G1P được đồng phân hoá để tạo G6P nhờ enzym phosphoglucomutase. Đây là một phản ứng thuận nghịch:

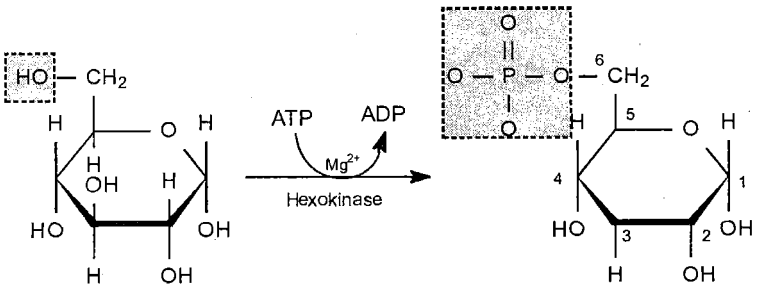
$$G1P \longleftrightarrow G6P$$

Ở gan và thận có một enzym đặc biệt (glucose-6-phosphatase) có khả năng thuỷ phân gốc phosphat của G6P tạo glucose tự do đi vào máu để tới các tế bào của tổ chức. Chính do đặc điểm này mà tổ chức gan đóng vai trò quan trọng trong điều hoà đường huyết.

Glucose tự do tạo ra ở giai đoạn cuối của quá trình thoái hoá được phosphoryl hoá tạo G6P với sự tham gia của một phân tử ATP và enzym hexokinase. Sau đó G6P sẽ tiếp tục đi vào các con đường thoái hoá.

2.2. Thoái hoá glucose

Glucose tự do ở trong tế bào của tổ chức chỉ được thoái hoá dưới dạng hoạt hoá glucose-6-phosphat (G6P). Phản ứng phosphoryl hoá này xảy ra ngay sau khi glucose thấm qua màng tế bào vào bào tương và được xúc tác bởi hexokinase với sự tham gia của ATP và Mg^{2+}. Đây là một phản ứng không thuận nghịch.



Glucose — Glucose-6-phosphat

Kinase là tên chung chỉ các enzym xúc tác vận chuyển nhóm phosphat sau cùng của ATP tới một chất nhận (trong trường hợp này là hexose). Glucokinase có trong các tế bào nhu mô gan, đặc hiệu hơn đối với glucose và khác với hexokinase về động học cũng như tính chất điều hoà. Hexokinase bị ức chế dị lập thể bởi G6P.

Từ G6P, sự biến hoá của phân tử glucose có thể đi theo 3 con đường:

– Con đường hexose diphosphat (đường phân Embden Meyerhoff).

– Con đường hexose monophosphat (chu trình pentose phosphat).

– Con đường tạo uronic và ascorbic.

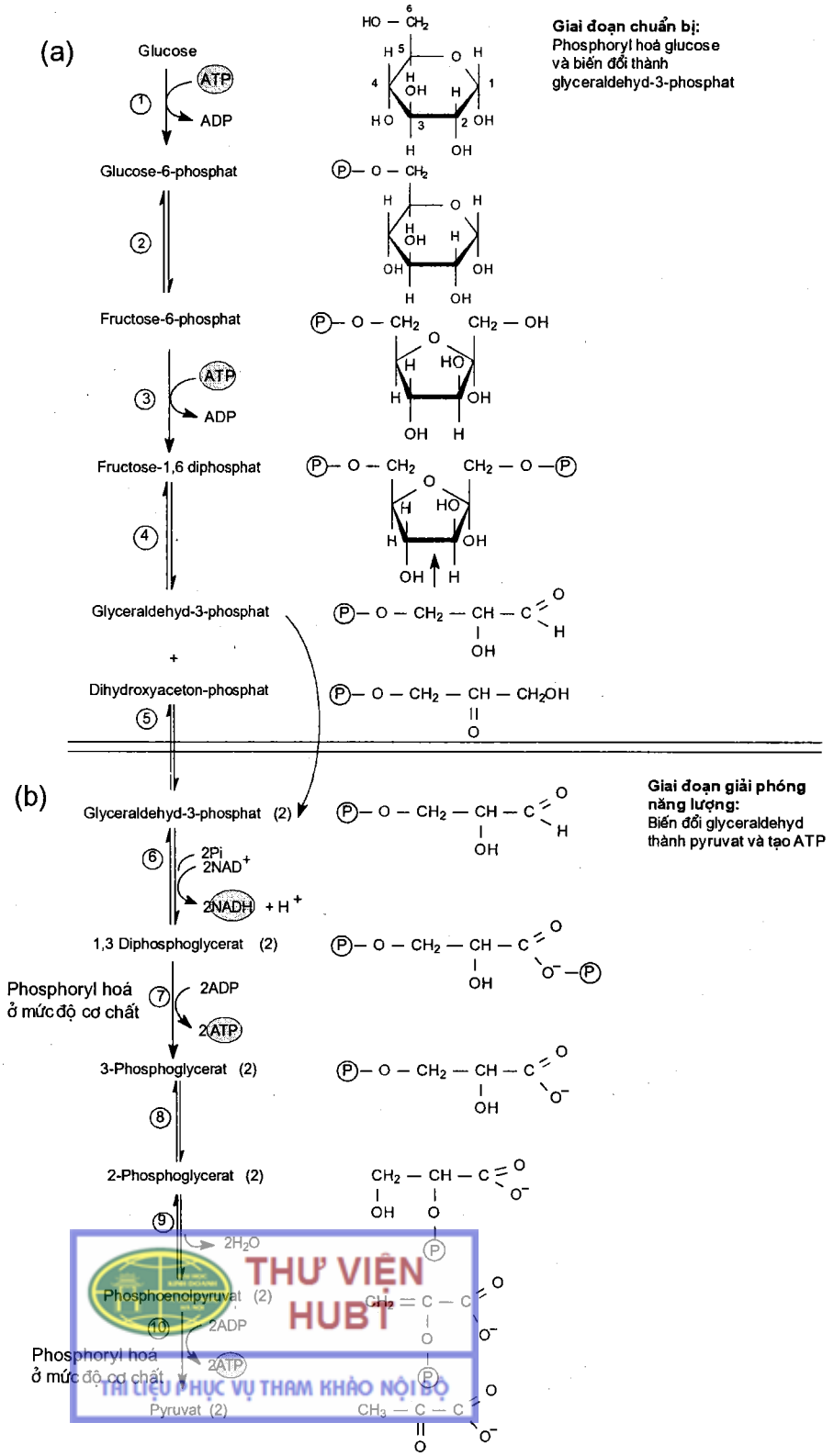
2.2.1. Con đường Đường phân

- Hai giai đoạn chính của con đường Đường phân (hình 8.4):

– Giai đoạn chuẩn bị: G6P bị phosphoryl hoá lần 2 tạo hexose diphosphat, sau đó bị cắt đôi thành 2 phân tử triose phosphat (C3P).

– Giai đoạn giải phóng năng lượng: oxy hoá C3P đến acid pyruvic. Giai đoạn này biến đổi glyceraldehyd-3-phosphat (GAP) thành pyruvat, đồng thời tạo ATP.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



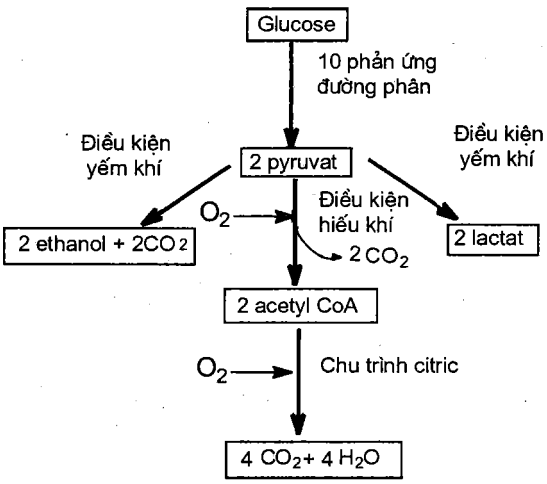
Hình 8.4. Tóm tắt 2 giai đoạn của con đường Đường phân

Quá trình biến đổi tiếp theo của pyruvat có thể có 3 con đường, tuỳ theo những điều kiện khác nhau của tổ chức (hình 8.4).

+ Trong điều kiện tổ chức được cung cấp đủ oxy (hiếu khí-aerobic), pyruvat đi vào ty thể, được oxy hoá khử CO_2 tạo acetyl CoA rồi tiếp tục oxy hoá trong chu trình acid citric. Điện tử trong quá trình oxy hoá được vận chuyển tới O_2 qua chuỗi hô hấp để tạo H_2O. Năng lượng sinh ra từ các phản ứng vận chuyển này được dùng để cung cấp cho quá trình tổng hợp ATP ở ty thể.

+ Trong trường hợp tổ chức không có đủ O_2 (yếm khí-anaerobic), đặc biệt là trong co cơ, pyruvat bị khử thành lactat, hiện tượng này được gọi là sự lên men lactic. Đặc biệt ở một số tổ chức và tế bào (tế bào võng mạc, não, hồng cầu) có hiện tượng tạo lactat ngay cả trong điều kiện hiếu khí.

+ Con đường thoái hoá thứ ba của pyruvat dẫn đến ethanol, được gọi là sự lên men rượu, xảy ra ở một số động vật không xương sống và vi sinh vật, trong đó pyruvat được biến hoá ở điều kiện yếm khí tạo thành ethanol và CO_2.



Hình 8.5. Tóm tắt 3 con đường biến đổi tiếp theo của pyruvat

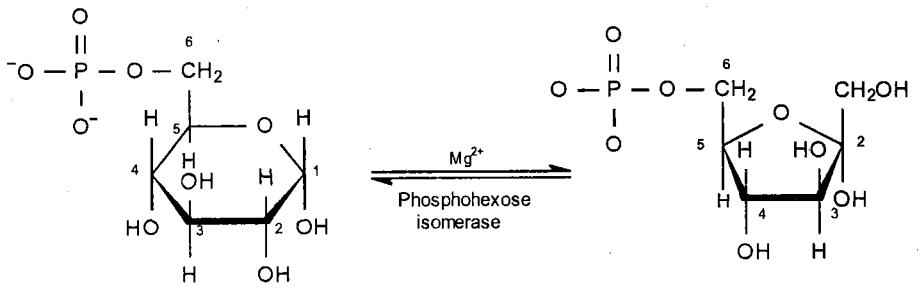
- Mười phản ứng của con đường Đường phân:

– *Giai đoạn chuẩn bị:*

+ *Phản ứng 1:* phosphoryl hoá glucose tạo G6P (đã nói ở trên).

+ *Phản ứng 2:* đồng phân hoá thuận nghịch G6P thành F6P (biến đổi aldose thành cetose nhờ enzym phospho-hexose-isomerase (phospho-glucose-isomerase).

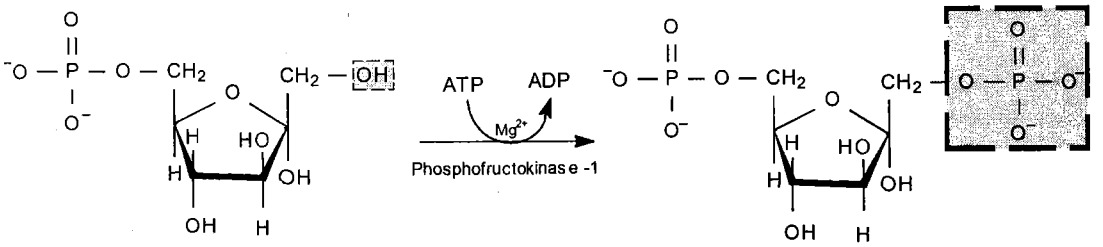
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Glucose - 6 - phosphat

Fructose - 6 - phosphat

+ *Phản ứng 3:* phosphoryl hoá lần thứ 2 với sự tham gia của ATP biến F6P thành F-1,6DiP. Phản ứng được xúc tác bởi phosphofructokinase-1 (PFK-1) chuyển nhóm phosphat từ ATP tới F6P để tạo F-1,6DiP.

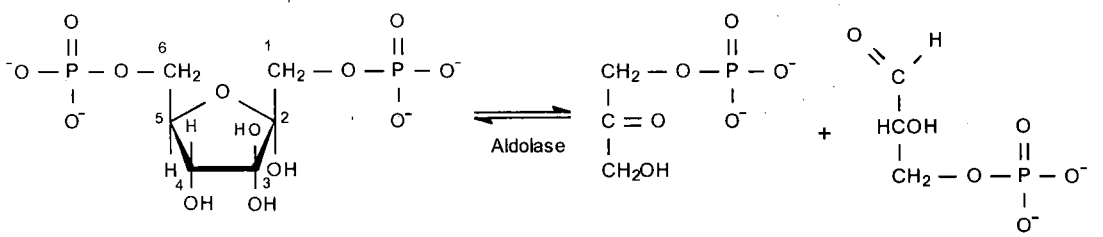


Fructose-6-phosphat

Fructose-1,6 diphosphat

Phản ứng này không thuận nghịch ở điều kiện sinh lý của tế bào. PFK-1 được gọi như vậy để phân biệt với enzym PFK-2 xúc tác sự tạo thành F-2,6 Di P từ F6P.

+ *Phản ứng 4:* cắt đôi phân tử F-1,6-DP dưới tác dụng của F-1,6 DP aldolase (gọi tắt là aldolase) xúc tác phản ứng ngưng tụ aldol thuận nghịch tạo thành 2 phân tử triose phosphat là: glyceraldehyd-3-phosphat (GAP) và dihydroxy aceton phosphat (DAP).



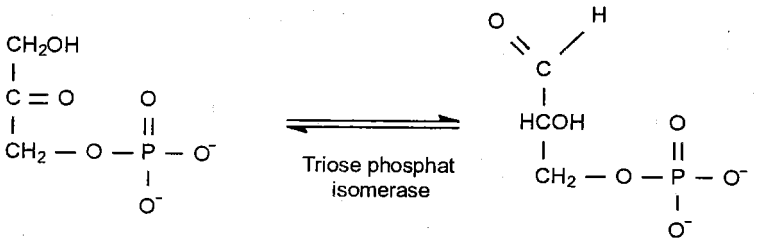
Fructose-1,6-diphosphat

Dihydroxyaceton phosphat

Glyceraldehyd -3-diphosPhat

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU ĐHNK VU THAM KHẢO NỘI BỘ

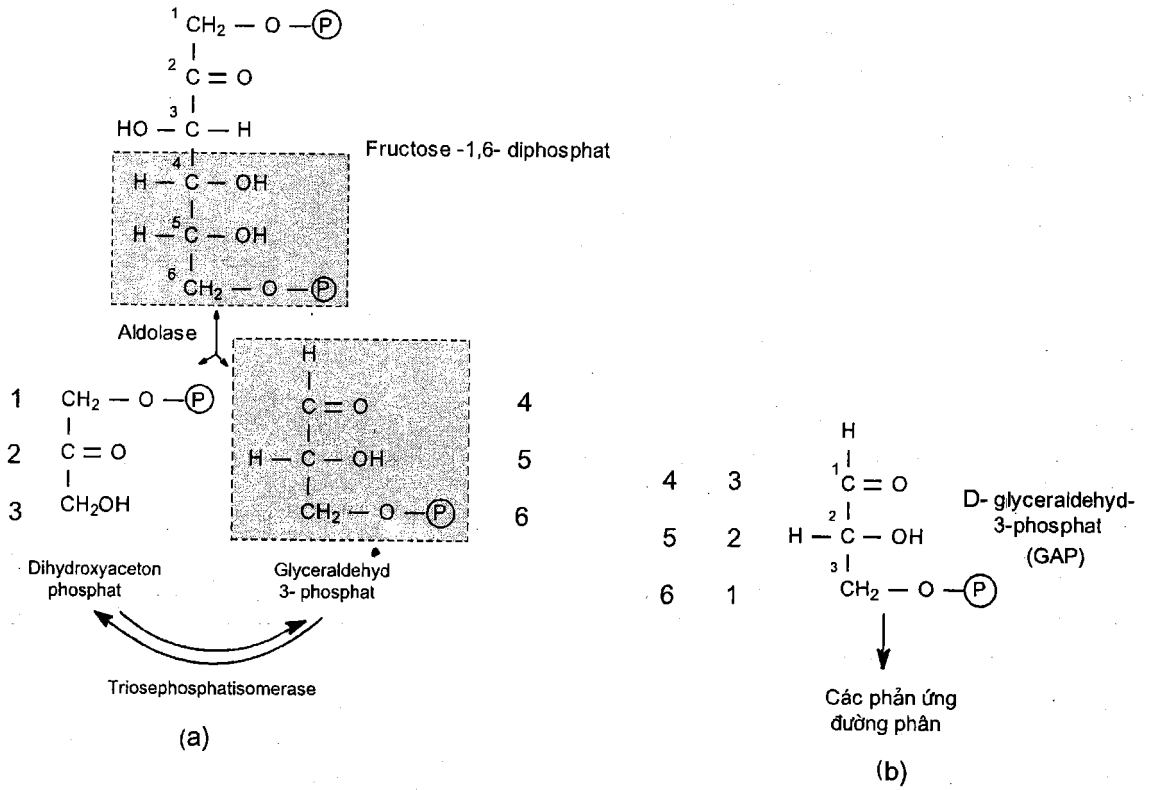
+ *Phản ứng 5:* biến hoá lần nhau của các triose phosphat. Chỉ có một trong hai phosphat tạo bởi aldolase (GAP) là có thể được tiếp tục thoái hoá trực tiếp theo con đường Đường phân. Tuy nhiên, sản phẩm kia (DAP) được biến đổi nhanh chóng và thuận nghịch thành GAP nhờ enzym triose phosphat isomerase.



Dihydroxyaceton phosphat

Glyceraldehyd-3-phosphat

Tới đây sẽ không còn phân biệt được nguồn gốc của C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 của phân tử glucose ban đầu nữa (hình 8.6).



Hình 8.6. Số phận của các nguyên tử C của glucose trong việc tạo thành GAP

a. Nguồn gốc C trong 2 sản phẩm C-3 tạo thành bởi aldolase, sản phẩm cuối cùng là 2 phân tử GAP.

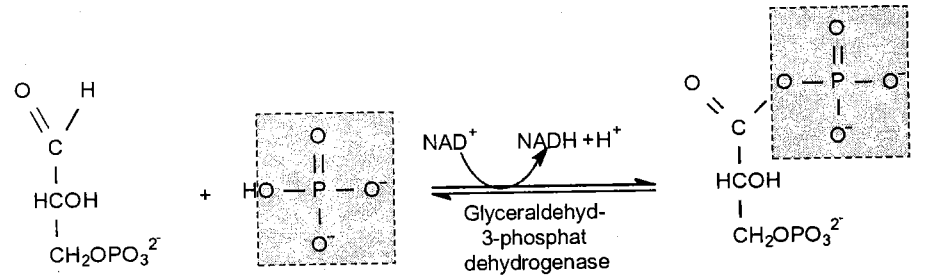
b. Mỗi nguyên tử C của GAP đi từ 2C của glucose, cách đánh số của GAP không còn giống với cách đánh số trên glucose.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phản ứng này kết thúc giai đoạn chuẩn bị của con đường Đường phân, trong đó glucose được phosphoryl hoá 2 lần ở C-1 và C-6 (vì vậy còn có tên là con đường hexose diphosphat) để sau đó tách đôi phân tử tạo 2 phân tử GAP.

– *Giai đoạn giải phóng năng lượng (pay-off phase):* gồm những phản ứng phosphoryl hoá tích trữ năng lượng dưới dạng ATP. Sự biến đổi 2 phân tử GAP thành 2 phân tử pyruvat đi kèm với sự tạo thành 4 phân tử ATP từ ADP. Tuy nhiên trên thực tế, 1 phân tử glucose khi thoái hoá chỉ cung cấp 2 ATP vì 2 ATP kia cần phải được sử dụng ở giai đoạn chuẩn bị để phosphoryl hoá 2 đầu hexose.

+ *Phản ứng 6:* oxy hoá GAP thành 1-3 diphosphoglycerat (1-3DPG) nhờ xúc tác của glyceraldehyd-3-phosphat dehydrogenase.



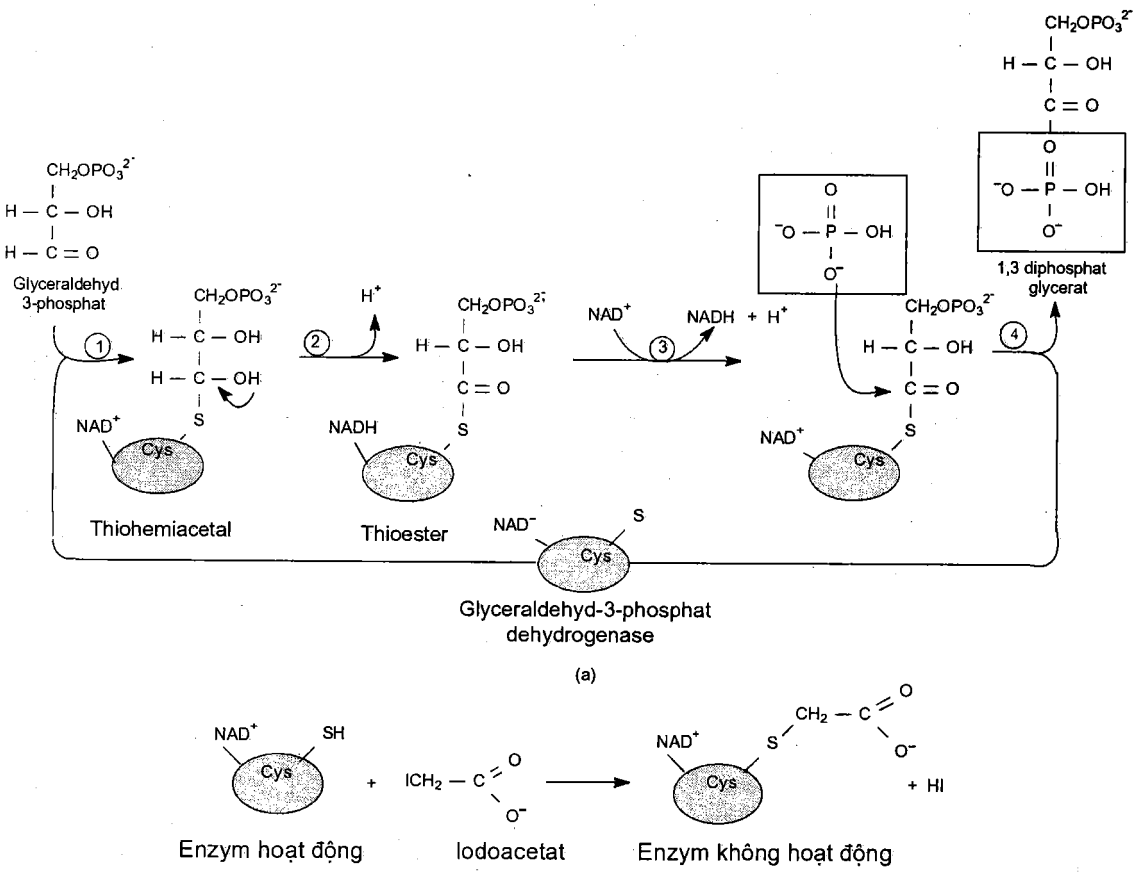
Glyceraldehyd-3-phosphat + Phosphat vô cơ → 1,3 - diphosphoglycerat

Đây là một trong hai phản ứng dự trữ năng lượng của con đường Đường phân dẫn đến tạo ATP. Nhóm aldehyd của GAP bị khử H không phải để tạo nhóm carboxyl tự do mà là để tạo thành anhydrid carboxylic với H_3PO_4 gọi là acyl phosphat có năng lượng thuỷ phân rất cao. Đa số năng lượng của phản ứng oxy hoá này được giữ lại dưới dạng liên kết phosphat giàu năng lượng ở vị trí C-1 của 1-3 DPG.

Chất nhận hydro trong phản ứng trên là NAD^+ (dạng oxy hoá). Phản ứng khử $NAD^+ \rightarrow$ NADH (dạng khử) là do vận chuyển 1 ion hydro (:H–) từ aldehyd của GAP tới vòng nicotinamid của NAD^+, còn 1 nguyên tử hydro của phân tử cơ chất thì ở lại trong dung dịch dưới dạng H^+.

Cơ chế của phản ứng oxy hoá GAP là do tạo chất trung gian (enzym-cơ chất) (hình 8.7a): giai đoạn 1, nhóm aldehyd của GAP phản ứng với -SH của cystein nằm trong trung tâm hoạt động (TTHĐ) của enzym tạo thành 1 thiohemiacetal;. giai đoạn 2, phức hợp enzym-cơ chất này được oxy hoá tiếp bởi NAD^+ cũng được gắn vào TTHĐ của enzym để biến đổi thành 1 thioeste (chất trung gian acyl - enzym); giai đoạn 3, NADH gắn vào enzym được oxy hoá trở lại dạng NAD^+, liên kết tạo ra giữa 2 nhóm acyl và thiol của enzym là liên kết giàu năng lượng; giai đoạn 4, liên kết thioeste được phosphoryl hoá do sự tấn công của phospho vô cơ (Pi), giải phóng enzym tự do và tạo sản phẩm acyl phosphat: 1,3 DPG.

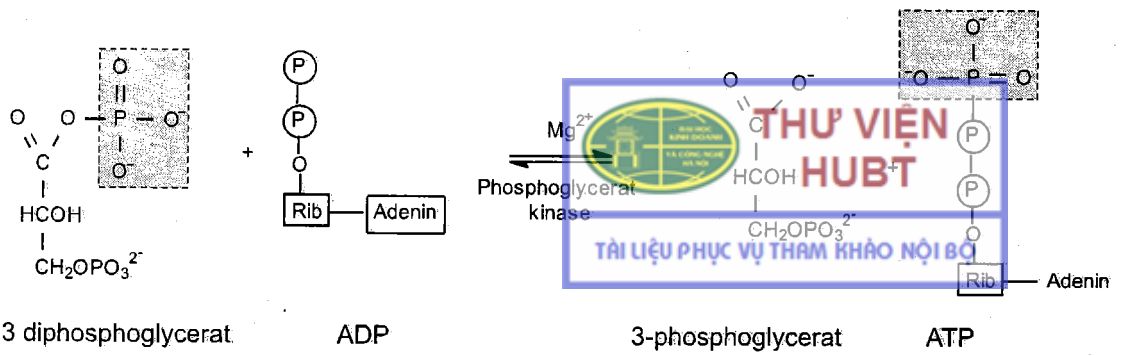
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 8.7. Cơ chế của phản ứng oxy hoá GAP và chất ức chế GAP-dehydrogenase

Enzym GAP - dehydrogenase bị ức chế bởi iodoacetat (hình 8.7b). Để phân lập và xác định các hexose phosphat tạo ra trong con đường Đường phân, người ta thường cho thêm chất ức chế enzym này vào các dịch chiết thô của men bia hay tổ chức cơ.

+ *Phản ứng 7:* vận chuyển phosphat từ 1,3 DPG tới ADP. Enzym phosphoglyceratkinase vận chuyển nhóm phosphat giàu năng lượng từ nhóm carboxyl của 1,3 DPG tới ADP để tạo thành ATP và 3-phosphoglycerat (3PG).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hai phản ứng 6 và 7 nói trên làm thành một *quá trình ghép năng lượng* (energy coupling) bao gồm một phản ứng dự trữ năng lượng và một phản ứng giải phóng năng lượng. Phương trình tổng quát của 2 phản ứng này là:

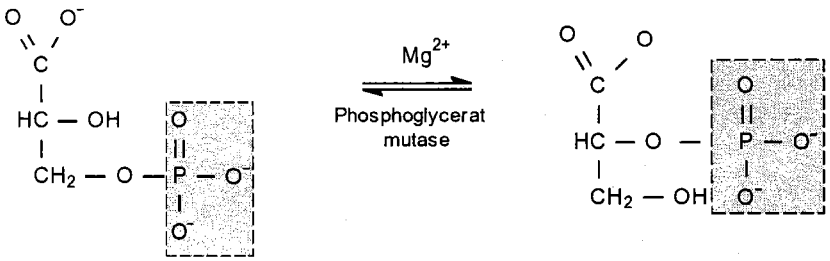
$$GAP + ADP + Pi + NAD^+ \rightleftharpoons 3\text{–}PG + ATP + NADH + H^+$$

Kết quả của 2 phản ứng ghép thuận nghịch này là giải phóng năng lượng và tích trữ dưới dạng ATP. Quá trình tạo ATP do vận chuyển nhóm phosphat từ một cơ chất (ví dụ 1,3 DPG) được gọi là *sự phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất.*

Nếu có mặt của arseniat sẽ xảy ra hiện tượng phá ghép oxy hoá - phosphoryl hoá vì nó tranh chỗ của Pi để cho arsenio-3 phospho glycerat, chất này có thể thuỷ phân tự phát để cho 3-PG và giải phóng nhiệt chứ không tạo ATP.

+ *Phản ứng 8:* biến đổi 3-PG thành 2-PG. Enzym phosphoglycerat mutase xúc tác chuyển thuận nghịch nhóm phosphat giữa C-2 và C-3 của glycerat, với sự có mặt của Mg^{2+}.

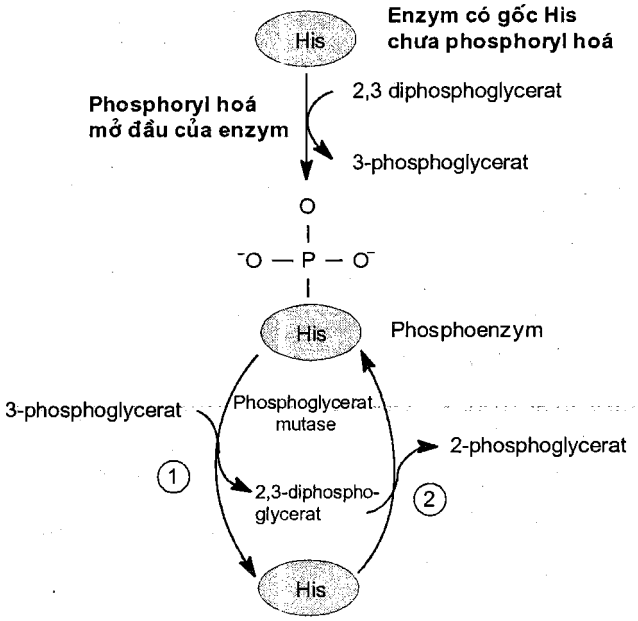
Mutase là những enzym xúc tác sự vận chuyển một nhóm chức từ vị trí này tới vị trí khác trong cùng một phân tử. Chúng là phân nhóm của isomerase.



3-phosphoglycerat　　2-phosphoglycerat

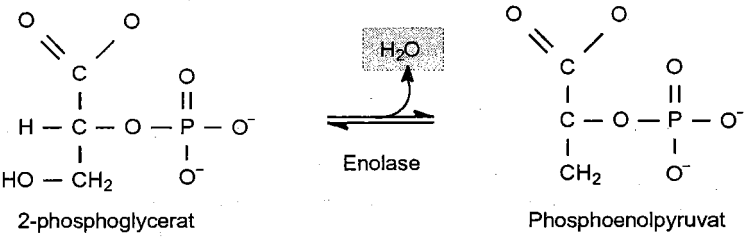
Cơ chế của phản ứng biến đổi như sau (hình 8.8): đầu tiên enzym được phosphoryl hoá ở gốc His bằng cách chuyển 1 nhóm phosphat từ 2,3-DPG. Giai đoạn 1, phosphoenzym chuyển nhóm phosphat của nó tới 3-PG tạo 2,3 DPG. Ở giai đoạn 2, nhóm phosphat ở C-3 của 2,3 DPG. Giai đoạn 2, nhóm phosphat ở C-3 của 2,3 DPG được chuyển tới cùng gốc His trên enzym tạo thành 2-PG và giải phóng trở lại phosphoenzym. 2,3-PG ban đầu cần để phosphoryl hoá enzym là đi từ 3-PG dưới tác dụng của kinase phụ thuộc ATP; sau đó nó được tái tạo liên tiếp trong giai đoạn 1 của mỗi chu trình xúc tác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 8.8. Cơ chế của phản ứng xúc tác bởi phosphoglycerat mutase

+ *Phản ứng 9:* khử nước của 2-PG tạo phosphoenol pyruvat (PEP). Phản ứng thuận nghịch này được xúc tác bởi enolase. Đây là phản ứng thứ 2 trong con đường Đường phân có sự phân bố lại năng lượng nội phân tử để tạo thành liên kết phosphat giàu năng lượng ở vị trí C-2.

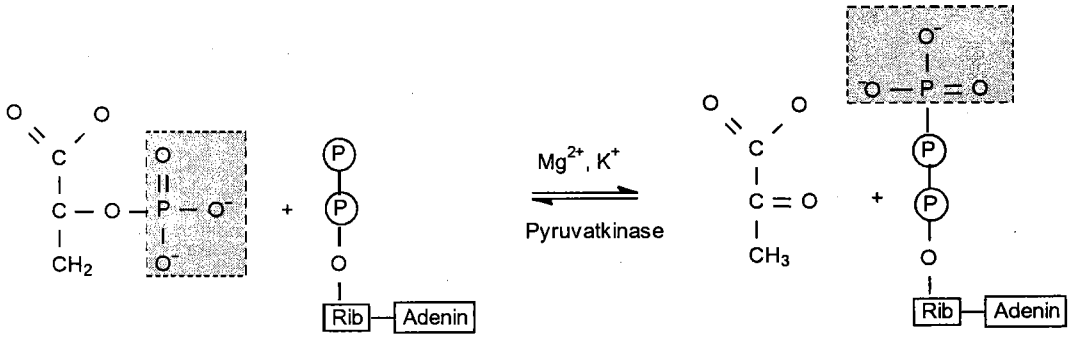


Enolase bị fluor ức chế, người ta lợi dụng tính chất này để ức chế quá trình Đường phân trước khi định lượng glucose trong máu.

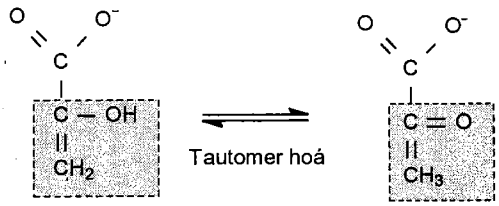
+ *Phản ứng 10:* chuyển nhóm phosphat từ PEP tới ADP dưới tác dụng của pyruvatkinase.

Sản phẩm tạo ra trong phản ứng phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất này lúc đầu là pyruvat dưới dạng enol, sau đó được tautomer hoá rất nhanh, không cần enzym để tạo thành dạng ceto có nhiều ở pH=7, vì vậy có sự thay đổi lớn về mặt năng lượng. Phản ứng này không thuận nghịch trong điều kiện của tế bào. Hoạt động của pyruvat kinase cần sự có mặt của Mg^{2+} hay Mn^{2+}.

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Phosphoenolpyruvat ADP Pyruvat ATP



Pyruvat (dạng enol) Pyruvat (Dạng ceto)

- Chu trình 2,3-diphosphoglycerat (chu trình Rappoport) (hình 8.9):

Trong hồng cầu, giai đoạn xúc tác bởi phosphoglycerat kinase được thay thế bằng một quá trình giải phóng năng lượng dưới dạng nhiệt liên quan tới liên kết phosphat giàu năng lượng của 1,3-DPG. Enzym diphosphoglycerat mutase xúc tác sự biến đổi 1,3-DPG thành 2,3 DPG, chất này được biến hoá thành 3-PG nhờ 2,3 diphosphoglycerat phosphatase. Trong những phản ứng này, nếu mất 1 phosphat giàu năng lượng thì có nghĩa là không có sự tổng hợp ATP trong quá trình Đường phân. Đây là ưu thế tiết kiệm năng lượng của hồng cầu vì nó cho phép quá trình Đường phân vẫn xảy ra khi nhu cầu ATP là tối thiểu.

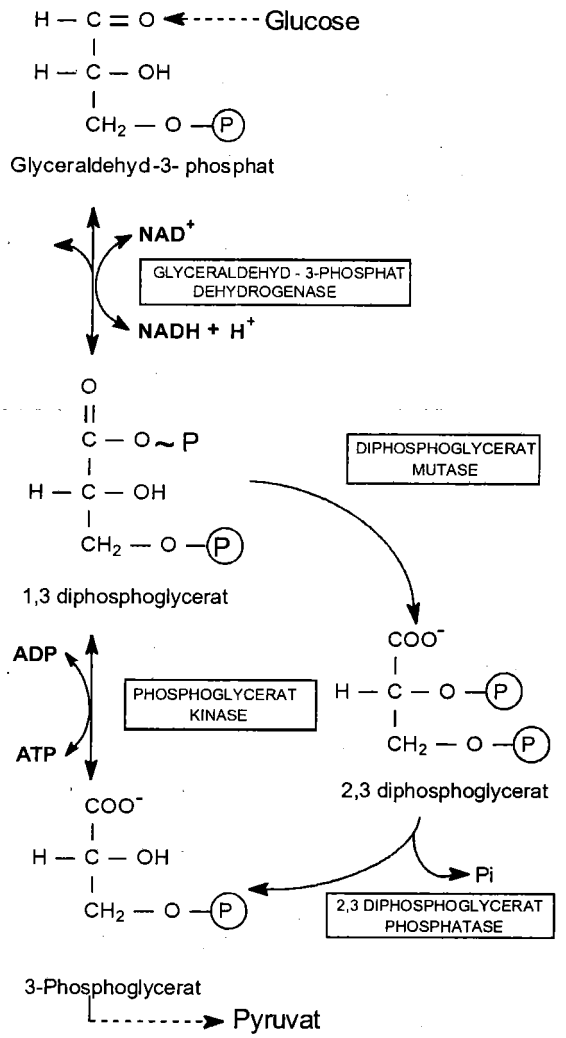
2,3-DPG luôn luôn kết hợp với Hb làm giảm ái lực của Hb với O_2 và gây chuyển dịch đường cong phân ly HbO_2 sang phải. Do đó, sự có mặt của hợp chất này trong hồng cầu có tác dụng kích thích HbO_2 giải phóng O_2 (xem chương 4). Như vậy, sự tạo thành 2,3-DPG có ý nghĩa quan trọng trong quá trình điều hoà vận chuyển O_2 bởi Hb. Sự tăng nồng độ 2,3-DPG làm giảm ái lực giữa O_2 và Hb, do đó tăng cung cấp O_2 cho tế bào (ví dụ: khi thiếu máu hay ở độ cao) và ngược lại.

Hiện tượng thiếu enzym bẩm sinh của hồng cầu có ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình tổng hợp 2,3-DPG. Ví dụ:

+ Thiếu hexokinase: làm giảm nồng độ 2,3-DPG, gây tăng ái lực của O_2 với Hb, do đó làm giảm lượng O_2 tới các tế bào.

+ Thiếu pyruvat kinase: làm tăng nồng độ 2,3-DPG và tăng cung cấp O_2 cho tế bào.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 8.9. Chu trình 2,3-diphosphoglycerat trong hồng cầu

– Sự thoái hoá tiếp tục của pyruvat:

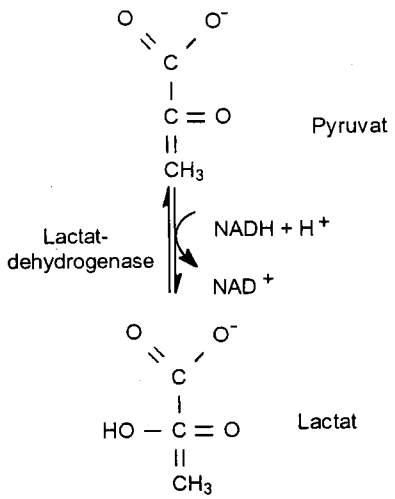
Chính trạng thái "oxy hoá khử" của tổ chức quyết định quá trình thoái hoá tiếp tục của pyruvat sẽ xảy ra theo con đường nào: yếm khí hay hiếu khí?

+ Trong điều kiện yếm khí:

Ở người: đặc biệt là ở tổ chức cơ xương, nếu thiếu O_2, NADH không thể được oxy hoá trở lại bởi quá trình vận chuyển các chất khử tới O_2 qua chuỗi hô hấp. Lúc này, pyruvat bị khử thành lactat nhờ NADH, dưới tác dụng của lactat dehydrogenase (LDH). Nhiều isozym của enzym này (xem chương enzym) có vai trò quan trọng trong lâm sàng. Sự oxy hoá trở lại của NADH khi tạo lactat cho phép quá trình đường phân tiếp tục xảy ra khi thiếu O_2 để tái tạo đủ NAD^+ cho một chu trình phản ứng mới xúc tác bởi GAP-dehydrogenase. Như vậy, ở bất kỳ tổ chức nào trong điều kiện thiếu O_2 đều có khuynh hướng sản sinh ra lactat, và tốc

THƯ VIỆN HUBT

độ chuyển hoá đó không bị hạn chế bởi khả năng oxy hoá của nó. Trong trường hợp bệnh lý, lượng lactat thừa tạo ra có thể được phát hiện trong tổ chức, máu và nước tiểu.



Cần lưu ý, ở hồng cầu ngay cả trong điều kiện hiếu khí, quá trình đường phân cũng vẫn tạo ra lactat vì không có ty thể có hệ enzym cần cho sự oxy hoá pyruvat trong điều kiện hiếu khí. Đây là một trường hợp đặc biệt vì khoảng 90% nhu cầu năng lượng toàn phần ở hồng cầu được cung cấp bởi con đường Đường phân này. Ngoài cơ xương và hồng cầu, bình thường ở những tổ chức khác cũng tiêu thụ phần lớn năng lượng lấy từ quá trình tạo lactat như não, ống tiêu hoá, tuỷ thượng thận, võng mạc và da. Còn gan, thận và tim cũng sử dụng lactat nhưng chúng chỉ sản xuất ở điều kiện yếm khí.

Phương trình tổng quát tạo lactat:

$$\text{Glucose} + 2\text{ATP} + 2\text{Pi} + 2\text{NAD}^+ + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 4\text{ADP} \longrightarrow$$

$$2\ \text{lactat} + 2\text{H}^+ + 4\text{ATP} + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+ + 2\text{NAD}^+ + 2\text{ADP}$$

hoặc biểu diễn đơn giản hơn:

$$\text{Glucose} + 2\text{Pi} + 2\text{ADP} \longrightarrow 2\ \text{lactat} + 2\text{H}^+ + 2\text{ATP} + 2\text{H}_2\text{O}$$

Ở vi sinh vật: một số lactobacillus và streptococcus lên men lactose trong sữa tạo lactic. Men bia và một số vi sinh vật khác có khả năng lên men glucose thành ethanol và CO_2, đầu tiên glucose biến đổi thành pyruvat qua con đường Đường phân, sau đó biến đổi tiếp theo 2 giai đoạn:

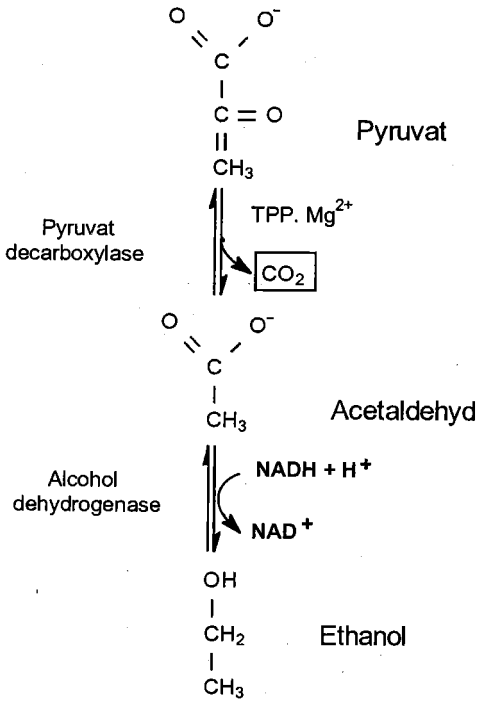
Giai đoạn 1: khử carboxyl bởi pyruvat decarboxylase với sự có mặt của Mg^{2+} và một coenzym gắn bền vững là thiaminpyrophosphat (TPP).

Giai đoạn 2: khử acetaldehyd thành ethanol nhờ NADH lấy từ quá trình khử hydro của GAP dưới tác dụng của alcol dehydrogenase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

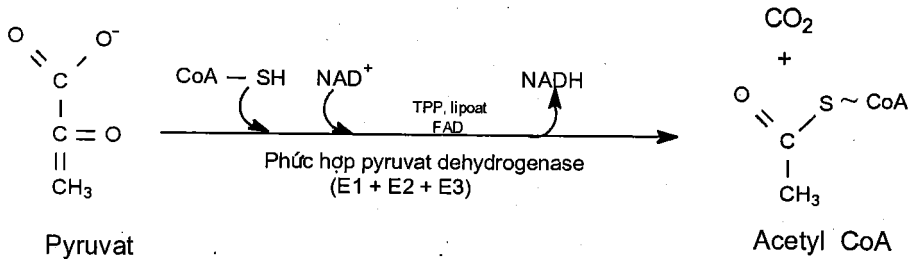
Phương trình tổng quát của sự lên men rượu là:

Glucose + 2ADP + 2Pi ⟶ 2ethanol + $2CO_2$ + 2ATP + $2H_2O$



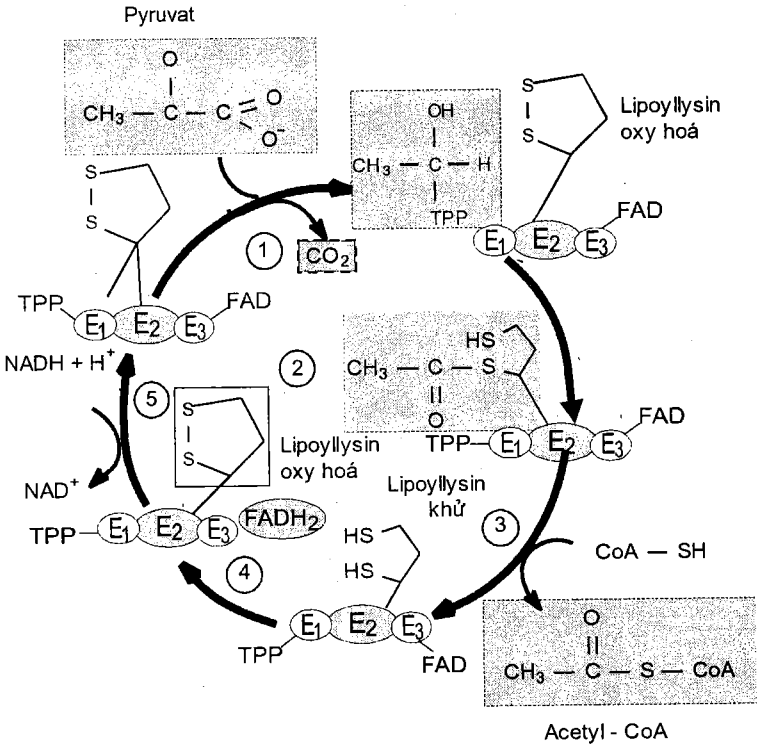
+ Trong điều kiện hiếu khí: pyruvat sẽ được chuyển vào trong ty thể, ở đó nó bị khử carboxyl oxy hoá tạo thành acetyl coenzym A và được đốt cháy hoàn toàn trong chu trình Krebs.

Phản ứng oxy hoá không thuận nghịch tạo acetyl CoA được xúc tác bởi một phức hợp pyruvat dehydrogenase gồm 3 enzym và 5 coenzym tham gia.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Cơ chế phản ứng gồm 5 giai đoạn (hình 8.10):



Hình 8.10. Các giai đoạn khử carboxyl oxy hoá của pyruvat tạo acetyl-CoA (phức hợp pyruvat dehydrogenase là một phức multienzym, trong đó một loạt chất trung gian hoá học vẫn gắn trên bề mặt enzym, còn cơ chất được biến đổi thành sản phẩm cuối cùng)

+ *Giai đoạn 1*: pyruvat tác dụng với TPP của enzym pyruvat dehydrogenase (E_1) khử CO_2 tạo dẫn xuất hydroxy etyl.

+ *Giai đoạn 2:* vận chuyển 2 điện tử và nhóm acetyl của TPP tới lipoyl-lysin dạng oxy hoá (-S-S-) nằm ở trung tâm của enzym dihydro lipoyl-transacetylase (E_2) tạo acetyl-thio-este có nhóm lipoyl khử (-SH).

+ *Giai đoạn 3*: chuyển este hoá trong đó nhóm –SH của CoA thay thế cho nhóm –SH của E_2 tạo acetyl - CoA và lipoyl dạng khử.

+ *Giai đoạn 4*: dihydrolipoyl dehydrogenase E_3 vận chuyển 2 nguyên tử H của lipoyl dạng khử của E_2 tới nhóm ngoại FAD của E_3 giải phóng lipoyl-lysin dạng oxy hoá của E_2.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ *Giai đoạn 5*: $FADH_2$ khử của E_3 chuyển 1 ion hydro tới NAD^+ để tạo NADH. Lúc này phức enzym lại sẵn sàng sử dụng cho một chu kỳ xúc tác khác. NADH tạo ra cung cấp 1 ion hydro có 2 điện tử ($:H^-$) trong chuỗi hô hấp vận chuyển tới O_2 để cuối cùng sinh ra 3 phân tử ATP.

– Ý nghĩa của con đường Đường phân:

Thoái hoá glycogen ở các tế bào của tổ chức là nhằm cung cấp G6P cho tế bào sử dụng. Đặc biệt thoái hoá glycogen ở gan còn cung cấp glucose tự do cho máu để điều hoà nồng độ glucose của máu.

Thoái hoá glucose ở tế bào có ý nghĩa quan trọng trong việc cung cấp năng lượng cho tế bào hoạt động, đồng thời cung cấp các sản phẩm trung gian cho nhiều quá trình chuyển hoá khác của cơ thể.

Năng lượng tạo ra trong quá trình thoái hoá glucose được tập trung vào các liên kết phosphat giàu năng lượng của phân tử ATP. Phần lớn ATP được tạo từ các phản ứng phosphoryl oxy hoá là do sự oxy hoá trở lại các coenzym dạng khử trong chuỗi hô hấp. Một số ATP khác tạo ra từ những phản ứng phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất. Một phân tử glucose khi thoái hoá hoàn toàn trong điều kiện hiếu khí sẽ cho 38 ATP và trong điều kiện yếm khí cho 2ATP (bảng 8.1). Cũng như vậy đối với 1 phân tử glycogen sẽ cho 39 ATP (hiếu khí) và 3ATP (yếm khí).

***Bảng 8.1.** Sự tạo thành ATP trong quá trình thoái hoá glucose*

Con đường	Phản ứng	Số ATP hay coenzym được tạo trực tiếp	Số ATP được tạo cuối cùng
Đường phân	Glucose → G6P	-1 ATP	-1
	F6P → F16DP	-1 ATP	-1
	(2) GAP → (2) 1,3-DPG	2 NADH	6
	(2) 1,3-DPG → (2) 3PG	2 ATP	2
	(2) PEP → (2) Pyruvat	2 ATP	2
Tổng số:			8
Chu trình Krebs	(2) Pyruvat → (2) Acetyl – CoA	2 NADH	6
	(2) Isocitrat → (2) α cetoglutarat	2 NADH	6
	(2) α cetoglutarat → (2) Succinyl – CoA	2 NADH	6
	(2) Succinyl – CoA → (2) Succinat	2 ATP (2 GTP)	2
	(2) Succinat → (2) Fumarat	2 $GADH_2$	4
	(2) Malat → (2) Oxaloacetat	2 NADH	6
Tổng số:			30
Tổng số cho 1 mol glucose trong điều kiện hiếu khí: 38			
Tổng số cho 1 mol glucose trong điều kiện yếm khí: 2			

Nguyên nhân chủ yếu gây rối loạn con đường Đường phân là sự tích luỹ pyruvat do thiếu pyruvat dehydrogenase bẩm sinh hay vì lý do nào đó enzym này bị ức chế (thiếu vitamin B_1 trong thức ăn, nghiện rượu, suy dinh dưỡng, ngộ độc As hay Hg tạo phức với các nhóm -SH của acid lipoic...), do đó thường dẫn đến tình trạng nhiễm toan do acid lactic và gây tử vong.

THƯ VIỆN NUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Như vậy, glucose là nguồn nhiên liệu quan trọng cung cấp năng lượng chủ yếu cho hoạt động của tế bào nhờ con đường Đường phân hiếu khí. Tuy nhiên, con đường thoái hoá yếm khí tạo acid lactic mặc dù cho ít ATP song vẫn có ý nghĩa quan trọng về mặt năng lượng vì cơ thể (đặc biệt là ở tổ chức cơ xương) có khả năng tái tạo glucose từ lactat để thoái hoá cung cấp năng lượng (xem chu trình Cori).

2.2.2. Con đường pentose phosphat (hay còn gọi là con đường hexose monophosphat, con đường oxy hoá trực tiếp, con đường phosphogluconat):

Con đường này không sản xuất ATP nhưng đảm nhiệm hai chức năng quan trọng là cung cấp NADPH cho các quá trình sinh tổng hợp acid béo, steroid và cung cấp ribose cho sinh tổng hợp các nucleotid và acid nucleic.

So với con đường Đường phân, con đường pentose phosphat chiếm tỷ lệ thấp hơn nhiều, song ở một số tế bào và tổ chức như tổ chức mỡ, gan, hồng cầu, tuyến sữa trong thời kỳ hoạt động, tuyến giáp, vỏ thượng thận, nó lại chiếm ưu thế. Trái lại, chu trình này hầu như không xảy ra ở cơ xương.

Các giai đoạn của con đường pentose phosphat:

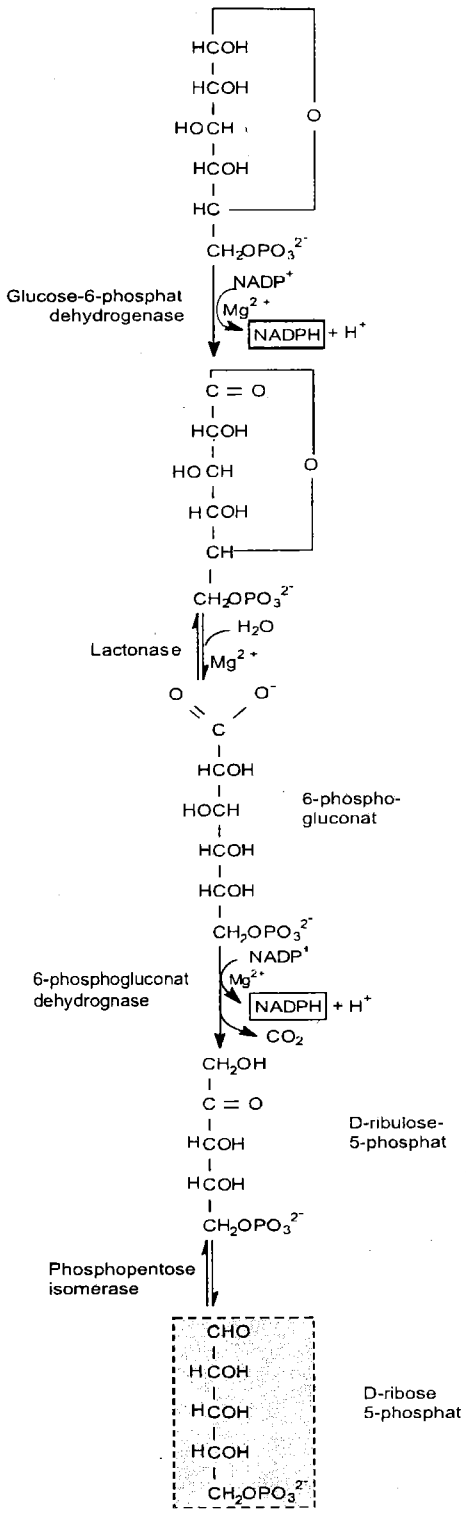
Có thể chia thành 2 giai đoạn:

– Giai đoạn oxy hoá: là giai đoạn khử carboxyl oxy hoá tạo các pentose phosphat (C_5P) và NADPH (hình 8.11). Giai đoạn này gồm 2 phản ứng oxy hoá chính:

+ Khử H của G6P bởi glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) tạo 6-phosphoglucono- δlacton là một este nội phân tử. Chất này được thuỷ phân thành 6-phosphogluconat nhờ enzym đặc hiệu lactonase. $NADP^+$ là chất nhận điện tử và tạo NADPH.

+ Khử H và carboxyl của 6-phosphogluconat bởi 6-phosphogluconat dehydrogenase tạo cetopentose D-ribulose-5phosphat (Ru5P). Đây là phản ứng oxy hoá thứ 2 tạo NADPH. Sau đó phospho pentose isomerase xúc tác đồng phân hoá Ru5P thành isomer aldose, D-ribose-5-phosphat (R5P).

THƯ VIỆN HUBT
THUỘC PHÂN HỆ THƯ VIỆN KHÁO HỌC



Hình 8.11. Giai đoạn oxy hoá của con đường pentose phosphat

Ở một số tổ chức, con đường pentose phosphat dừng lại ở đây và phương trình tổng quát sẽ là:

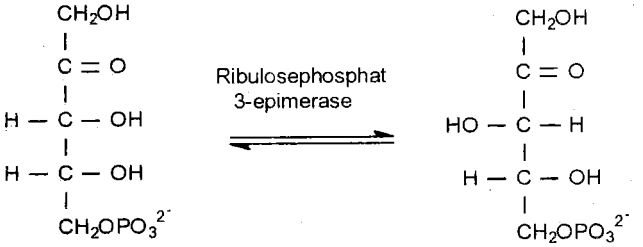
$$G6P + 2NAD^+ + H_2O \longrightarrow R5P + CO_2 + 2NADPH + 2H^+$$

NADPH được sử dụng cho các phản ứng sinh tổng hợp, còn R5P là tiền chất tổng hợp, nucleotid và acid nucleic.

– Giai đoạn không oxy hoá:

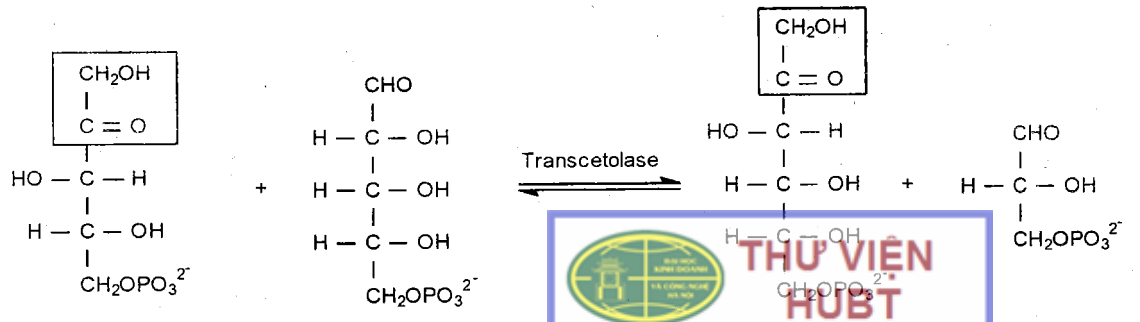
Ở những tổ chức cần nhiều NADPH hơn R5P, các pentose phosphat được đi vào chu trình biến hoá trở lại thành G6P để tiếp tục oxy hoá. Giai đoạn này gồm một loạt phản ứng biến đổi thuận nghịch, không có sự oxy hoá các sản phẩm trung gian mà chỉ có sự vận chuyển từng nhóm 2C và 3C dưới tác dụng của các enzym trans-cetolase và trans-aldolase:

+ Đầu tiên, ribulose-5-phosphat (Ru5P) được epimer hoá thành xylulose-5-phosphat (X5P):



D-ribulose-5-phosphat D-xylulose-5-phosphat

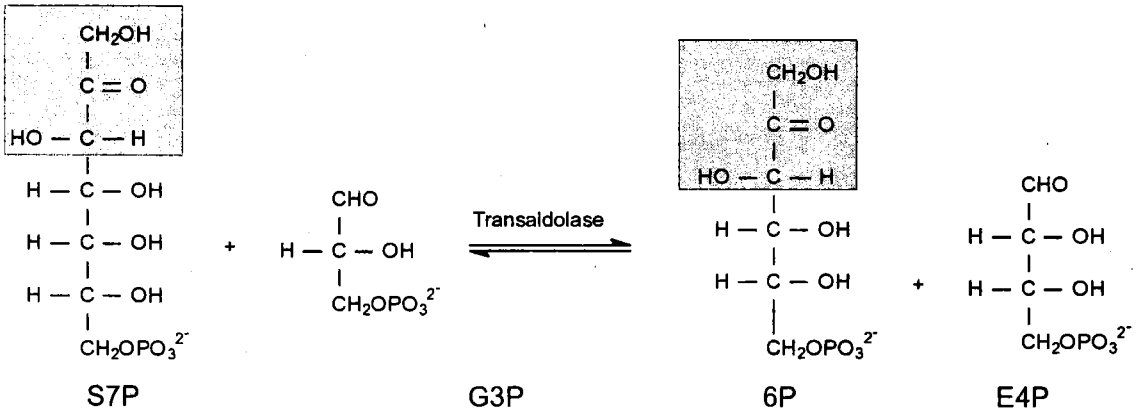
+ Sau đó, transcetolase (enzym có coenzym là TPP) xúc tác sự vận chuyển nhóm 2C (C-1 và C-2) của X5P tới R5P tạo sedoheptulose-7-phosphat (S7P), còn lại 3C của X5P tạo thành glyceraldehyd-3-phosphat (GAP hay G3P):



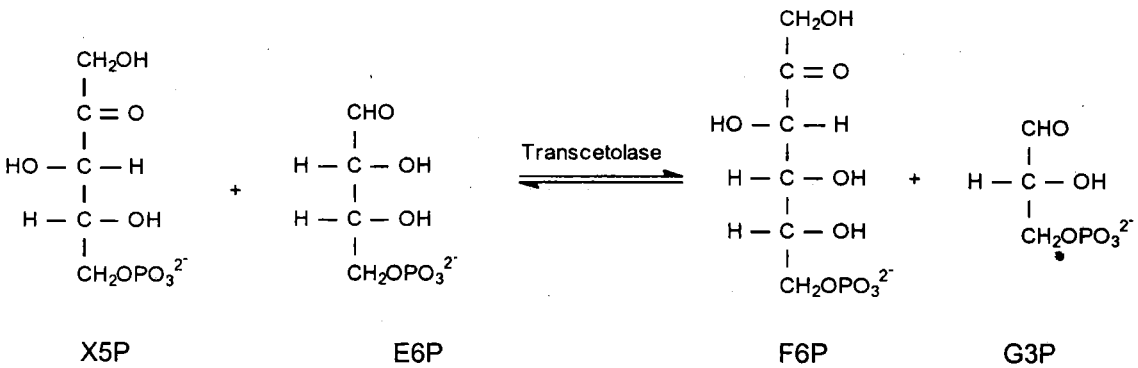
X5P R5P S7P G3P

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

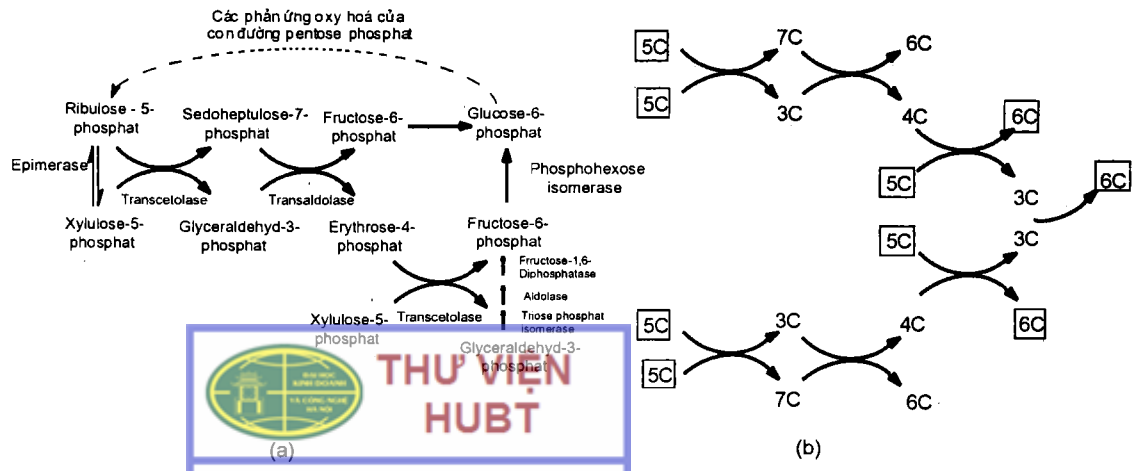
Transaldolase xúc tác phản ứng tiếp theo, tách nhóm 3C của S7P rồi ngưng tụ với G3P tạo fructose-6-phosphat (F6P), còn lại 4C của S7P tạo thành erythrose-4-phosphat (E4P):



\+ Enzym transcetolase tiếp tục hoạt động tạo F6P và G3P từ E4P và X5P



Hai phân tử G3P do lặp lại 2 lần phản ứng trên có thể được biến đổi thành 1 phân tử fructose 1-6-diphosphat (F-1,6-DP).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.12. Chu trình pentose tổng quát (a) và tóm tắt (b)

Như vậy, ở giai đoạn này chu trình pentose phosphat đã được hoàn thành. Nhờ quá trình sắp xếp lại khung C của các chất trung gian, 6 phân tử pentose phosphat được biến đổi trở lại thành 5 phân tử hexose (hình 8.12 và 8.13).

Có thể biểu thị phương trình tổng quát của con đường pentose phosphat như sau:

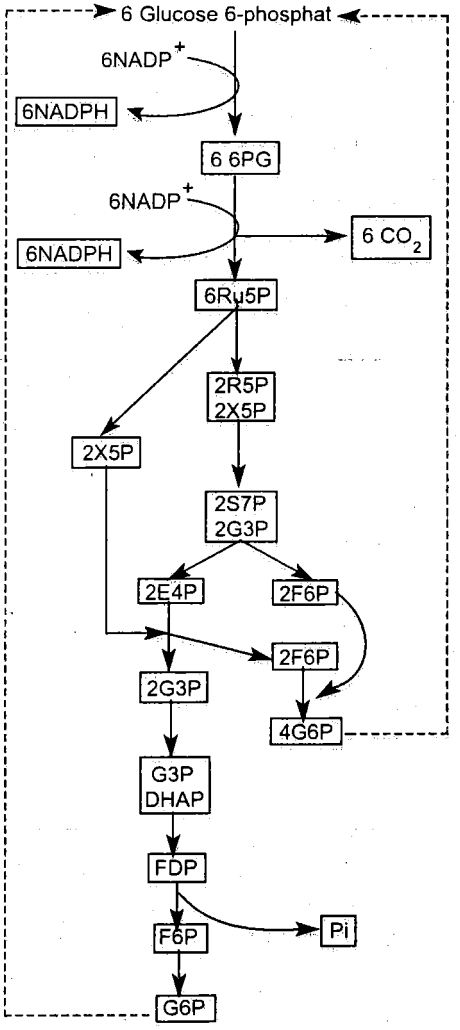
$6G6P + 12NADP^+ + 7H_2O \longrightarrow 5\ G6P + 6CO_2 + 12NADPH + 12H^+ + Pi$

hay $G6P + 12NADP^+ + 7H_2O \longrightarrow 6CO_2 + 12NADPH + 12H^+ + Pi$

Ý nghĩa của con đường pentose:

Sự thoái hoá glucose theo con đường pentose ít có ý nghĩa về mặt năng lượng vì để một phân tử glucose được oxy hoá hoàn toàn thì cần phải có 6 phân tử G6P đi vào chu trình. Hơn nữa, NADPH tạo ra không tham gia vào quá trình oxy hoá tế bào.

Con đường pentose hoạt động chủ yếu ở các tổ chức có nhu cầu về NADPH để tổng hợp các chất (acid béo, steroid, acid amin qua glutamat dehydrogenase hay glutathion khử trong hồng cầu). Nó có mối liên quan với con đường Đường phân do có một số sản phẩm chung tạo ra từ 2 con đường như: các triose phosphat, F6P, F-1,6-DP, pyruvat).



Hình 8.13. Sơ đồ tóm tắt sự oxy hoá hoàn toàn 1 phân tử G6P qua con đường phospho gluconat

Về mặt lâm sàng, trong hồng cầu, các hexose monophosphat cung cấp NADPH cho phản ứng khử glutathion từ dạng oxy hoá (G-S-S-G) sang dạng khử (2G–SH) nhờ glutathion reductase. Sau đó đến lượt glutathion dạng khử thực hiện phản ứng loại H_2O_2 của hồng cầu dưới tác dụng của glutathion-peroxydase. Phản ứng này có ý nghĩa rất quan trọng vì sự tích luỹ H_2O_2 làm giảm đời sống của hồng cầu do tăng quá trình oxy hoá Hb→ MetHb.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

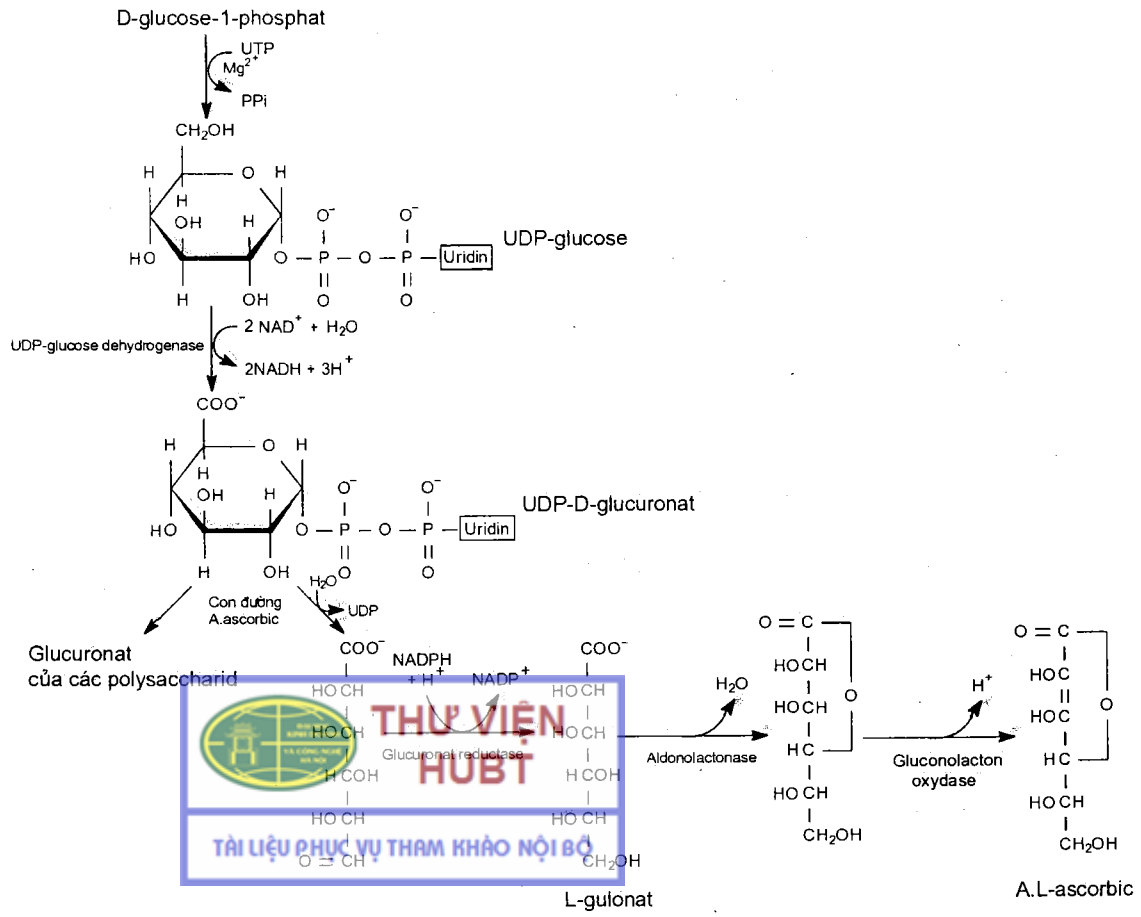
Người ta đã tìm thấy mối liên quan giữa hoạt độ của G6PD với độ bền vững của hồng cầu. Thiếu enzym này có ảnh hưởng đến việc sản xuất NADPH mà biểu hiện trên lâm sàng là hồng cầu dễ bị vỡ, nhất là khi dùng phải các thuốc oxy hoá như primaquin, aspirin hay sulfonamid.

Hoạt độ transcetolase trong máu phản ánh mức độ thiếu hụt thiamin. Nó tăng lên trong bệnh thiếu máu ác tính.

2.2.3. Con đường tạo acid uronic và ascorbic

Con đường này xảy ra ở gan và mặc dù chỉ tiêu thụ rất ít glucose so với con đường Đường phân và chu trình acid citric, song các sản phẩm thoái hoá của nó lại có tính chất sống còn đối với cơ thể.

Theo con đường này (hình 8.14), đầu tiên G1P phản ứng với UTP để biến đổi thành UDP-glucose (UDPG). Sau đó phần glucose của UDPG được khử hydro cho UDP-glucuronat. Chất cho gốc glucuronosyl này dưới tác dụng của các enzym khử độc có khả năng tác động lên nhiều thuốc tương đối không phân cực hoặc các chất gây độc môi trường cũng như các chất sinh ung thư. Sự liên hợp của các chất này với glucuronat có tác dụng biến chúng thành những dẫn xuất phân cực hơn và dễ dàng bị loại ra khỏi máu qua thận. Ví dụ: thuốc an thần phenobarbital, thuốc chống AIDS AZT và dạng hydroxyl hoá của chất gây ung thư (benzo [α] pyren) (hình 8.15) đều được glucuro liên hợp nhờ các enzym UDP- glucuronosyl transferase có ở gan biến đổi từ một chất không phân cực thành chất phân cực dễ dàng đào thải ra nước tiểu.



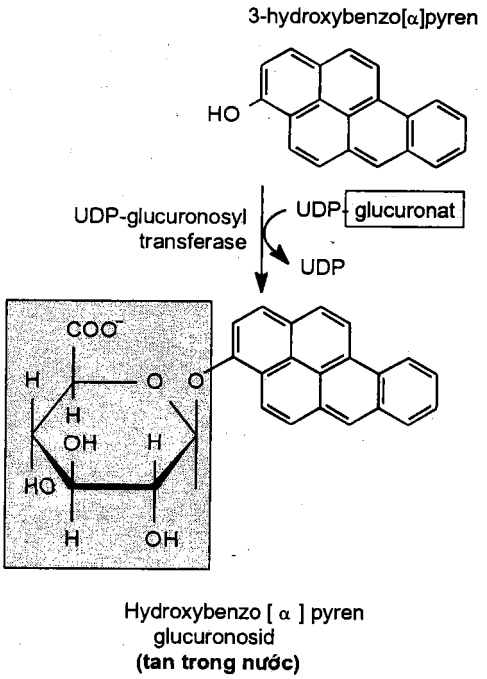
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.14. Khử chất độc gây ung thư qua UDP-glucuronat

UDP-glucuronat còn là tiền chất của các gốc glucuronat cấu tạo nên các polysaccharid acid như hyaluronat và chondroitin sulfat.

D-glucuronat là một chất trung gian biến đổi D-glucose thành acid L-ascorbic (hình 8.14). D-glucuronat bị khử bởi NADPH thành L-gulonat và biến đổi tiếp thành dạng lacton. Sau đó L-gulonolacton bị khử hydro dưới tác dụng của một flavoprotein là gluconolacton oxydase để cho acid L-ascorbic. Một số loài trong đó có cả người, khỉ, chuột lang, một số loài chim và cá không có enzym này, do đó không có khả năng tổng hợp vitamin C và phải được cung cấp từ ngoài qua thức ăn. Thiếu vitamin C sẽ gây bệnh Scorbut ("Scarvy").

Ý nghĩa chính của con đường thoái hoá glucose qua UDP-glucuronat là vai trò khử độc và bài tiết các chất hữu cơ lạ của cơ thể.



Hình 8.15. Khử chất độc gây ung thư qua UDP-glucuronat

2.3. Thoái hoá của các monosaccharid khác

Ngoài glucose, các hexose khác cũng có thể đi vào con đường Đường phân sau khi biến đổi thành một dẫn xuất phosphoryl hoá.

D-fructose: là sản phẩm thuỷ phân của saccharose ở ruột non. Nó có thể được phosphoryl hoá hoặc bởi hexokinase để tạo fructose-6-phosphat (F6P) ở cơ và thận hoặc bởi fructokinase ở gan tạo fructose-1 phosphat (F1P):

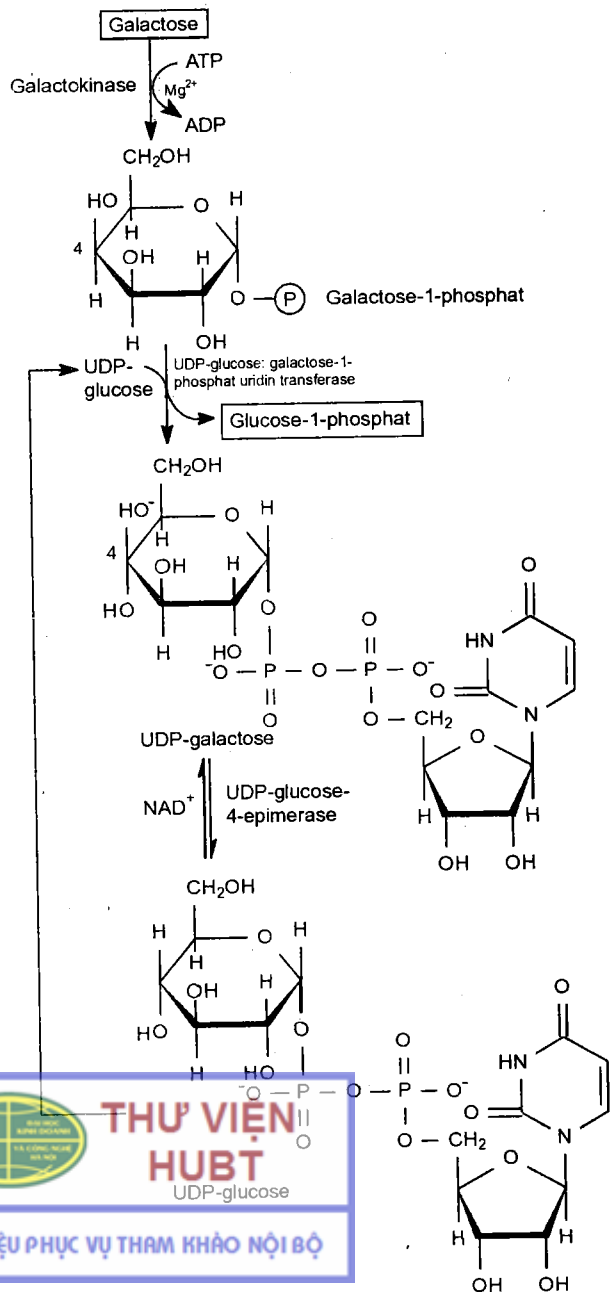
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$F + ATP \xrightarrow{Mg^{2+}} F6P + ADP$$

$$F + ATP \xrightarrow{Mg^{2+}} F1P + ADP$$

Sau khi cắt đôi phân tử nhờ fructose-1-phosphat aldolase, các triose tạo ra được biến đổi thành glyceraldehyd-3-phosphat (GAP). Như vậy, cả F6P và F1P đều được thoái hoá theo con đường Đường phân dưới dạng GAP (hình 8.17).

D-galactose: là sản phẩm thuỷ phân của lactose, đầu tiên được phosphoryl hoá ở C-1 bởi galactokinase tạo galactose-1-phosphat (Ga1P). Chất này được epimer hoá ở C-4 tạo G1P nhờ một tập hợp phản ứng trong đó uridin diphosphat đóng vai trò là chất vận chuyển các nhóm hexose theo kiểu coenzym (hình 8.16).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

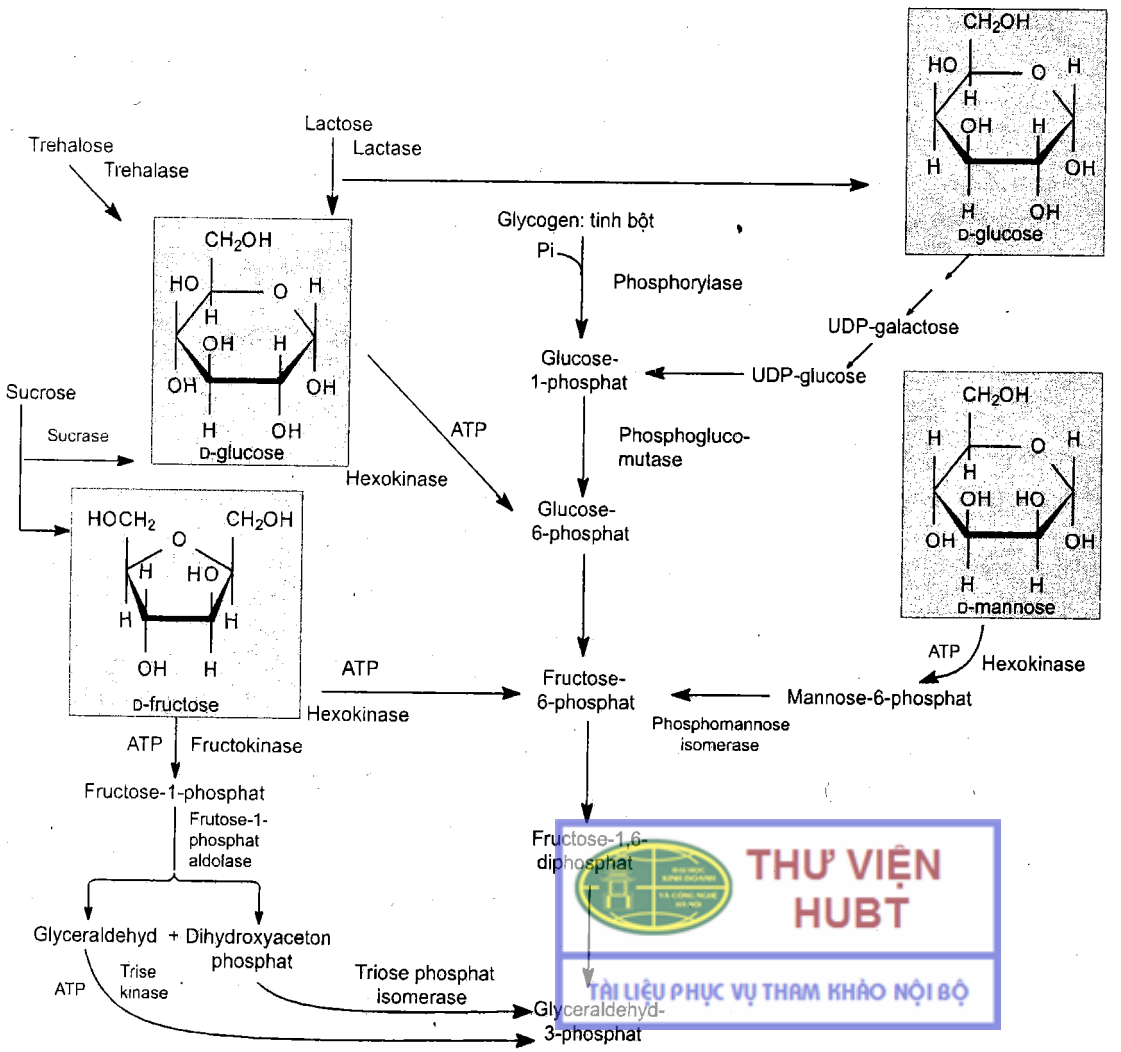
Hình 8.16. Thoái hoá của galactose

Một số bệnh di truyền có ảnh hưởng đến chuyển hoá của các galactose. Ví dụ: bệnh galactose huyết bẩm sinh do thiếu galactose - 1 - phosphat uridin transferase, hoặc galactokinase, hoặc UDPG - 4 epimerase.

Bệnh không dung nạp lactose thường gặp ở những người bị mất phần lớn hay toàn bộ lactase ở tế bào ruột, do đó lactose không thể được tiêu hoá và hấp thu hoàn toàn. Nó bị các vi khuẩn Coli biến đổi thành các sản phẩm độc gây triệu chứng co cứng bụng và tiêu chảy.

D-mannose: là sản phẩm tiêu hoá của nhiều polysaccharid và glycoprotein, cũng được phosphoryl hoá đầu tiên ở C-6 bởi hexokinase, sau đó được isomer hoá bởi phosphomannose isomerase tạo F6P là chất trung gian trong con đường Đường phân.

Hình 8.17 là sơ đồ tóm tắt các con đường thoái hoá của hexose, disaccharid và polysaccharid đi vào con đường Đường phân.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.17. Các con đường đi vào giai đoạn chuẩn bị của "Đường phân" từ glycogen, tinh bột, disaccharid và hexose

3. Tổng hợp glucid ở tế bào và mô

3.1. Tổng hợp glucose

Sinh tổng hợp glucose là cực kỳ cần thiết vì nó cung cấp glucose cho cơ thể khi thức ăn không có đủ glucid hoặc khi cơ thể ở trong tình trạng "tế bào đói glucid", thoái hoá quá nhiều protein, cơ hoạt động mạnh tạo quá nhiều acid lactic... Hoạt động của các tổ chức, đặc biệt là não và hồng cầu luôn luôn cần một nguồn năng lượng liên tục. Khi đường huyết hạ dưới mức bình thường là não bị ảnh hưởng còn nếu hạ đường huyết nghiêm trọng sẽ dẫn đến hôn mê và tử vong. Glucose còn cần cho tổ chức mỡ, duy trì tỷ lệ các chất trung gian trong chu trình acid citric ở nhiều tổ chức. Nó cũng là chất đốt duy nhất cung cấp năng lượng cho cơ xương trong điều kiện yếm khí và là tiền chất của lactose khi tuyến sữa hoạt động. Cho nên ngay cả khi lipid có thể cung cấp nhiều năng lượng nhất thì cơ thể cũng vẫn đòi hỏi phải tổng hợp thường xuyên một lượng glucose nhất định.

3.1.1. Sự tân tạo glucose (gluconeogenesis)

Tân tạo glucose là con đường dẫn đến sự tạo thành glucid từ những tiền chất không phải là đường như: pyruvat, lactat, các acid amin, glycerol... Gan là tổ chức chính đảm nhiệm con đường này vì chỉ ở đó mới có những enzym cần thiết có khả năng tổng hợp glucose trong mọi điều kiện và từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau.

a. Tổng hợp glucose từ pyruvat và lactat

Sự biến đổi của pyruvat thành glucose là con đường chủ yếu trong quá trình tân tạo glucose. Nó không xảy ra hoàn toàn ngược lại với con đường Đường phân vì trong 10 phản ứng của con đường Đường phân có 3 phản ứng không thuận nghịch, đó là các phản ứng: biến đổi glucose thành G6P bởi hexokinase; phosphoryl hoá F6P thành F-1,6-DP bởi phosphofructokinase; Biến đổi phosphoenol pyruvat (PEP) thành pyruvat bởi pyruvatkinase. Ba phản ứng này phải được xúc tác bởi những hệ thống enzym khác hoặc phải đi theo con đường vòng để tổng hợp glucose (hình 8.18):

– Biến đổi pyruvat thành phosphoenol pyruvat:

Phosphoryl hoá pyruvat được thực hiện bởi một chuỗi phản ứng với sự phối hợp các enzym của bào tương và ty thể. Có 2 con đường khác nhau tuỳ theo tiền chất sinh glucose được sử dụng là pyruvat hay lactat.

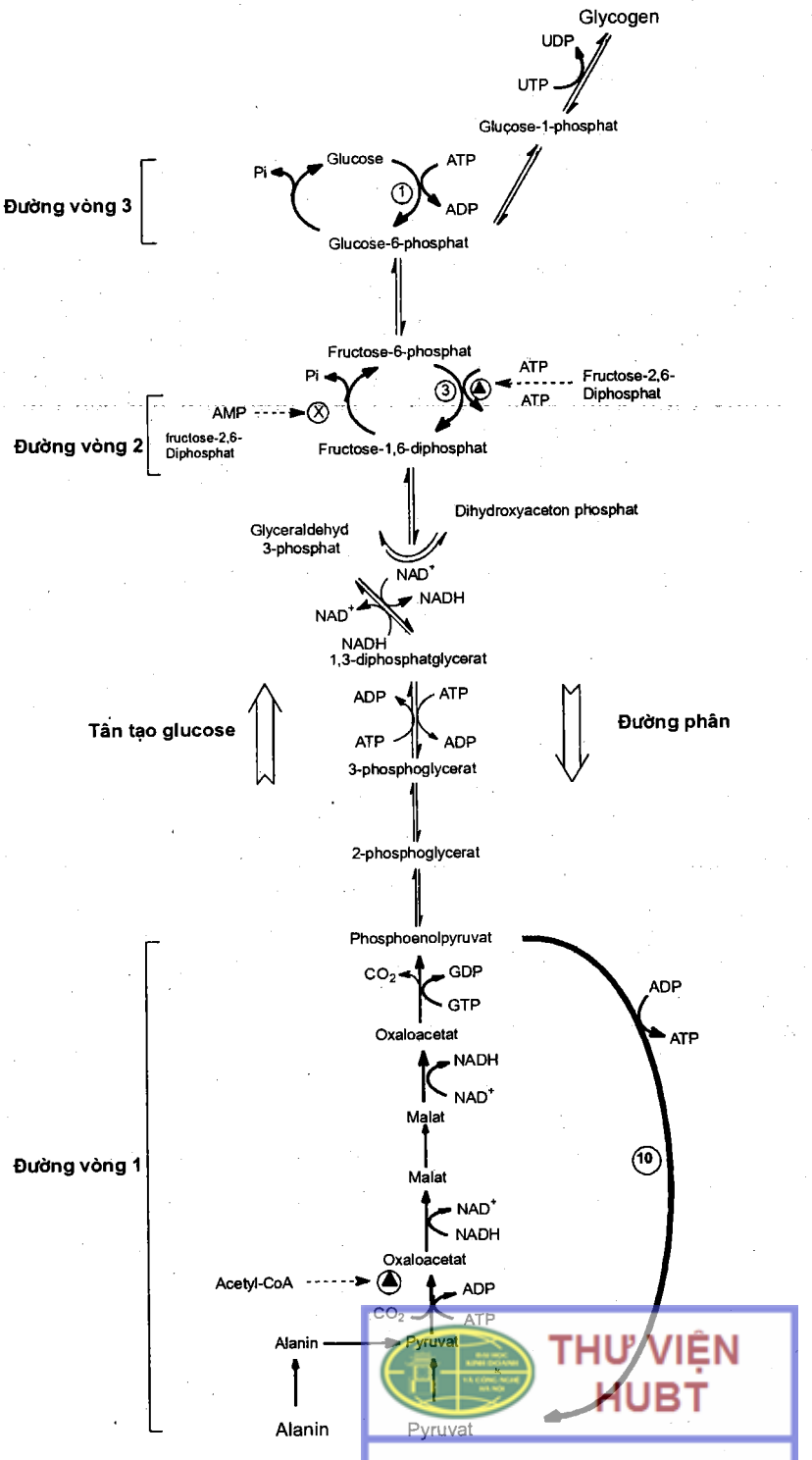
+ Con đường thứ nhất (đường vòng 1) trong hình 8.18 là con đường chiếm ưu thế *khi pyruvat hay alanin là tiền thân* của sự tân tạo glucose. Đầu tiên, pyruvat được vận chuyển từ bào tương vào ty thể hoặc được tạo ra trong ty thể do quá trình khử amin của alanin. Nó biến đổi thành oxaloacetat (OA) nhờ xúc tác của pyruvat carboxylase với sự có mặt của biotin (hình 8.19a), trong đó acetyl-CoA được coi là chất điều hoà (+) của acetyl pyruvat carboxylase:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\text{Pyruvat} + HCO_3^- + ATP \longrightarrow \text{Oxaloacetat} + ADP + Pi + H^+$$

Tiếp theo, OA được khử thuận nghịch trong ty thể nhờ malatdehydrogenase có coenzym là NADH tạo malat:

$$\text{Oxaloacetat} + NADH + H^+ \rightleftarrows \text{L-malat} + NAD^+$$



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.18. Hai con đường Đường phân và tân tạo glucose

(1), (3), (10) : *3 phản ứng thuận nghịch*

(▲) : *2 trung tâm điều hoà chính của sự tân tạo glucose*

Chất này được đưa ra ngoài bào tương nhờ một chất vận chuyển khu trú ở màng trong của ty thể, ở đây malat được oxy hoá trở lại thành OA và tạo NADH của bào tương:

$$Malat + NAD^+ \longrightarrow Oxaloacetat + NADH + H^+$$

Sau đó, dưới tác dụng của PEP – carboxykinase, OA được biến đổi thành PEP (hình 8.19b). CO_2 đã được gắn vào pyruvat ở phản ứng đầu lại được giải phóng dưới dạng tự do. Phản ứng khử CO_2 có sự sắp xếp lại điện tử để cho oxy của nhóm carboxyl trong phân tử pyruvat dễ dàng tấn công vào phosphat -γ của GTP. Như vậy chuỗi phản ứng carboxyl hoá khử carboxyl này chính là một phương tiện hoạt hoá pyruvat để có thể biến đổi dễ dàng thành PEP.

+ Con đường thứ hai ngắn hơn, chiếm ưu thế khi lactat là tiền thân của sự tân tạo glucose (hình 8.20). Nó cho phép sử dụng lactat tạo ra bằng con đường Đường phân ở hồng cầu hay cơ, nhất là sau một quá trình vận động mạnh.

Sự biến đổi lactat thành pyruvat ở bào tương của tế bào gan cung cấp NADH và không cần thiết phải có sự vận chuyển malat ra ngoài ty thể. Sau khi được tạo ra từ phản ứng xúc tác bởi lactatdehydrogenase, pyruvat chuyển vào ty thể và biến đổi thành OA nhờ pyruvatcarboxylase giống như đã trình bày ở trên, nhưng OA này được chuyển trực tiếp ngay thành PEP dưới tác dụng của một loại PEP-carboxykinase có trong ty thể, rồi đi ra ngoài ty thể và tiếp tục con đường "tân tạo glucose". Các loại PEP carboxykinase ở ty thể và bào tương được mã hoá bởi các gen khác nhau trong nhân tế bào. Đây là một ví dụ điển hình về 2 enzym xúc tác cùng một phản ứng nhưng có vị trí khu trú và vai trò chuyển hoá khác nhau.

+ Chu trình Cori (hình 8.21) là chu trình khép kín của quá trình biến hoá glucose → lactat → glucose xảy ra do sự phối hợp chuyển hoá giữa gan và cơ. Khi hoạt động cơ cực mạnh (lao động gắng sức), cơ sử dụng glycogen làm nguồn năng lượng nhờ con đường Đường phân yếm khí. Trong thời kỳ hồi phục, một phần lactat tạo ở cơ được chuyển qua máu vào gan và được dùng để tân tạo glucose, giải phóng vào máu rồi lại trở về cơ tân tạo glycogen dự trữ.

– Biến đổi fructose 1,6 diphosphat thành fructose - 6 - phosphat (đường vòng 2).

Vì phản ứng phosphoryl hoá F6P nhờ phospho - fructo - kinase - 1 trong con đường Đường phân là không thuận nghịch (hình 8.18) nên sự tạo thành F6P từ F-1,6 - DP ở gan phải được xúc tác bởi một enzym khác, đó là fructose - 1,6 - diphosphatase với sự có mặt của Mg^{2+}. Enzym này xúc tiến sự thuỷ phân không thuận nghịch của phosphat ở C-1.

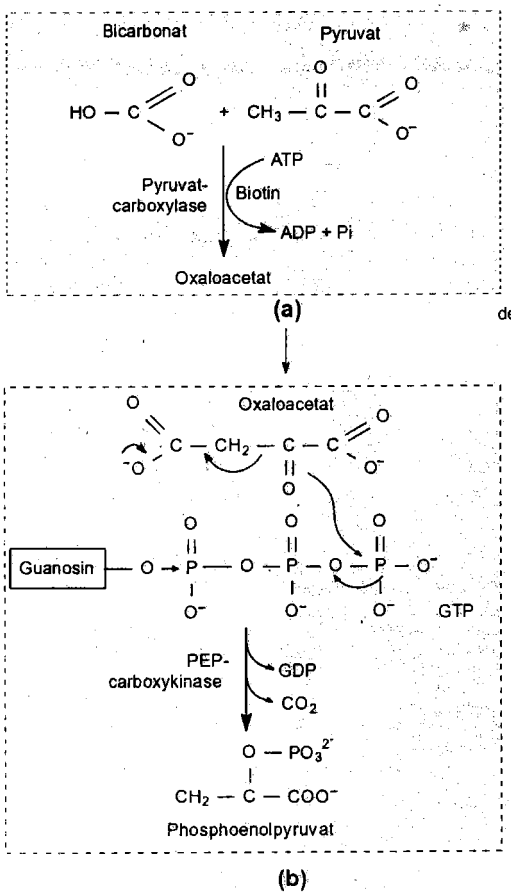
$$Fructose - 1,6 - diphosphat + H_2O \longrightarrow Fructose - 6 - phosphat + Pi.$$

– Biến đổi glucose - 6 - phosphat thành glucose tự do (đường vòng 3)

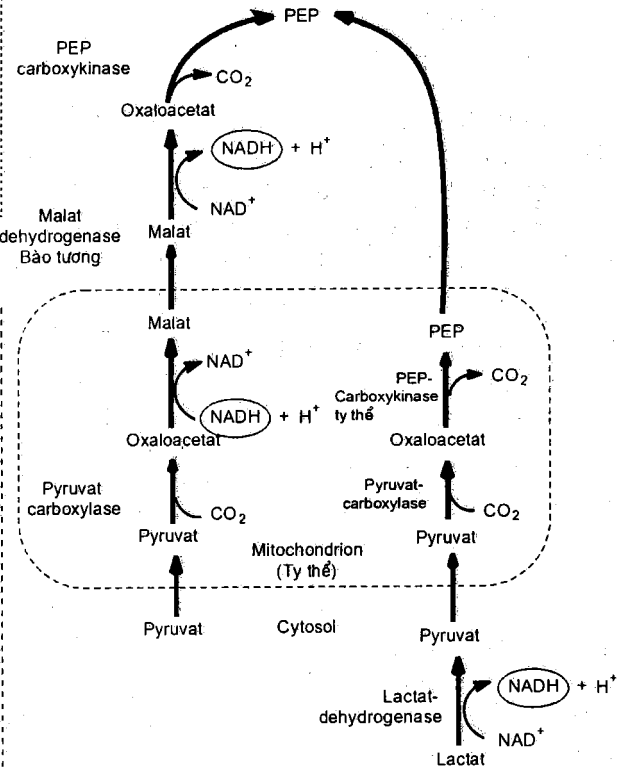
Phản ứng phosphoryl hoá glucose trong con đường Đường phân được xúc tác bởi hexokinase. Còn phản ứng thuỷ phân tạo glucose lại do glucose - 6 - phosphatase xúc tác:

$$Glucose - 6 - phosphat + H_2O \longrightarrow Glucose + Pi$$

THƯ VIỆN HUBT
TRUNG TÂM PHỤC VỤ TRAO ĐỔI HỌC THUẬT



Hình 8.19. Tổng hợp phospho enol pyruvat từ pyruvat



Hình 8.20. Hai con đường biến đổi pyruvat thành PEP. Con đường tóm tắt bên phải chiếm ưu thế khi lactat là tiền thân vì có NADH được sinh ra ở bào tương do phản ứng xúc tác của lactat dehydrogenase

Hoạt động của enzym này cũng cần có Mg^{2+} và chỉ tìm thấy trong hệ thống lưới nội tương của tế bào gan. Ở não và cơ, glucose được cung cấp từ quá trình tân tạo glucose ở gan và quá trình tiêu hoá thức ăn qua máu.

TÓM LẠI: trên thực tế cả 2 con đường Đường phân và tân tạo glucose trong tế bào đều là những quá trình không thuận nghịch. Biểu diễn cân bằng các phản ứng sinh tổng hợp glucose từ pyruvat như sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2 pyruvat + 4ATP + 2GTP + 2NADH + $2H^+$ + $4H_2O$ ⟶ Glucose + 4ADP + 2GDP + 6Pi + $2NAD^+$

Để tạo thành một phân tử glucose từ pyruvat, phải có 6 nhóm phosphat giàu năng lượng (4 nhóm từ ATP và 2 nhóm từ GTP) và thêm 2 phân tử NADH cần để khử 2 phân tử 1,3 DPG. Còn trong con đường Đường phân, sự biến đổi glucose thành pyruvat chỉ tạo 2 phân tử ATP.

$$\text{Glucose} + 2ADP + 2Pi + 2NAD^+ \longrightarrow 2\text{pyruvat} + 2ATP + 2NADH + 2H^+ + 2H_2O$$

Như vậy, năng lượng sử dụng cho quá trình tổng hợp glucose từ pyruvat là khá "đắt" nhưng quan trọng và cần thiết để đảm bảo tính không thuận nghịch của sự tân tạo glucose.

b. Tổng hợp glucose từ các sản phẩm trung gian của chu trình Krebs và các acid amin cho đường

– Ngoài pyruvat, các chất trung gian trong chu trình Krebs như citrat, isocitrat, α -cetoglutarat, succinat, fumarat và malat cũng có thể oxy hoá cho OA. Tuy nhiên chỉ có 3 nguyên tử C của OA được biến đổi thành glucose, còn C thứ tư thì được giải phóng dưới dạng CO_2 trong phản ứng biến đổi OA → PEP bởi PEP - carboxykinase (hình 8.19).

– Nhiều acid amin dẫn xuất từ protein có khả năng biến đổi thành glucose qua một số sản phẩm trung gian của chu trình Krebs như pyruvat, α- cetoglutarat, succinyl–CoA, fumarat oxaloacetat (bảng 8.2). Những acid amin này được gọi là acid amin cho đường. Alanin và glutamin là những phân tử chủ yếu đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển vào gan các nhóm amin từ các tổ chức ngoài gan. Sau khi loại nhóm amin trong ty thể gan, các khung C còn lại (pyruvat và α -cetoglutarat) sẽ tham gia vào con đường tân tạo glucose. Những acid amin trong bảng đều là tiền chất của glucose huyết hay glycogen ở gan. Chỉ có leucin và lysin là không thể tổng hợp được glucose.

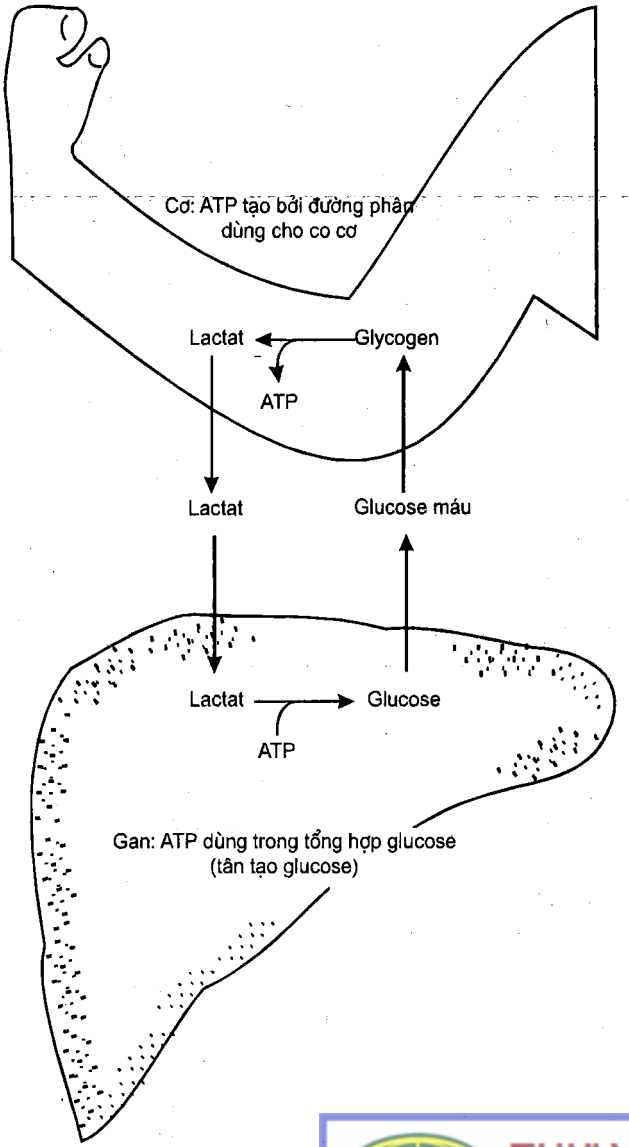
Bảng 8.2. *Các acid amin cho đường nhóm theo chất trung gian trong chu trình Krebs*

Pyruvat	Succinyl-CoA
Alanin Serin Cystein Glycin Tryptophan	Valin Threonin Methionin Isoleucin
α-cetoglutarat Glutamat Glutamin Prolin Arginin Histidin	Fumarat * Phenylalanin * Tyrosin Oxaloacetat Asparagin Aspartat
* Các acid amin này còn là acid amin cho ceton	

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các acid béo (AB) có số carbon chẵn không thể là nguồn C để tổng hợp glucose vì sản phẩm oxy hoá của chúng chỉ là acetyl - CoA. Chất này không thể biến đổi thành pyruvat do phản ứng xúc tác bởi pyruvat dehydrogenase là không thuận nghịch. Hơn nữa, 2C của acetat mỗi khi đi vào chu trình Krebs đều bị mất dưới dạng CO_2 cũng không thể có sự biến đổi thành oxaloacetat hay pyruvat. Các

acid amin thoái hoá cho acetyl-CoA cũng không tạo được đường. Tuy nhiên, AB vẫn có thể tham gia vào con đường tân tạo glucose một cách gián tiếp: sự oxy hoá AB ở gan khi đói cung cấp một lượng lớn ATP và NADH cần cho quá trình tân tạo glucose về mặt lượng.



Hình 8.21. Chu trình Cori

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

c. Tổng hợp glucose từ glycerol

Glycerol là một sản phẩm thoái hoá của tổ chức mỡ. Đây là tổ chức có glycerokinase là enzym cần ATP để xúc tác biến đổi glycerol thành glycero - 3-phosphat. Chất này có liên quan đến các triose - phosphat tạo ra trong con đường Đường phân vì nó có thể oxy hoá thành dihydroxy aceton phosphat bởi NAD^+ dưới tác dụng của glycerol - 3 - phosphat dehydrogenase. Gan và thận cũng có khả

năng biến đổi glycerol thành glucose huyết bằng cách sử dụng các enzym nói trên cùng với một số enzym thuộc con đường Đường phân và những enzym đặc hiệu cho con đường tân tạo glucose như fructose - 1,6 - diphosphatase và glucose - 6 - phosphatase (hình 8.22).

3.1.2. Tổng hợp glucose từ các ose khác

Quá trình này được tiến hành chủ yếu ở gan. Sau khi được tiêu hoá và hấp thu, các ose khác ngoài glucose đi theo tĩnh mạch cửa về gan, ở đó chúng được biến đổi thành glucose để vào máu, tới các cơ quan khác hoặc được tổng hợp thành glycogen dự trữ.

Từ fructose (F): có hai con đường tổng hợp glucose (G) (hình 8.23):

– Phosphoryl hoá F thành F1P dưới tác dụng của fructokinase. Đây là con đường tổng hợp chính ở gan. Sau đó, F1P có thể:

+ Hoặc cắt đôi phân tử bởi aldolase thành 2 triose: phospho dihydroxy aceton (PDA) và glyceraldehyd (GA). GA tiếp tục phosphoryl hoá bởi glycerokinase (GK) và ATP để tạo thành phosphoglyceraldehyd (PGA). Dưới tác dụng của aldolase, 2 triose phosphat này kết hợp với nhau tạo F - 1,6 - DP. Nhờ có F-1,6-diphosphatase, chất này lại bị thủy phân gốc phosphat ở C-1 tạo F6P.

+ Hoặc được phosphoryl hoá lần 2 tạo F 1,6-DP nhờ phospho fructokinase rồi tiếp tục biến đổi thành F6P như trên.

– Phosphoryl hoá F thành F6P dưới tác dụng của hexokinase. Con đường này ít xảy ra hơn do hoạt tính enzym rất thấp.

F6P tạo thành được đồng phân hoá tạo G6P dưới tác dụng của phosphohexo isomerase và có thể được gan sử dụng để tổng hợp glycogen hay glucose tự do.

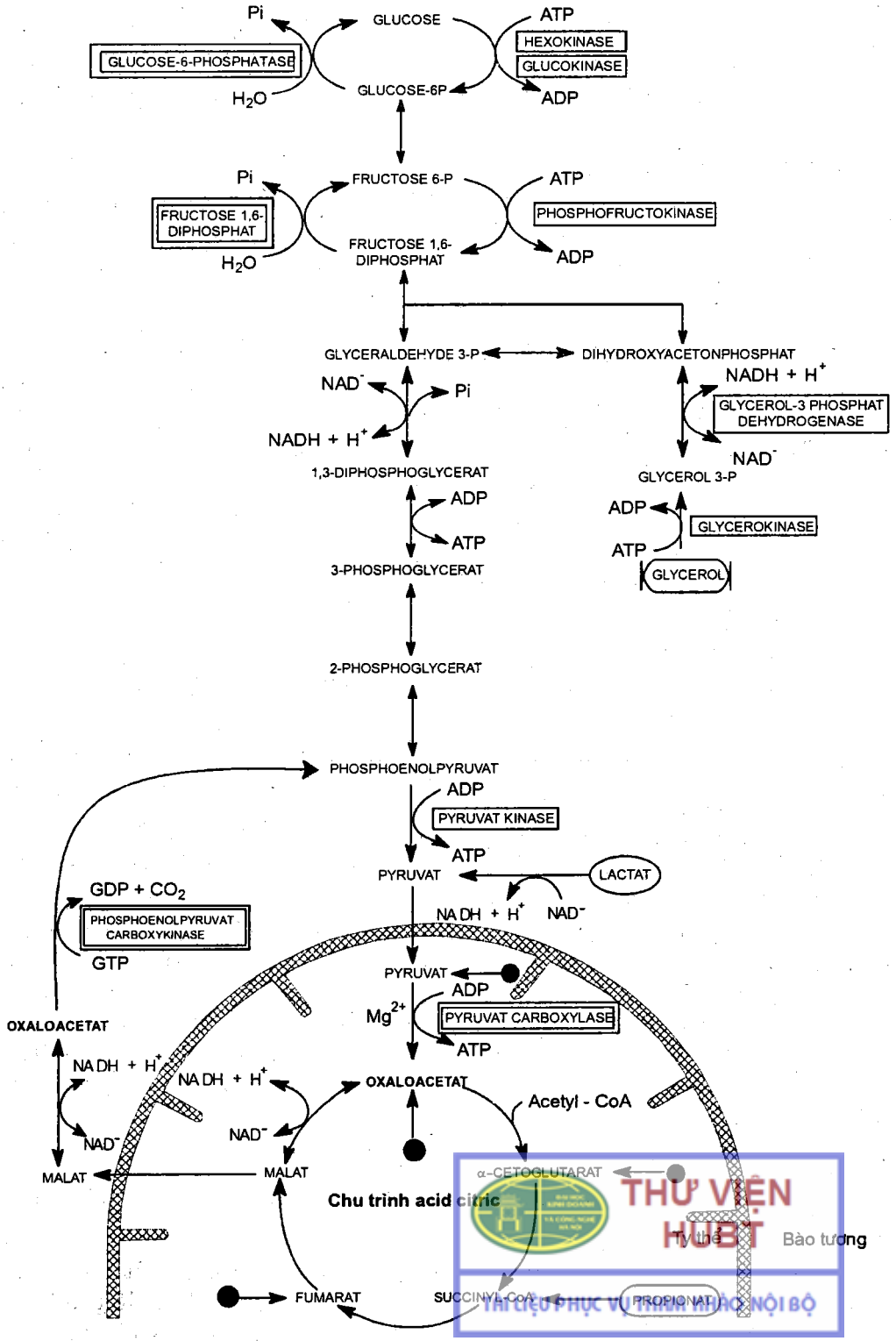
Từ mannose (Man): Man được phosphoryl hoá nhờ hexokinase thành Man 6P (hình 8.23), chất này được đồng phân hoá dưới tác dụng của phospho mannose isomerase tạo F6P, rồi tiếp tục đồng phân hoá thành G6P.

Từ galactose (Gal): đầu tiên Gal bị phosphoryl hoá ở C1 tạo Gal 1P. Chất này phản ứng tiếp với uridyl diphospho glucose (UDPG) để tạo thành UDPGal và G1P. Trong phản ứng này, Gal đã thế chỗ của glucose trong phân tử UDPG dưới tác dụng của Gal1P uridyl transferase. Sau đó, UDPGal được epimer hoá thành UDPG, từ đó được tổng hợp thành glycogen (xem phần sau). Glycogen được thoái hoá thành G1P rồi đồng phân hoá thành G6P, cuối cùng biến hoá thành glucose như đã trình bày trong phần 2.1.

3.2. Tổng hợp glycogen

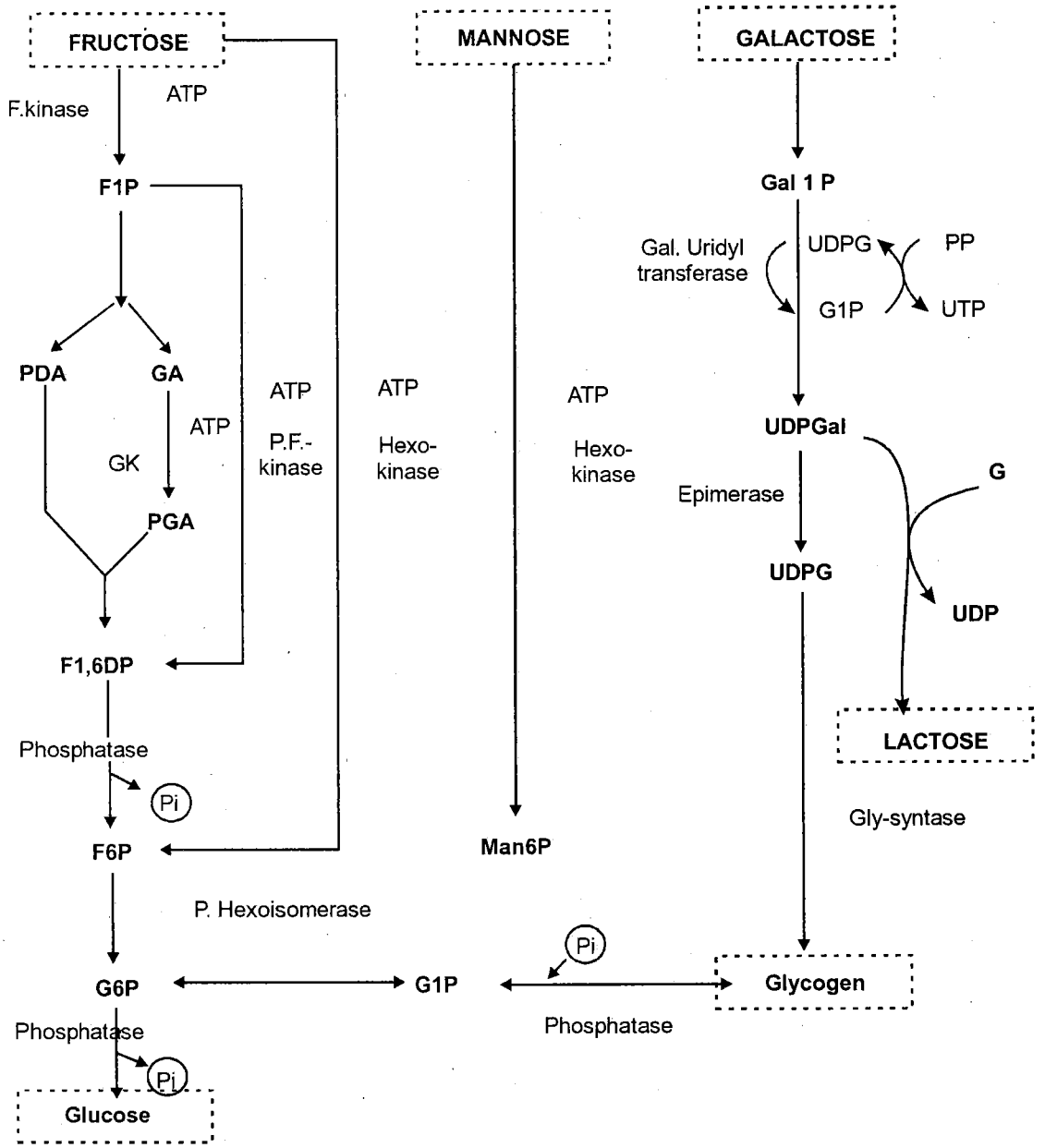
Tổng hợp glycogen xảy ra ở mọi tổ chức nhưng mạnh nhất là ở gan và cơ xương. Ở gan, glycogen đóng vai trò dự trữ glucose và sẵn sàng cung cấp glucose cho các tổ chức khác sử dụng, đồng thời nó bảo đảm mức đường huyết hằng định trong máu kể cả thời điểm xa bữa ăn. Còn ở cơ, glycogen được dùng để thoái hoá thành glucose theo con đường Đường phân, cung cấp năng lượng ATP cho sự co cơ.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 8.22. Các con đường liên quan đến sự tân tạo đường ở gan

● *Chỉ các acid amin cho đường* ▭ *Các enzym chính trong quá trình tân tạo đường*



Hình 8.23. Tổng hợp glucose từ các ose khác ở gan

Quá trình tổng hợp glycogen bắt đầu từ G6P là sản phẩm do phản ứng phosphoryl hoá glucose xúc tác bởi hexokinase (ở gan) và glucokinase (ở cơ):

D-glucose + ATP → D-glucose-6-phosphat + ADP

Tuy nhiên, phần lớn G6P lại là sản phẩm của con đường tân tạo glucose; Glucose trong thức ăn được hấp thu vào máu, biến đổi thành lactat rồi được gan thu nhận và biến đổi thành G6P. Từ G6P, nó được đồng phân hoá thuận nghịch thành G 1P nhờ phosphoglucomutase:

Glucose-6-phosphat ⇌ Glucose-1phosphat

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

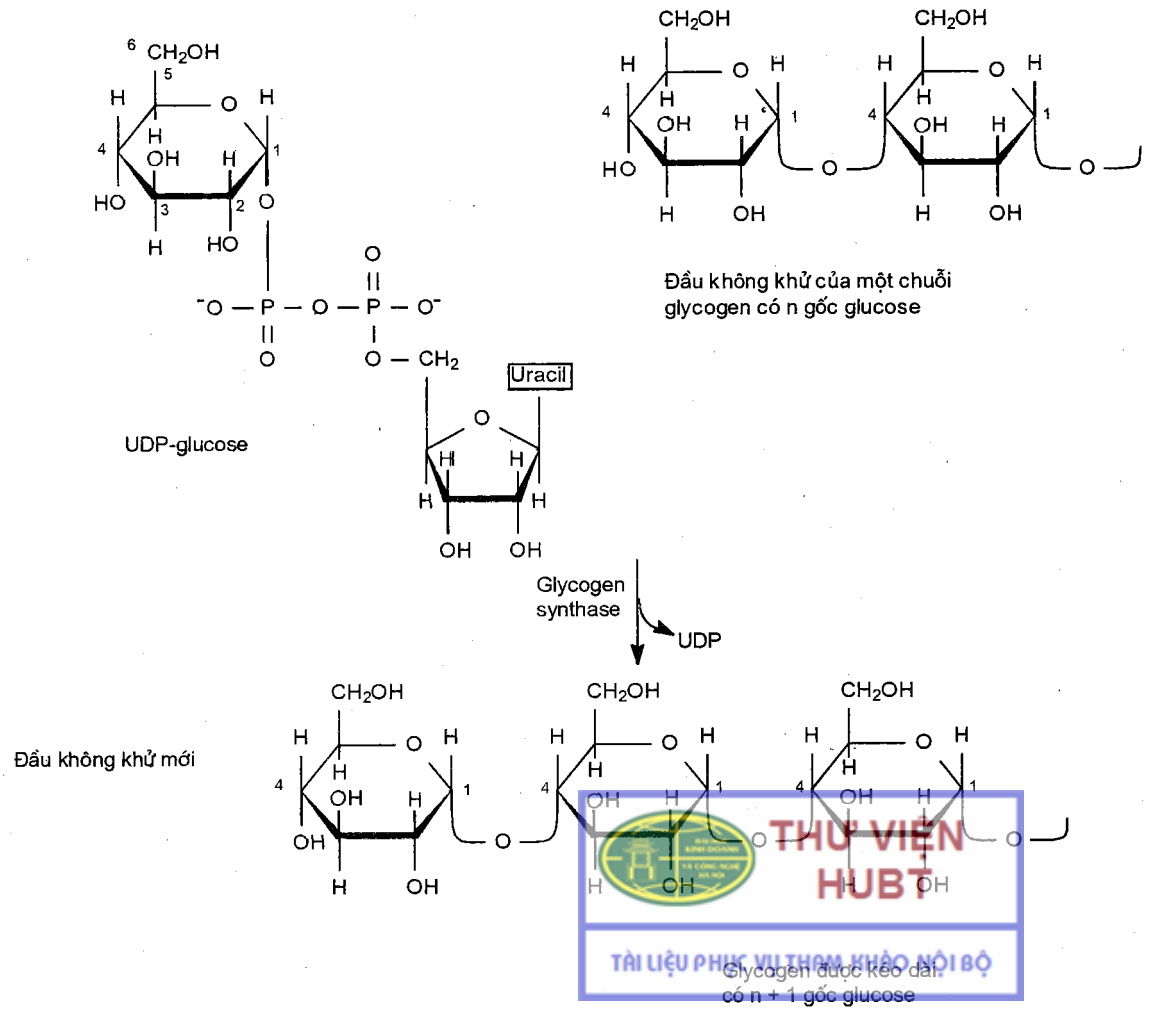
Tiếp theo là phản ứng then chốt nhất trong quá trình tổng hợp glycogen: Phản ứng tạo UDP - glucose (UDPG) xúc tác bởi UDPG pyrophosphorylase:

Glucose-1-phosphat + UTP → UDP - glucose + PPi

Phản ứng này xảy ra theo chiều tạo UDPG vì pyrophosphat bị thuỷ phân rất nhanh thành orto phosphat nhờ có pyrophosphatase vô cơ.

UDPG chính là chất trung gian để biến đổi galactose thành glucose. Nó là "chất cho" gốc glucose trong quá trình tổng hợp glycogen dưới tác dụng của glycogen synthase. Có thể có hai trường hợp xảy ra:

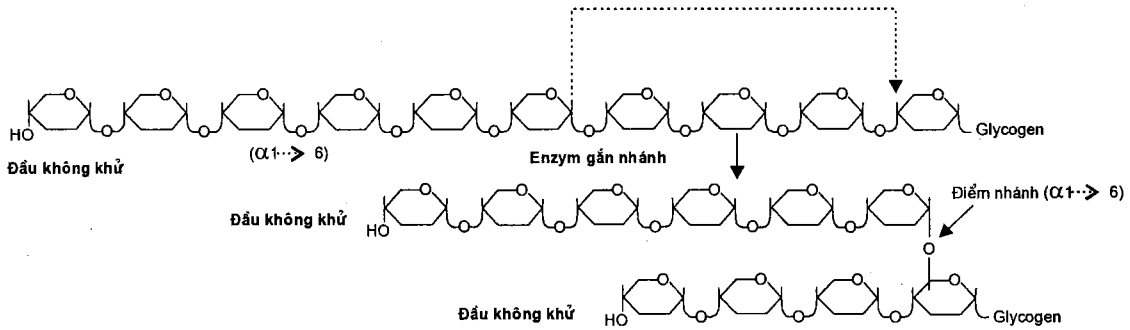
- Enzym glycogen synthase xúc tiến việc chuyển gốc glycosyl từ UDPG tới gắn vào đầu không khử (C-4) của một phân tử glycogen có n gốc glucose có sẵn (hình 8.24) để tạo thêm một liên kết mới (α-1→) glucosid, nghĩa là tạo thành glycogen có n+1 gốc glucose.



Hình 8.24. Sự kéo dài chuỗi glycogen bởi glycogen synthase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Khi tạo thêm được ít nhất là 6 phân tử glucose thì enzym gắn thành amylo (1→4 – 1→6) - transglycosylase hay glycosyl (4→6) - transferase có tác dụng vừa cắt đứt liên kết (α-1→4) - glucosid của đoạn glycogen mới tạo ra, vừa chuyển đến gắn vào OH của C-6 của gốc glucose trên cùng một chuỗi hay chuỗi khác tạo ra một điểm nhánh mới (α -1→6) trong quá trình tổng hợp glycogen (hình 8.25).



Hình 8.25. Sự tạo thành 1 điểm nhánh (α-1→6) trong quá trình tổng hợp glycogen bởi enzym gắn nhánh

Sau đó mạch nhánh mới tạo thành lại được kéo dài ra nhờ tác dụng của glycogen synthase dẫn đến tạo các liên kết mới (α-1→4) glucosid. Quá trình trên được lặp lại làm cho số lượng mạch nhánh tăng dần lên cho đến khi đạt được một phân tử glycogen có cấu trúc phù hợp với nhu cầu của tế bào.

Như vậy, tác dụng sinh học của sự gắn nhánh là làm cho phân tử glycogen dễ tan hơn và số đầu không khử của nó tăng lên, do đó phản ứng được nhiều hơn với cả glycogen phosphorylase và glycogen synthase.

- Trường hợp không có chuỗi glucan sẵn và mở đầu cho quá trình tổng hợp glycogen cần phải có một chất mồi protein gọi là glycogenin (M~ 37284). Chất này được tìm thấy ở đầu khử của các phân tử glycogen. Quá trình tổng hợp diễn biến theo 5 giai đoạn (hình 8.26).

– *Giai đoạn 1:* một gốc glucose từ UDPG gắn vào gốc Tyr^{194} của glycogenin nhờ xúc tác của protein-tyrosin-glucosyl transferase.

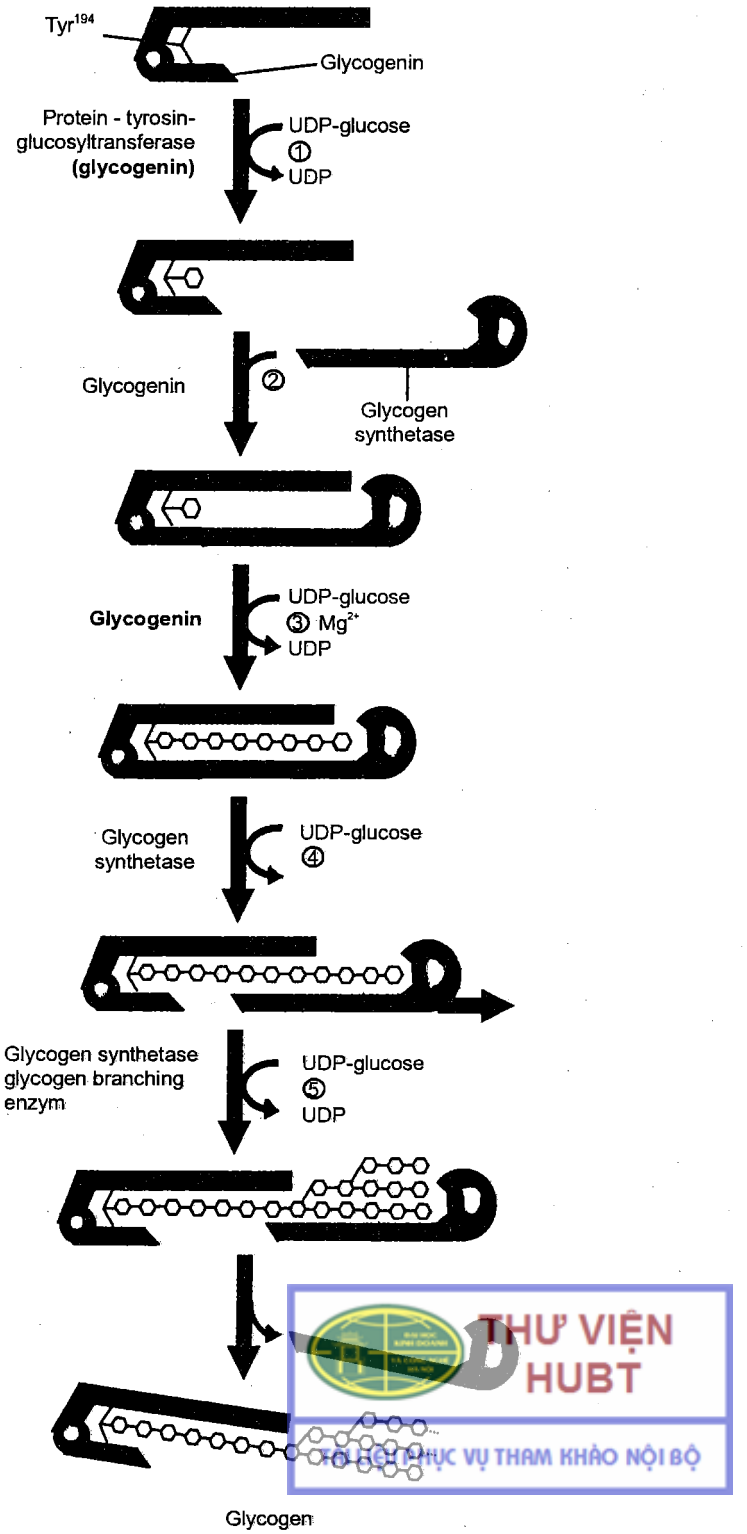
– *Giai đoạn 2:* tạo phức hợp của glycogenin đã gắn glucose với glycogen synthase theo tỷ lệ 1:1.

– *Giai đoạn 3:* kéo dài chuỗi glucan tới khi tạo chuỗi gồm 7 gốc glucose hay nhiều hơn. Mỗi gốc glucose mới gắn vào đều đi từ UDPG và đó là những phản ứng tự xúc tác thông qua glucosyl transferase của glycogenin.

– *Giai đoạn 4:* glycogen synthase tách dần khỏi glycogenin.

– *Giai đoạn 5:* hoàn thành phân tử glycogen nhờ phối hợp tác dụng của glycogen syntase và enzym gắn nhánh (glycogen branching enzym). Cuối cùng, glycogenin vẫn gắn vào một đầu của phân tử glycogen đã được tạo thành.

THƯ VIỆN HUBT



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 8.26. Tổng hợp glycogen bằng một chất mồi protein (glycogenin)
Glycogen branching enzym: enzym gắn nhánh glycogen

3.3. Tổng hợp lactose

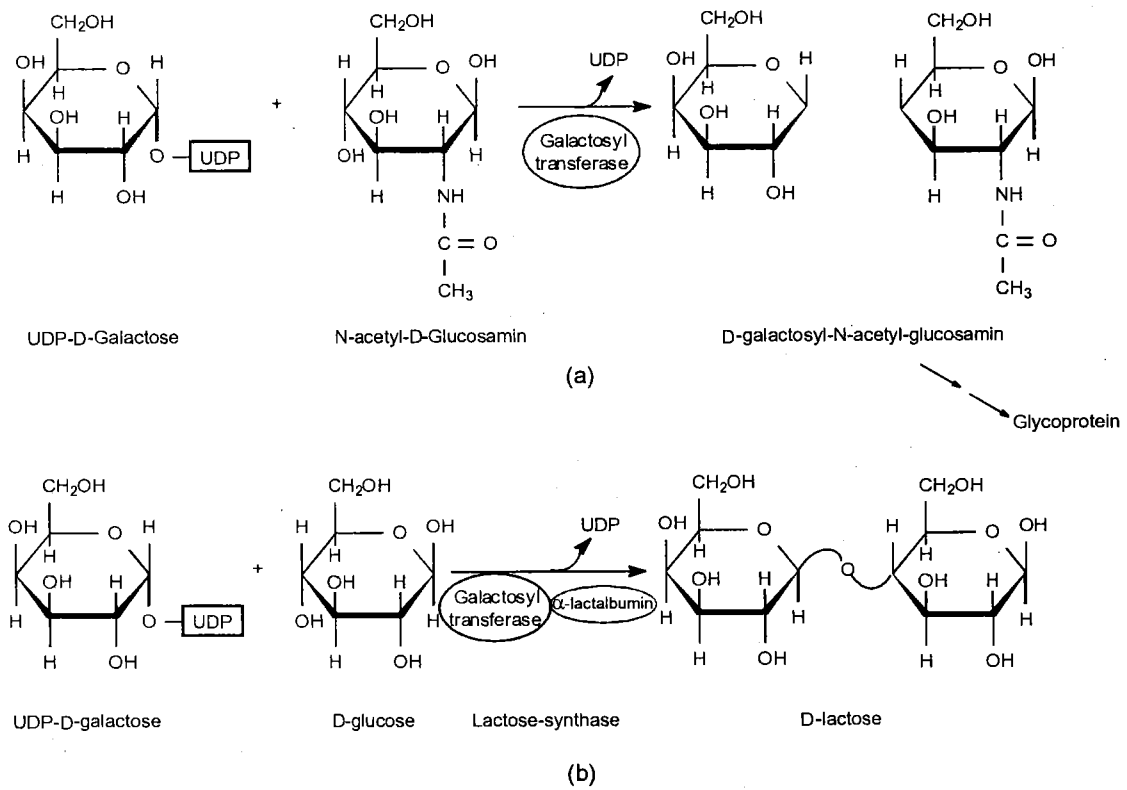
Lactose là disaccharid duy nhất được cơ thể tổng hợp. Nó được tổng hợp ở tuyến sữa của phụ nữ trong thời kỳ có thai và cho con bú.

Quá trình tổng hợp lactose được thực hiện nhờ phức hợp enzym α - lactalbumin-galactosyl transferase (lactose synthase) sử dụng UDP - galactose và glucose làm cơ chất (hình 8.27b).

UDP-D galactose + D-glucose → D-lactose + UDP.

Chính α-lactalbumin được điều hoà bởi các hormon kích thích tạo sữa đã đóng vai trò quan trọng làm thay đổi tính đặc hiệu của galactosyl transferase ở những tổ chức khác, có chức năng tổng hợp đường glycoprotein chứa galactose (hình 8.27a).

UDP-D-galactose + N-acetyl-D-glucosamin → D-galactosyl-N-acetyl-D-glucosamin +UDP.



Hình 8.27. Hai phản ứng xúc tác khác nhau của galactosyl-transferase phụ thuộc vào sự có mặt của α-lactalbumin

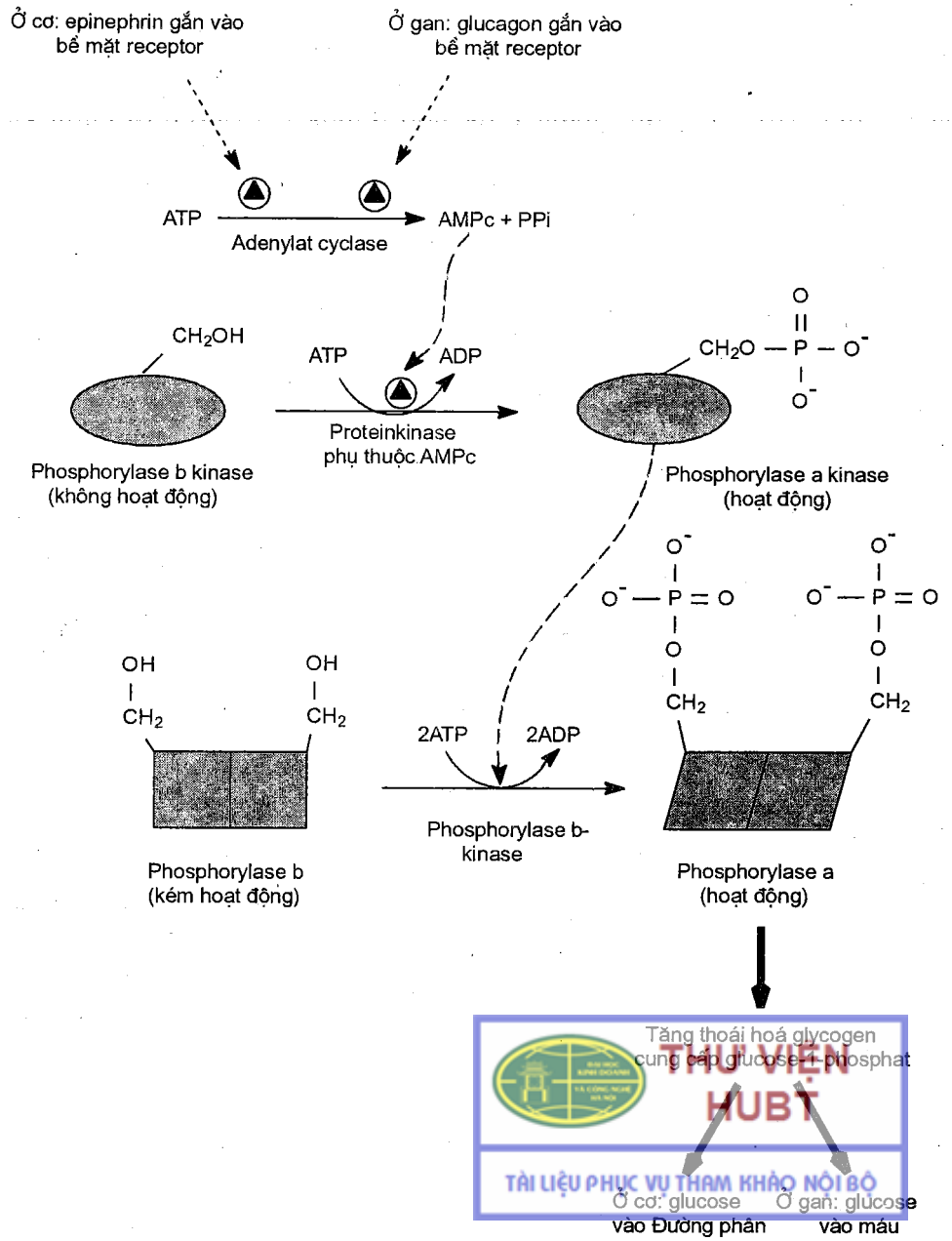
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. Điều hoà chuyển hoá glucid

4.1. Điều hoà các enzym chủ chốt trong con đường Đường phân

Có 4 enzym đóng vai trò điều hoà trong con đường Đường phân ở tổ chức cơ và gan. Đó là glycogen phosphorylase, hexokinase, phospho fructosekinase-1 và pyruvat kinase.

Glycogen phosphorylase được điều hoà bởi adrenalin (ở cơ) và glucagon (ở gan). Các hormon này có tác dụng hoạt hoá một chuỗi enzym dẫn đến hoạt hoá glycogen phosphorylase b (không hoạt động) thành a (hoạt động), do đó kích thích sự thoái hoá glycogen thành glucose. Ở cơ, glucose sẽ đi vào con đường Đường phân tạo ATP cần cho quá trình co cơ; còn ở gan, glucose được giải phóng vào máu (hình 8.28).



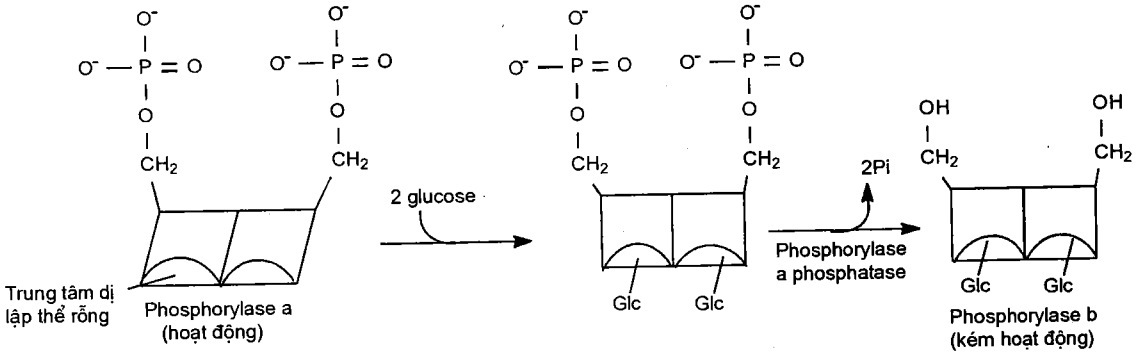
Hình 8.28. Điều hoà glycogen phosphorylase ở cơ và gan bằng hormon

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Glycogen phosphorylase ở cơ và gan còn được điều hoà bằng cơ chế dị lập thể với chất điều hoà dị lập thể khác nhau: AMP (ở cơ) và đường huyết (ở gan).

– AMP hoạt hoá glycogen phosphorylase b ở cơ thành dạng a hoạt động khi có nhu cầu co cơ (ATP < AMP do tăng thoái hoá ATP → AMP). Vì vậy, phosphorylase b còn được gọi là dạng phụ thuộc AMP. Ngược lại, khi ATP cao (ATP> AMP ở trạng thái nghỉ của cơ) sẽ ngăn cản sự hoạt hoá nói trên do phá vỡ trung tâm gắn AMP của enzym. Ngoài AMP calci (tín hiệu nội tế bào của sự co cơ) cũng đóng vai trò là chất hoạt hoá dị lập thể của glycogen phosphorylase b ở cơ xương: sự tăng tạm thời của calci trong co cơ cũng làm biến đổi đồng thời phosphorylase b thành dạng a hoạt động.

– Ở gan, khi đường huyết tăng, glucose được gắn rất nhậy vào trung tâm dị lập thể glycogen phosphorylase a, làm thay đổi cấu dạng và để lộ các gốc Ser^{14} cho phosphorylase a phosphorylase a tác dụng vào, gây biến đổi dạng a thành b kém hoạt động. Bằng cách này glycogen đóng vai trò là receptor của gan đối với glucose mỗi khi nồng độ glucose trong máu tăng quá mức bình thường (hình 8.29).



Hình 8.29. Điều hoà dị lập thể glycogen phosphorylase bởi glucose ở gan

Hexokinase ở cơ xúc tác sự phosphoryl hoá glucose thành G6P để thoái hoá theo con đường Đường phân. Enzym này bị ức chế dị lập thể bởi chính sản phẩm G6P của nó. Nhưng glucokinase ở gan lại bị ức chế bởi isomer F6P, chất này luôn luôn cân bằng với G6P nhờ phosphoglucose isomerase. Sự ức chế đó bị huỷ bỏ khi có mặt trung gian của một protein điều hoà cũng có ái lực với F1P, do đó cạnh tranh với F6P và giải ức chế đối với glucokinase. F1P chỉ có mặt ở gan khi có một lượng fructose ở trong máu, vì vậy, tác dụng của protein điều hoà chứng minh fructose trong ống tiêu hoá đã kích thích quá trình phosphoryl hoá glucose ở gan.

Tụy giải phóng insulin khi đường huyết tăng cũng có tác dụng kích thích đồng thời cả hexokinase và protein điều hoà.

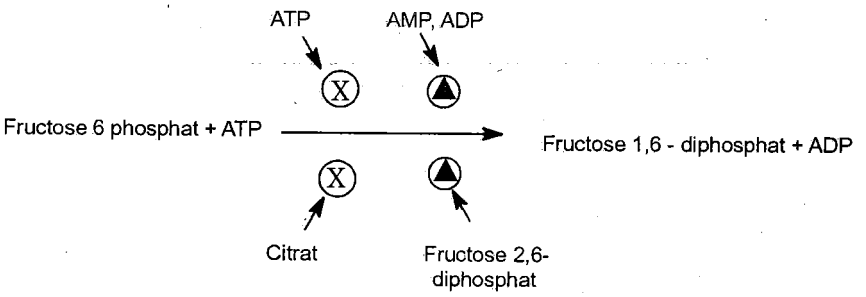
Pyruvat kinase bị ức chế dị lập thể bởi ATP do ATP làm giảm ái lực của enzym đối với cơ chất của nó là PEP. Bình thường PEP không có đủ nồng độ cao trong tế bào để bão hoà enzym cho nên phản ứng thường là yếu.

Pyruvat kinase cũng bị ức chế bởi acetyl CoA và bởi acid béo có chuỗi dài là những chất đốt quan trọng của chu trình Krebs. Như vậy, khi một tế bào có nồng độ ATP tăng hay khi đã có một lượng lớn chất đốt khác sẵn sàng cung cấp năng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

lượng trong chuỗi hô hấp thì con đường Đường phân bị ức chế do những chất ức chế kể trên làm giảm tác dụng của pyruvat kinase. Nhưng khi ATP bị giảm thì ái lực của enzym đối với PEP lại tăng lên, cho phép tổng hợp ATP ngay cả khi nồng độ PEP tương đối thấp để đảm bảo luôn luôn có một nồng độ ATP nhất định.

Phospho fructokinase-1 (PEK-1) chịu một quá trình điều hoà dị lập thể phức tạp (hình 8.30). Ngoài trung tâm gắn các cơ chất của nó là F6P và ATP, phức hợp enzym này còn có chứa một số trung tâm điều hoà, có thể gắn các chất hoạt hoá (▲) hay ức chế (ⓧ) dị lập thể có thể.



Hình 8.30. Tóm tắt các chất điều hoà có ảnh hưởng đến PFK-1

Chất điều hoà dị lập thể quan trọng nhất của PFK-1 là fructose - 2,6 - di phosphat. Chất này có khả năng hoạt hoá mạnh PFK-1. Sự giảm nồng độ của nó ở gan dưới tác dụng của glucagon làm chậm quá trình thoái hoá glucose theo con đường Đường phân và kích thích tổng hợp glucose ở gan.

4.2. Điều hoà tương hỗ giữa hai con đường Đường phân và tân tạo đường

Trong cơ thể, ở điều kiện bình thường của tế bào nếu 2 phản ứng trái ngược nhau của 2 con đường thoái hoá và tổng hợp cùng xảy ra một lúc thì sẽ dẫn đến hiện tượng hao phí năng lượng vô ích dưới dạng nhiệt. Ví dụ: PFK-1 và F-1,6-DPase xúc tác 2 phản ứng ngược nhau:

$$ATP + F6P \rightarrow ADP + F + F\text{-}1,6\text{-}DP$$

$$F\text{-}1,6\text{-}DP + H_2O \rightarrow F6P + Pi$$

Tổng của phản ứng tạo thành:

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi + H^+ + nhiệt$$

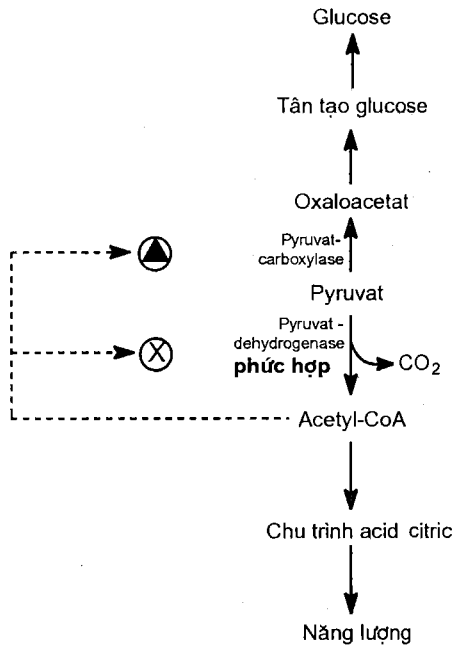
Những chu trình tiêu hao năng lượng do thuỷ phân ATP nhưng không hề được sử dụng cho một quá trình chuyển hoá nào được gọi là "chu trình vô ích". Để tránh tạo ra những chu trình kiểu đó, giữa hai con đường Đường phân và tân tạo đường có sự điều hoà lẫn nhau, nghĩa là khi các phản ứng đường phân được kích thích thì những phản ứng tân tạo đường bị ức chế và ngược lại:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Enzym đầu tiên của mỗi con đường (hình 8.31) được điều hoà theo cơ chế dị lập thể: acetyl-CoA hoạt hoá pyruvat carboxylase và ức chế phức hợp pyruvat dehydrogenase, do đó kích thích con đường tân tạo đường và ức chế con đường Đường phân.

Cũng như vậy, F-2,6-DP đóng vai trò quan trọng trong việc điều hoà cân bằng giữa 2 con đường Đường phân và tân tạo đường. Nó hoạt hoá PFK-1 (enzym của con đường Đường phân) nhưng lại ức chế F-1,6-DPase (enzym tân tạo đường).

Nồng độ của F-2,6-DP phản ánh mức độ của glucagon trong máu: glucagon có tác dụng làm giảm nồng độ F-2,6-DP trong tế bào, do đó ức chế con đường Đường phân và kích thích tân tạo đường giúp cho gan làm nhiệm vụ điều hoà đường huyết.



Hình 8.31. Hai con đường Đường phân và tân tạo đường đi từ pyruvat. Vai trò hoạt hoá (▲) và ức chế (Ⓧ) của acetyl-CoA

4.3. Điều hoà đường huyết

Có thể có 3 nguồn glucose đi vào máu:

+ Glucose từ thức ăn qua đường tiêu hoá, tĩnh mạch cửa vào gan.
+ Các chất tạo glucose qua quá trình tân tạo đường.
+ Glycogen thoái hoá ở gan.

Nồng độ glucose huyết dao động từ 60mg/dl (3,4 mmol/l) lúc đói và đạt tới 130mg/dl (7,3mmol/l) sau bữa ăn.

Để duy trì nồng độ glycose huyết bình thường, cơ thể phải huy động một số cơ chế điều hoà bao gồm gan, các tổ chức ngoài gan và hormon.

Tế bào gan cho glucose tự do qua lại một cách dễ dàng nhờ các enzym đặc biệt và một số chất trung gian chính. Còn ở các tổ chức ngoài gan, sau khi đã gia nhập vào tế bào, glucose được phosphoryl hoá ngay bởi hexokinase để thoái hoá cung cấp năng lượng cho các tế bào đó. Tuy nhiên, chính đường huyết mới là yếu tố quan trọng để kiểm soát tỷ lệ glucose ở cả gan và tổ chức ngoài gan: khi đường huyết bình thường thì gan sản xuất glucose để cung cấp cho các tổ chức; khi đường huyết tăng, glucose sẽ ngừng vận chuyển ra ngoài gan, nhưng nếu đường tăng quá cao thì gan lại thu nạp glucose từ máu để biến đổi thành glycogen dự trữ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hormon đóng vai trò quan trọng trong điều hoà đường huyết:

– *Insulin* do tế bào β của tụy sản xuất, gây hạ đường huyết. Quá trình này được kích thích bởi acid amin, acid béo, thể ceton, glucagon, secretin và tolbutamid; nhưng bị ức chế bởi adrenalin và noradrenalin. Insulin kích thích mạnh sự gia nhập glucose vào tổ chức mỡ và cơ (do vận chuyển dễ dàng glucose qua màng tế bào tới các chất vận chuyển insulin nằm ở trong tế bào). Ở gan không xảy ra hiện tượng này nhưng có tác dụng gián tiếp trên các enzym điều hoà quá trình đường phân và tân tạo đường.

– *Hormon thuỳ trước tuyến yên* sản xuất ra các hormon đối kháng với insulin: ACTH, GH, làm giảm sự gia nhập glucose vào cơ. Tuy nhiên, tác dụng này còn phụ thuộc vào lượng acid béo được huy động từ tổ chức mỡ gây ức chế quá trình sử dụng glucose. Điều trị kéo dài bằng GH dẫn đến bệnh đái tháo đường, kích thích bài tiết insulin, do đó thông thường làm suy cạn tế bào β của tụy.

– *Các glucocorticoid của vỏ thượng thận* gây tăng tân tạo đường do làm tăng thoái hoá protein ở tổ chức, tăng gia nhập acid amin vào gan và hoạt hoá transaminase cùng với các enzym khác trong quá trình tân tạo đường ở gan. Ngoài ra, chúng còn có tác dụng ức chế sử dụng glucose ở các tổ chức ngoài gan.

– *Adrenalin* gây thoái hoá glycogen ở gan và cơ do kích thích phosphorylase. Ở cơ, do thiếu G6Pase nên sự thoái hoá glycogen sẽ dẫn đến tạo lactat. Còn ở gan, glucose là sản phẩm chính gây tăng đường huyết.

– *Glucagon* được kích thích bài tiết bởi tế bào α của tụy khi đường huyết giảm dưới mức bình thường. Tới gan (qua tĩnh mạch cửa), glucagon kích thích sự thoái hoá glycogen bằng cách hoạt hoá phosphorylase theo cơ chế giống như adrenalin. Ngoài ra, nó còn kích thích tân tạo đường từ acid amin và lactat. Kết quả của những quá trình đó dẫn đến tăng đường huyết.

– *Hormon tuyến giáp* cũng gây tăng đường huyết.

Thận cũng đóng vai trò quan trọng trong điều hoà đường huyết: bình thường, glucose được lọc qua cầu thận, song nhờ khả năng tái hấp thu ở ống thận mà toàn bộ glucose lại được trở về máu. Khi đường huyết tăng thì dịch lọc cầu thận có khả năng chứa một lượng glucose nhiều hơn lượng glucose có thể được tái hấp thu ở ống thận, do đó xuất hiện glucose trong nước tiểu. Ở người bình thường, đường niệu sẽ xuất hiện khi nồng độ glucose trong máu tĩnh mạch vượt quá 170-180mg/dl (~9,8 mMol/l), mức độ này được gọi là ngưỡng thận của glucose.

Có thể tạo đường niệu ở động vật thí nghiệm bằng phlorizin, chất này ức chế sự tái hấp thu glucose ở ống thận và gây tình trạng đường niệu do thận.

Ở người, nguyên nhân sinh bệnh có thể do di truyền ở thận hay có thể mắc phải sau một quá trình bệnh lý như bệnh đái tháo đường.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5. Rối loạn chuyển hoá glucid

5.1. Sự dung nạp glucose

Mức độ dung nạp glucose là khả năng sử dụng glucose của cơ thể, khả năng này thường thay đổi tuỳ theo các hiện tượng bệnh lý:

– Dung nạp glucose giảm trong bệnh đái tháo đường do bài tiết insulin kém, tổn thương gan, bệnh nhiễm khuẩn, bệnh béo phì và đôi khi trong vữa xơ động mạch. Ngoài ra còn gặp trong trường hợp tăng các hormon đối kháng với insulin liên quan đến hoạt động của tuyến yên và vỏ thượng thận.

– Insulin gây tăng sử dụng glucose đồng thời với việc dự trữ dưới dạng glycogen ở gan và cơ. Tiêm một lượng thừa insulin có thể gây hạ đường huyết trầm trọng dẫn đến co giật và chết nếu không đưa glucose vào kịp thời. Ở người, hiện tượng co giật do hạ đường huyết xảy ra khi nồng độ glucose huyết giảm tới khoảng 20mg/dl (~1,12mMol/l) hay thấp hơn. Sự tăng dung nạp glucose còn có thể gặp trong những trường hợp suy tuyến yên hay vỏ thượng thận làm giảm tác dụng đối kháng bình thường với insulin dẫn đến thừa hormon này.

5.2. Bệnh đái tháo đường (Diabète mellitus)

Đây là một bệnh điển hình của sự rối loạn chuyển hoá glucid do nguyên nhân thiếu hormon insulin của tụy. Biểu hiện đặc trưng về hoá sinh của bệnh này là glucose huyết cao, có glucose trong nước tiểu và tuỳ theo mức độ của bệnh mà có thể kèm theo những rối loạn về chuyển hoá lipid, chuyển hoá muối nước, và cân bằng acid - base.

Do thiếu insulin khi tụy bị tổn thương nên, khả năng thấm của glucose qua màng tế bào kém, nồng độ glucose tăng cao trong máu và dịch gian bào (khu vực ngoài tế bào) trong khi tế bào bị thiếu glucose để chuyển hoá dẫn đến tình trạng "đói" năng lượng, vì thế tế bào bắt buộc phải tăng cường thoái hoá các cơ chất khác, đặc biệt là các lipid. Quá trình oxy hoá acid béo sẽ tạo nhiều acetyl-CoA, nhưng tổng điều kiện thoái hoá glucid kém, chúng không thể được đốt cháy hoàn toàn trong chu trình Krebs (vì thiếu chất mồi oxaloacetat). Do đó các acetyl-CoA bị ức đọng, chuyển hoá theo hướng tạo các thể cetonic (acid acetoacetic, acid β - hydroxy butyric và aceton), đào thải ra ngoài theo đường nước tiểu và hơi thở. Glucose trong máu đạt đến nồng độ cao quá ngưỡng thận sẽ bị đào thải ra nước tiểu. Tình trạng đói năng lượng trong tế bào của các tổ chức sẽ dẫn đến trạng thái rối loạn chức năng và làm thoái hoá các tổ chức đó, biểu hiện trên lâm sàng là đục thuỷ tinh thể, tổn thương hệ thống mạch máu, xương, răng; nhiễm khuẩn, v.v. .. Các thể cetonic cùng với một số sản phẩm trung gian acid khác bị ức đọng trong cơ thể sẽ gây tình trạng nhiễm acid chuyển hoá làm cho chức năng của các tế bào càng bị rối loạn thêm.

5.3. Bệnh thiếu vitamin B_1

Vitamin B_1 ở dưới dạng thiamin pyrophosphat (TPP) là coenzym của các phức hợp enzym khử carboxyl oxy hoá pyruvat và α - cetoglutarat. Khi thiếu vitamin B_1, sự thoái hoá pyruvat bị giảm hoặc ngừng trệ, dẫn đến ứ đọng pyruvat trong máu, do đó tế bào bị lâm vào tình trạng đói năng lượng giống như trong bệnh đái tháo đường, hậu quả là sẽ dẫn đến tình trạng rối loạn chức năng của thận, tim... và rối loạn trao đổi nước.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.4. Bệnh rối loạn chuyển hoá glycogen (glycogenose)

Một số enzym trong quá trình thoái hoá glycogen bị giảm hoặc mất hoạt tính xúc tác do thiếu hụt hay sai lệch về cấu trúc (bệnh Von Gierke do thiếu G6Pase)..

dẫn đến tình trạng ứ đọng glycogen hoặc sản phẩm thoái hoá dở dang của nó (các dextrin) ở các tổ chức, đặc biệt là ở gan và cơ. Biểu hiện thường gặp trên lâm sàng là: gan to, rối loạn hoạt động cơ, hạ đường huyết khi đói...

5.5. Bệnh galactose huyết bẩm sinh

Do thiếu galactose uridin transferase nên không có phản ứng biến đổi galactose thành glucose. Trên lâm sàng, trẻ không dung nạp được sữa (ỉa chảy, nôn sau khi bú, suy dinh dưỡng). Galactose bị ứ đọng ở gan gây suy gan, dẫn đến tử vong.

5.6. Bệnh hạ đường huyết tự phát

Là do có khối u tế bào β của các đảo Langerhans (ở phần thân tụy) gây tăng tiết insulin. Hậu quả là thường xuyên bị hạ đường huyết dẫn đến những cơn hôn mê ở thời điểm xa bữa ăn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 9

CHUYỂN HOÁ LIPID

MỤC TIÊU

1. *Nêu được các phản ứng thuỷ phân lipid ở bộ máy tiêu hoá và ở tổ chức.*
2. *Chứng minh được vai trò cung cấp năng lượng và các sản phẩm chuyển hoá trung gian của thoái hoá acid béo.*
3. *Trình bày được các quá trình tổng hợp acid béo, triglycerid và phosphatid.*
4. *Nêu được quá trình vận chuyển lipid của lipoprotein; qua đó giải thích được một số thuốc hạ cholesterol máu.*
5. *Giải thích được nguyên nhân gây bệnh vữa xơ động mạch, gan nhiễm mỡ liên quan đến rối loạn chuyển hoá lipid.*

CHUYỂN HOÁ LIPID

Trong cơ thể người và động vật, lipid có hai vai trò chính là: cung cấp, dự trữ năng lượng và tham gia cấu tạo tế bào.

Khả năng cung cấp năng lượng của lipid lớn hơn glucid và protein. Một gam triglycerid (TG) phân giải đến cùng sẽ giải phóng 9,3Kcal, còn một gam glucid hay protein phân giải chỉ giải phóng 4,1Kcal.

Lipid dự trữ chủ yếu là triglycerid ở tổ chức mỡ dưới da. Lượng lipid dự trữ thay đổi theo chế độ ăn và trạng thái cơ thể. Bình thường lượng lipid dự trữ có thể cung cấp năng lượng cho cơ thể hoạt động nhẹ từ 20-35 ngày. Lipid trong các mô mỡ cũng được thay đổi theo thời gian từ 10-20 ngày.

Lipid tham gia cấu tạo màng tế bào, màng nhân, màng các tiểu thể trong tế bào và có mặt trong thành phần của bào tương; dạng lipid này hầu hết là lipid phức tạp và chủ yếu là phospholipid và có hàm lượng tương đối ổn định khoảng 10% khối lượng khô của tổ chức. Lipid phức tạp cũng được đổi mới luôn.

Ngoài ra, lipid còn có vai trò bảo vệ, điều hoà thân nhiệt, hấp thu và vận chuyển các chất tan trong dầu, đặc biệt là các vitamin A, D, E, K và các hormon steroid.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhu cầu về lipid thức ăn đối với người thay đổi theo tuổi và điều kiện làm việc. Khoảng 60-100g đối với người lớn và 30-60g đối với trẻ em trong một ngày.

1. Tiêu hoá và hấp thu lipid

Lipid thức ăn hầu hết là triglycerid. Tuỳ theo nguồn gốc mà các TG có các acid béo (AB) khác nhau và thuỷ phân ở những mức độ khác nhau. TG có AB không bão hoà và mạch ngắn dưới 10 carbon dễ bị tiêu hoá và hấp thu hơn.

Các dầu thực vật (trừ dầu dừa, dầu cọ) thường có tỷ lệ AB không bão hoà, đặc biệt là các AB cần thiết cao hơn mỡ động vật. Bơ (lipid lấy từ sữa) thường có AB mạch ngắn hơn các lipid khác; cho nên, giá trị sinh học của lipid phụ thuộc vào bản chất cấu tạo AB của lipid.

1.1. Tiêu hoá lipid

Trong miệng lipid không bị thay đổi vì trong nước bọt không có enzym phân giải lipid.

Trong dạ dày lipid có thể bị thuỷ phân do trong dịch vị có một lượng nhỏ lipase.

Trong điều kiện lipid đã được nhũ tương, pH không quá acid, lipase dạ dày có thể thuỷ phân một phần TG, đặc biệt là ở trẻ em còn bú, lipid trong sữa ở dạng nhũ tương và pH dịch vị cao hơn. Nhưng ở người lớn, sự thuỷ phân lipid ở dạ dày không đáng kể.

Ruột non là nơi thuỷ phân chủ yếu lipid do có nhiều yếu tố thuận lợi.

Ở tá tràng, trước hết acid hydrocloric được trung hoà bởi muối bicarbonat có trong dịch tụy, dịch ruột và một phần muối mật của dịch mật.

1.1.1. Sự nhũ tương hoá lipid

Lipid được nhũ tương hoá thành các hạt mỡ nhỏ ly ti bởi các muối mật có trong dịch mật.

Dịch mật do tế bào gan tiết ra, được dự trữ ở túi mật và đổ vào tá tràng sau bữa ăn.

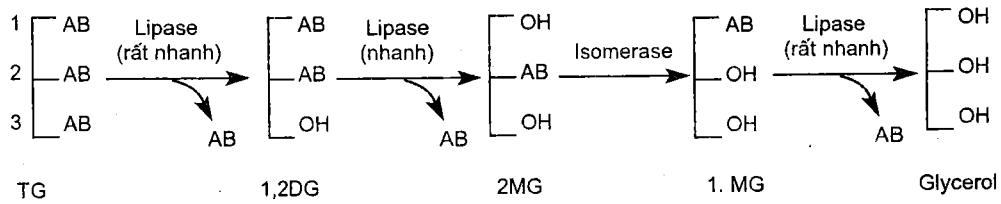
Thành phần của dịch mật gồm có các muối mật, sắc tố mật và cholesterol tự do. Muối mật là muối kép natri, glycin hay taurin với các acid mật. Acid mật có 4 loại: acid cholic, acid deoxycholic, acid litocholic và acid chenodeoxycholic. Các acid mật có các nhóm có cực và nhóm không cực cho nên dễ xen vào các hạt lipid, làm giảm sức căng mặt ngoài, làm cho các hạt lipid tách ra thành các hạt nhỏ dưới dạng nhũ tương bền vững. Ở trạng thái nhũ tương, lipid có tổng diện tích bề mặt rất lớn để lipase tiếp xúc tác dụng.

1.1.2. Sự thuỷ phân lipid

– Thuỷ phân triglycerid: lipase do tuyến tụy tiết ra, được hoạt hoá bởi acid mật, có tác dụng thuỷ phân liên kết este của acid béo và glycerol trong TG (hình 9.1).

Lipase tách các acid béo khỏi triglycerid với tốc độ khác nhau tuỳ thuộc vị trí của acid béo trong phân tử triglycerid (TG). Do lipase chỉ đặc hiệu với liên kết 1 và 3 của TG nên sự thuỷ phân 2-monoglycerid (MG) đòi hỏi sự vận chuyển AB sang vị trí C-1 của glycerol trước khi được thuỷ phân. Các AB ở vị trí 1 và 3 được tách ra đầu tiên, acid béo ngắn (butyrat) được tách ra trước những AB dài (palmitat).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



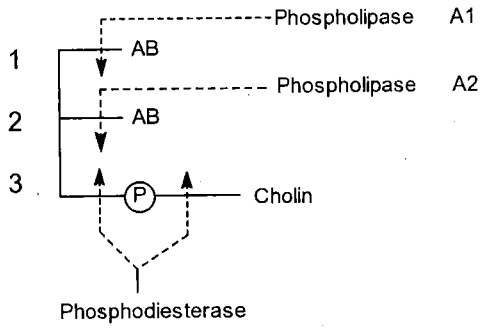
Hình 9.1. Tác dụng của lipase thuỷ phân triglycerid

Sự thuỷ phân TG ở hành tá tràng không hoàn toàn nên có sự tạo thành một hỗn hợp các sản phẩm trung gian gồm TG, DG, MG, glycerol, AB.

– Thuỷ phân phospholipid: các phosphatid được thuỷ phân bởi các men phospholipase (PL). Có 4 loại phospholipase, mỗi loại thuỷ phân một trong các liên kết este của phân tử phospholipid:

+ Phospholipase A1 (PLA1) cắt liên kết este của chức alcol ở C-1. Phospholipase A1 có trong các lysosom và màng của lách, não, gan và đặc biệt nhiều trong dịch tụy.

+ Phospholipase A2 (PLA2) cắt liên kết este của chức alcol ở C-2. Phospholipase A2 có ở nọc độc rắn, dịch tụy.



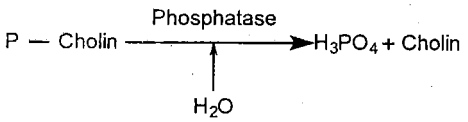
Hình 9.2. Tác dụng thuỷ phân của các phospholipase lên lecithin

Dưới tác dụng của PLA1 hoặc PLA2, phospholipid sẽ chuyển thành lysophosphatid còn lại một acid béo. Trường hợp phospholipid là lecithin, sản phẩm thuỷ phân của PLA1 hoặc PLA2 là lysolecithin (hình 9.2).

+ Phosphodiesterase có ở trong tế bào ruột, đặc hiệu với liên kết phosphodieste. Có thể cắt một trong hai liên kết este của một dieste phosphoric: cắt liên kết este giữa acid phosphoric và cholin, giải phóng cholin và acid glycerophosphatidic hoặc cắt liên kết este giữa acid phosphoric và glycerol, giải phóng diglycerid và phosphorylcholin.

THƯ VIỆN HUBT
LƯU HÀNH NỘI BỘ

Phosphomonoesterase (phosphatase) tiếp tục thuỷ phân phosphorylcholin giải phóng acid phosphoric và cholin.



– Thuỷ phân sterid: các sterid thường là cholesterolester được thuỷ phân nhờ enzym cholesterol esterase giải phóng AB và cholesterol.

1.2. Hấp thu và vận chuyển lipid thức ăn vào cơ thể

Hỗn hợp lipid bị thuỷ phân chưa hoàn toàn (thực tế là một nhũ tương gồm acid béo, mono và diglycerid, phospholipid ít nhiều đã bị phân huỷ, các sterol, v.v...) được hấp thu qua màng ruột nhờ acid mật.

Glycerol và acid béo chuỗi ngắn dưới 10 carbon tới gan theo đường máu, chủ yếu qua tĩnh mạch cửa. Những acid béo chuỗi dài cùng các mono và diglycerid được sử dụng để tổng hợp lại triglycerid ở màng ruột. Triglycerid mới được tổng hợp này theo bạch mạch dưới dạng hạt lipoprotein gọi là chylomicron (vi thể dưỡng trấp) đổ vào máu để vận chuyển tới các cơ quan và tổ chức mỡ.

Trong mao mạch của các tổ chức, các triglycerid của chylomicron được thuỷ phân bởi lipoproteinlipase, do tế bào tổ chức tiết ra và được hoạt hoá bởi apo C-II thành AB và glycerol. Ở cơ, các AB bị oxy hoá để giải phóng năng lượng; ở tổ chức mỡ các AB lại được este hoá thành TG dự trữ. Phần chylomicron tồn dư được vận chuyển về gan; ở đây, TG bị thuỷ phân cho AB và glycerol. AB có thể bị oxy hoá cho năng lượng hay cho cetonic hoặc được tổng hợp lại thành lipid và được vận chuyển tới các tổ chức khác dưới dạng VLDL (lipoprotein có tỷ trọng rất thấp, sẽ trình bày kỹ ở phần sau).

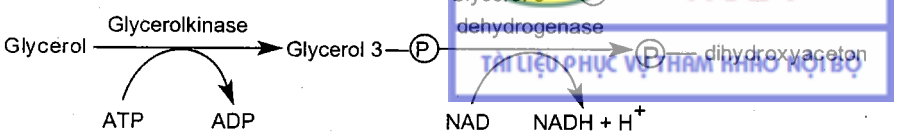
2. Thoái hoá lipid

Khi các hormon báo hiệu cần năng lượng cho cơ thể, triglycerid dự trữ ở các tổ chức mỡ được thoái hoá và vận chuyển tới các tổ chức (cơ, xương, tim, thận), ở đó các AB có thể được oxy hoá tạo năng lượng. Các hormon làm tăng sự thoái hoá TG là glucagon và epinephrin, tác dụng thông qua hoạt hoá adenylatcyclase. AB được vận chuyển trong máu dưới dạng liên kết với một loại albumin huyết thanh (Mr = 62.000).

2.1. Thoái hoá glycerol

Glycerol cung cấp khoảng 5% năng lượng do quá trình oxy hoá. Glycerol là sản phẩn tân tạo glycogen nhưng không được mô mỡ trực tiếp sử dụng để tổng hợp glycogen vì mô mỡ không có glycerolkinase xúc tác phản ứng sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



P - dihydroxyaceton tiếp tục con đường Embden Meyerhof hoặc tân tạo glycogen

2.2. Thoái hoá acid béo bão hoà có số carbon chẵn

Các AB được oxy hoá ở rất nhiều tổ chức, nhất là các tổ chức: mỡ, gan, phổi, thận, tim. Trong các tổ chức, các AB không ở dạng tự do mà kết hợp với glycerol tạo thành glycerid. Tuỳ theo nhu cầu của cơ thể, các glycerid mới được thuỷ phân để giải phóng AB.

2.2.1. Thuyết β - oxy hoá acid béo bão hoà

Những công trình nghiên cứu của Knoop (1904), Embden (1906) và Dakin (1909) là những cơ sở đầu tiên về cơ chế thoái hoá AB. Cơ sở lý thuyết này hiện nay vẫn còn giá trị.

Theo những tác giả trên, AB được oxy hoá dần dần từng giai đoạn và ở mỗi giai đoạn AB bị cắt ngắn đi một mẩu hai carbon. Knoop đã làm thí nghiệm tiêm cho chó những AB ghi dấu số carbon chẵn và mang gốc nhân thơm. Bắt đầu từ chất acid octanoic, tác giả đã phát hiện được ở trong nước tiểu chó thí nghiệm có những sản phẩm trung gian liên hợp với glycin.

Kiểu thoái hoá AB bằng cách loại ra lần lượt một mẩu hai carbon gọi là sự β - oxy hoá. Carbon β của AB ban đầu sẽ trở thành carbon đầu của AB mới tạo thành.

2.2.2. Hoạt hoá acid béo và vận chuyển acyl CoA qua màng ty thể

Giai đoạn đầu tiên của quá trình β - oxy hoá AB là sự hoạt hoá AB thành acyl CoA. Nhóm carboxyl của AB tác dụng với nhóm thiol của CoA để cho một thioeste. Phản ứng cần sự có mặt của ATP, Mg^{++} và một thiokinase, còn gọi là acyl synthetase.

$$R\text{–}CH_2\text{–}CH_2\text{–}COOH + CoASH + ATP \xrightarrow[Mg^{++}]{\text{Thiokinase}} R\text{–}CH_2\text{–}CH_2\text{–}CO\sim SCoA + AMP + 2Pi$$

Acyl CoA

Hình 9.3. Phản ứng hoạt hoá acid béo bão hoà

Có nhiều loại thiokinase khác nhau, tương ứng với từng loại AB ngắn hoặc dài, một cho AB dưới 4 carbon, một cho acid từ 4-12 carbon và một cho loại acid trên 12 carbon.

Quá trình hoạt hoá AB chuỗi dài thành acyl CoA xảy ra ở phía ngoài của màng trong của ty thể, tức khu vực giữa hai màng (hoạt hoá AB chuỗi ngắn, dưới 4 carbon xảy ra ở trong ty thể).

Quá trình β - oxy hoá xảy ra ở trong ty thể vì các enzym cần thiết cho sự β - oxy hoá tập trung ở matrix của ty thể, trái lại các acyl CoA lại có nhiều ở tế bào chất. Các acyl CoA lại không vượt qua được màng ty thể, như vậy sẽ có sự trở ngại cho sự β - oxy hoá. Vấn đề được sáng tỏ khi ta biết là sự β - oxy hoá AB được kích thích bởi carnitin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Carnitin có nhiều trong cơ và nhiều tổ chức khác như: gan, huyết tương. Carnitin là một acid amin bậc 4 mang một chức alcol nhì, có thể este hoá với AB.

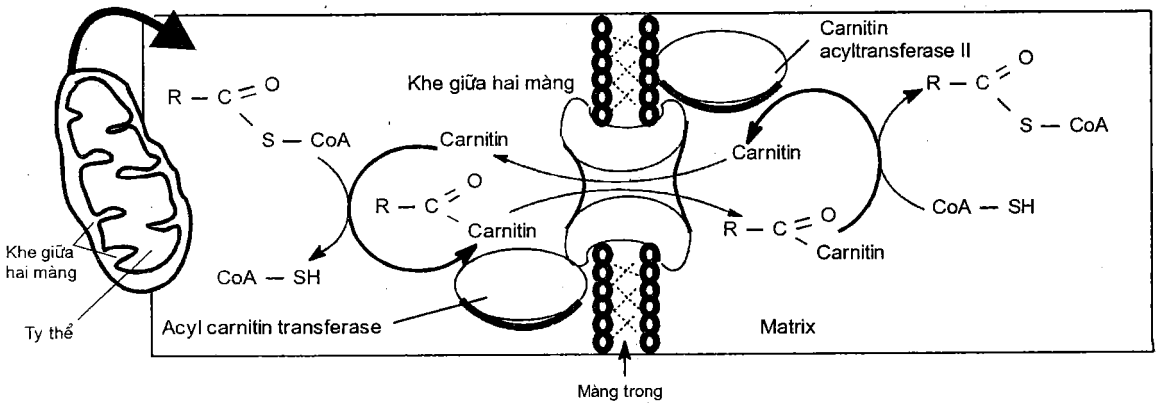
Phản ứng este hoá carnitin với AB được xúc tác nhờ acyl carnitin transferase, enzym này có ở màng ty thể.



Hình 9.4. Phản ứng tạo thành (1) và phân huỷ (2) acyl carnitin nhờ acyl carnitin transferase

– Chiều (1) xảy ra ở mặt ngoài của màng trong ty thể tức khu vực giữa hai màng của ty thể.

– Chiều (2) xảy ra ở mặt trong của màng trong ty thể (tức trong matrix).



Hình 9.5. Quá trình vận chuyển acyl CoA qua màng ty thể bởi carnitin

Trong khi acyl CoA chuỗi dài không qua được màng trong của ty thể, acyl carnitin có thể qua dễ dàng màng này. Sau khi vào trong ty thể, acyl carnitin lại giải phóng carnitin và acyl CoA. Acyl CoA lúc này mới bắt đầu quá trình β - oxy hoá.

2.2.3. Bốn phản ứng của quá trình β - oxy hoá

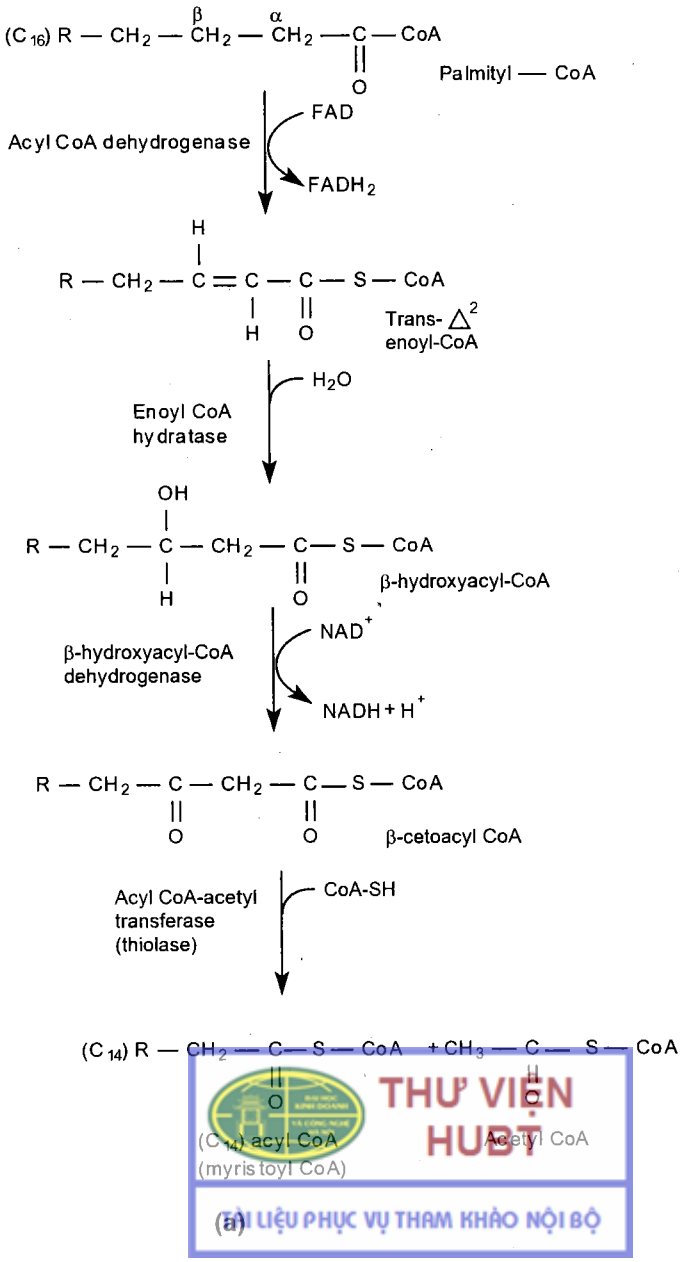
Quá trình β - oxy hoá xảy ra ở trong matrix của ty thể gồm 4 phản ứng. Sau 4 phản ứng, tách ra một mẩu acetyl-CoA, tức mẩu acetat hoạt động có 2 carbon.

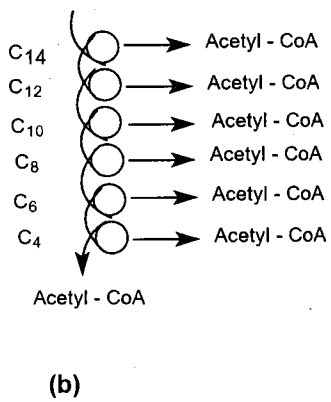
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Phản ứng oxy hoá lần một tạo thành trans Δ^2– enoyl CoA, phản ứng này được xúc tác nhờ acyl CoA dehydrogenase có coenzym là FAD. $FADH_2$ tạo thành được oxy hoá lại bởi những enzym trong chuỗi hô hấp tế bào. AB chứa bão hoà tạo thành trong phản ứng này có cấu trúc trans, trong khi đó phần lớn AB thiên nhiên thuộc loại cis.

– Phản ứng hợp nước: hydrat hoá enoyl CoA tạo thành β hydroxyacyl CoA. Phản ứng này được xúc tác bởi enol hydratase hay thiol crotonase. Việc gắn một phân tử nước tạo ra một acid alcol bậc nhì, gốc - OH được gắn vào carbon β của chuỗi AB.

– Phản ứng oxy hoá lần hai: oxy hoá chức alcol bậc nhì thành β cetoacyl CoA nhờ xúc tác của β- hydroxy acyl CoA dehydrogenase có coenzym là NAD^+. Chức alcol nhì được chuyển thành chức ceton.





THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 9.6. Con đường β - oxy hoá acid béo

– Cắt dẫn xuất β cetonic: dẫn xuất β - cetonic ở phản ứng trên được cắt ra một mẩu hai carbon không phải do quá trình thuỷ phân mà do phản ứng phân thiol nhờ xúc tác của β- cetothiolase cùng sự có mặt của một phân tử CoASH mới (xem hình 9.6).

Cuối cùng, sau một vòng của quá trình này đã tách ra được một phân tử acetyl-coA và một phân tử acyl CoA ngắn đi hai carbon so với AB ban đầu vào phản ứng. Phân tử acyl CoA ngắn đi hai carbon lại tiếp tục bốn giai đoạn của sự β-oxy hoá. Ví dụ một phân tử acid palmitic có 16C sau khi hoạt hoá thành palmitic CoA sẽ qua 7 vòng oxy hoá, giải phóng 8 phân tử acetyl-CoA (xem hình 9.6). Phương trình tổng quát oxy hoá palmityl CoA như sau:

Palmityl CoA + 7FAD + 7NAD^+ + 7CoA–SH + 7H_2O ⟶ 8acetyl CoA + 7$FADH_2$ + 7NADH + 7H^+

2.2.4. Bilan năng lượng của sự β - oxy hoá

Quá trình β - oxy hoá xảy ra ở trong ty thể. Năng lượng giải phóng do quá trình oxy hoá cho phép tổng hợp ra ATP. Như đã biết, trong chuỗi hô hấp tế bào, sự oxy hoá tiếp một phân tử NADH + H^+ giải phóng 3 ATP và một phân tử $FADH_2$, giải phóng 2 ATP. Như vậy, mỗi vòng β - oxy hoá cung cấp 5 ATP và tách ra được một mẩu acetyl CoA. Những khái niệm trên cho phép tính toán bilan của sự oxy hoá.

Một phân tử AB có số carbon chẵn 2n, sau khi oxy hoá sẽ cho:

n phân tử acetyl CoA hoặc 12n phân tử ATP.

(n-1) phân tử $FADH_2$ và $NADH_2$ hoặc 5(n-1) ATP, như vậy sự oxy hoá đến cùng một phân tử AB có số carbon là 2n sẽ cho:

[5(n-1) + 12n] ATP

Nếu trừ đi 2 ATP do đã được dùng trong quá trình hoạt hoá AB, thì số lượng ATP thu được sẽ là:

[5(n-1) + 12n] - 2 = 17n-7

Ví dụ:

- Sự oxy hoá một phân tử palmitat 16 carbon (n=8) sẽ cung cấp: (17x8)-7 = 129 ATP (3935 KJ).
- Sự oxy hoá một phân tử AB có 6 carbon (n = 3) sẽ cung cấp (17x3)-7 = 44 ATP.

THƯ VIỆN HUBT

Trong khi đó, một phân tử glucose với cùng số carbon sau khi oxy hoá hoàn toàn chỉ cung cấp 38 ATP, điều đó chứng tỏ AB có giá trị năng lượng cao hơn so với glucid. Nếu tính 30,5KJ cho mỗi ATP thì 129 ATP cung cấp do oxy hoá một phân tử palmitat tương ứng với 129 x 30,5 = 3935 KJ, trong khi đó sự đốt cháy một phân tử palmitat trong bơm nhiệt kế giải phóng 9.800 KJ. Như vậy, hiệu suất năng lượng của lipid ở cơ thể khoảng 40%. Số năng lượng còn lại từ lipid ở cơ thể được toả ra dưới dạng nhiệt.

2.3. Các con đường thoái hoá tiếp của acetyl CoA

2.3.1. Oxy hoá ở vòng Krebs

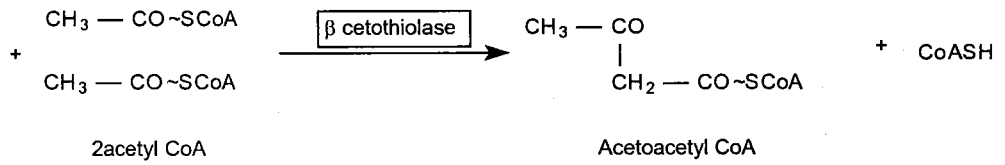
Sau quá trình β - oxy hoá, AB được biến thành các mẩu acetyl CoA (sự thoái hoá glucid cũng dẫn đến acetyl CoA). Bình thường trong điều kiện hiếu khí, acetyl CoA vào vòng Krebs, như vậy AB được oxy hoá hoàn toàn thành CO_2 và H_2O.

2.3.2. Sự tạo thành chất cetonic

Ngoài các con đường nói trên, acetyl CoA có thể có con đường chuyển hoá khác, đó là con đường tạo thành chất cetonic, tức sự tạo thành aceton và các chất tiền thân của nó: acid acetoacetic và acid β - hydroxybutyric. Chất cetonic được tạo thành trong ty thể của gan, vào máu rồi chuyển tới những tổ chức ngoại biên để sử dụng (hình 9.7).

Quá trình tạo thành chất cetonic qua những giai đoạn sau:

– Với sự có mặt của β - cetothiolase, hai phân tử acetyl CoA tạo thành acetoacetyl CoA.



Hình 9.7. Phản ứng tạo thành acetoacetyl CoA

Acetoacetyl CoA thực tế không trực tiếp được chuyển thành acid aceto - acetic vì người ta không thấy có enzym xúc tác, phản ứng sau:

$$CH_3 — CO — CH_2 — CO — SCoA + H_2O \longrightarrow CH_3 — CO — CH_2 — COOH + CoASH$$

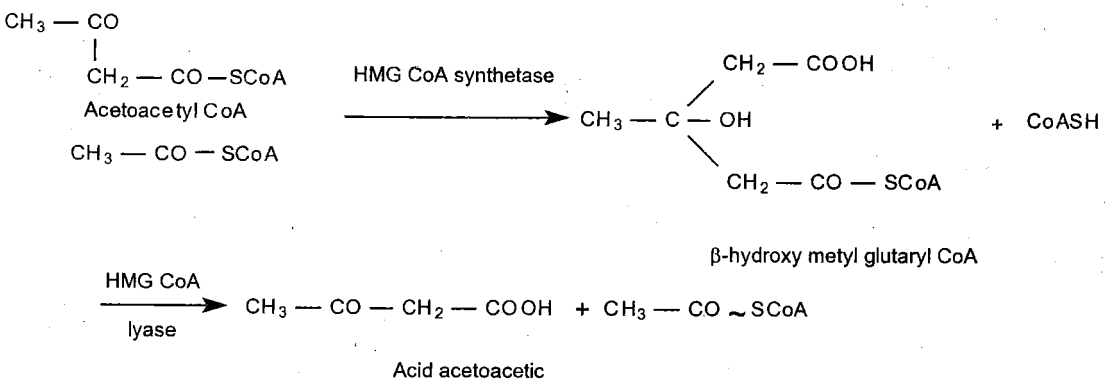
– Sự chuyển acetoacetyl CoA thành acid tự do được thực hiện nhờ hai phản ứng xúc tác bởi các enzym có ở trong ty thể, đó là:

+ Hydroxy methyl glutaryl CoA syntetase (HMG CoA syntetase) và

+ Hydroxy metyl glutaryl CoA lyase (HMG CoA lyase).

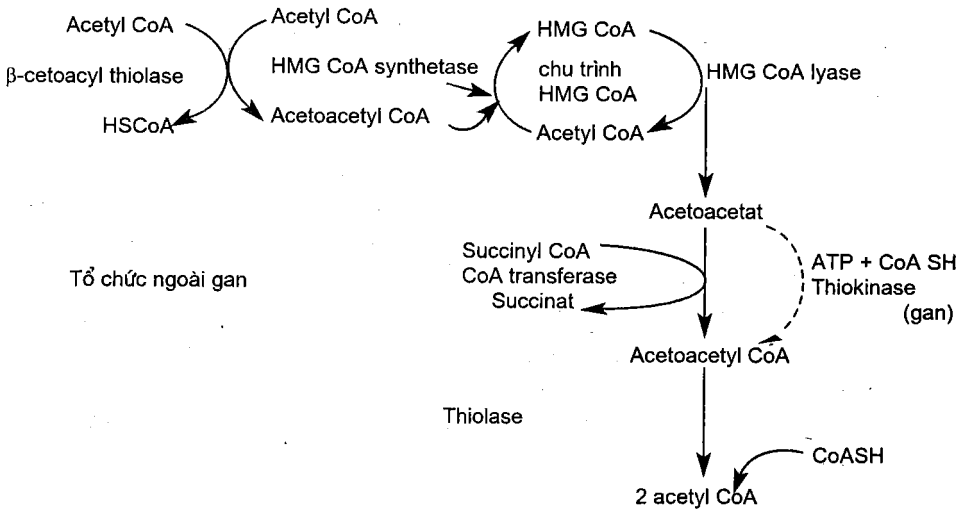
Đó là những phản ứng đầu tiên của sự tổng hợp cholesterol: đầu tiên acetoacetyl CoA kết hợp với một phân tử acetyl CoA thứ ba tạo thành HMG CoA nhờ xúc tác của HMG CoA syntetase, tiếp theo, dưới tác dụng của HMG CoA lyase, HMG CoA giải phóng acid acetoacetic và acetyl CoA.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 9.8. Phản ứng chuyển acetoacetyl CoA thành acid acetoacetic

Con đường này xảy ra chủ yếu ở gan tạo thành chu trình HMG CoA theo sơ đồ sau:



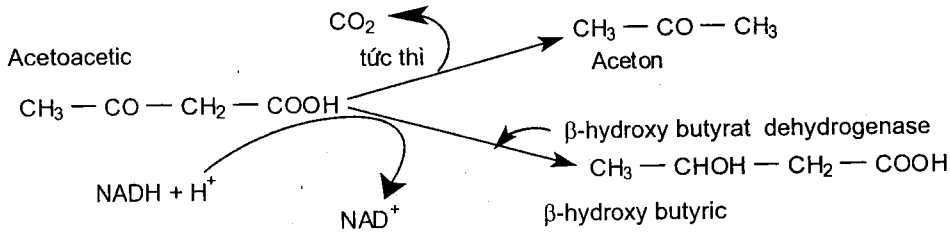
Hình 9.9. Sự chuyển acetoacetyl CoA thành acetoacetat qua chu trình HMG CoA

Acid acetoacetic là một acid cực mạnh và như mọi acid β cetonic khác, nó rất dễ bị khử carboxyl để cho aceton (hình 9.10).

Acid acetoacetic vào máu, tới các tổ chức để sử dụng qua những giai đoạn chuyển thành acetoacetyl CoA rồi acetyl CoA. Sự hoạt hoá acetoacetat thành acetoacetyl CoA khác nhau giữa tế bào gan và tế bào ngoài gan (hình 9.9). Ở tế bào ngoài gan (tim, thận, cơ,...) acetoacetat được hoạt hoá bởi CoA từ succinyl CoA. Ở gan, vì thiếu CoA transferase, sự hoạt hoá acetoacetat thành acetoacetyl CoA nhờ xúc tác của thiokinase với sự có mặt của ATP và Mg^{++}. Acetoacetyl CoA sau đó bị tách đôi thành 2 phân tử acetyl CoA nhờ thiolase. Acetyl CoA tiếp tục vào vòng Krebs.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRONG KHUÔN VIÊN

Ty thể của các tổ chức động vật chứa một enzym rất mạnh, β - hydroxybutyrat dehydrogenase có NADH, có thể khử chức ceton của acetyl thành chức alcol tạo thành acid β-hydroxybutyric.



Hình 9.10. Liên quan giữa các chất cetonic

Những nghiên cứu gần đây đã chứng tỏ những dẫn xuất của acetyl CoA là những phân tử quan trọng về mặt năng lượng. Acetoacetat và β -hydroxybutyrat là chất đốt bình thường của nhiều tổ chức và cung cấp một nguồn năng lượng quan trọng. Thực tế cơ tim và thượng thận sử dụng acetoacetat mạnh hơn so với glucose. Trái lại glucose là chất đốt chủ yếu đối với não trong điều kiện dinh dưỡng tốt. Khi đói hoặc trong bệnh đái tháo đường, não thích nghi với việc sử dụng acetoacetat. Thời kỳ đói kéo dài, 75% năng lượng cần cho não do nguồn gốc acetoacetat.

Ở gan, quá trình thoái hoá acid béo rất quan trọng, nhưng phần acetyl CoA vào vòng Krebs tương đối ít hơn so với các tổ chức khác, do đó một lượng đáng kể acetyl CoA được chuyển thành acetoacetat. Do gan thiếu CoA transferase, nên acetoacetat khó được chuyển thành acetoacetyl CoA và phần lớn được khử thành β-hydroxybutyrat (một phần nhỏ acetoacetat được khử carboxyl trực tiếp, không cần enzym, cho ceton).

Những điều kiện chuyển hoá ở gan nói trên giải thích gan là cơ quan tạo chất cetonic sinh lý. Ở các tổ chức khác những chất cetonic được oxy hoá nhanh chóng sau khi được tạo thành.

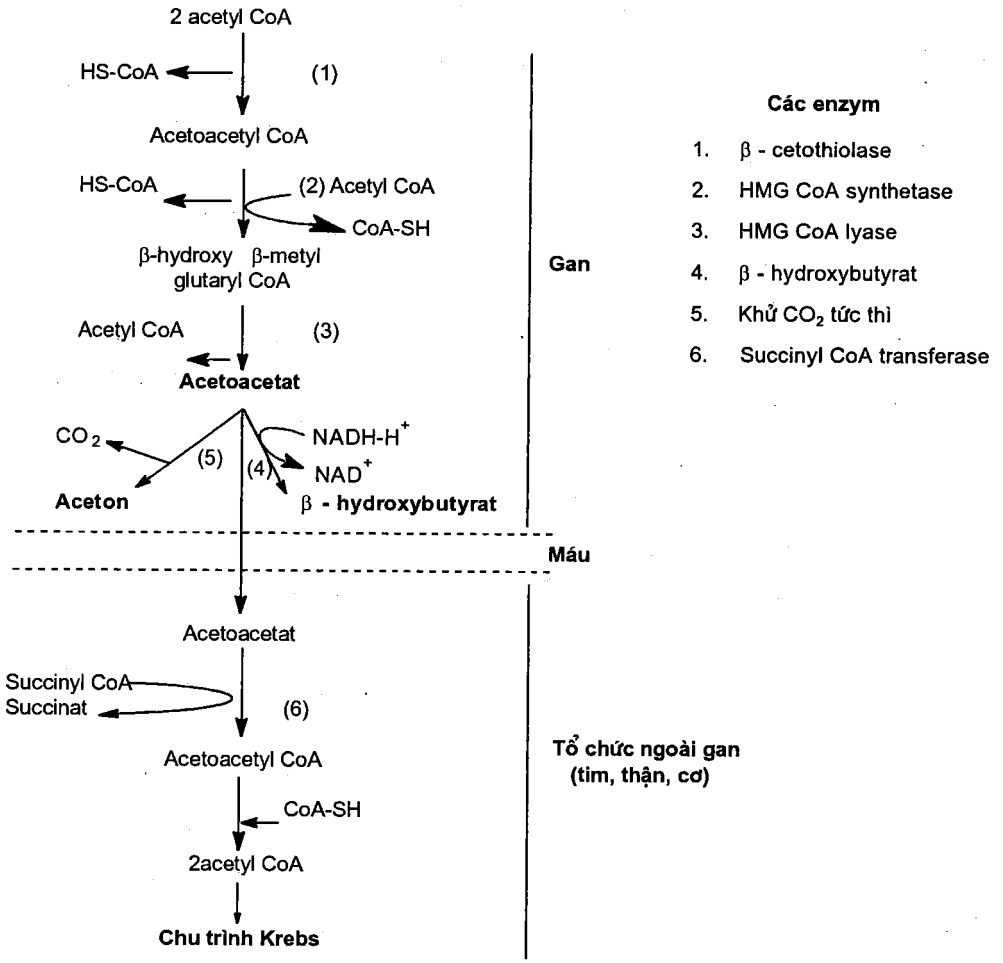
Sự tạo thành chất cetonic tăng cao trong những điều kiện giảm thoái hoá glucid như khi đói glucid hoặc có bệnh đái tháo đường. Trong trường hợp này, cơ thể cần phải oxy hoá lipid dự trữ để bù đắp cho nhu cầu năng lượng. Đó là sự tạo chất cetonic bệnh lý. Trong trường hợp này, chất cetonic tăng trong máu và nước tiểu, đôi khi có mùi ceton trong hơi thở.

Sự tạo thành chất cetonic bệnh lý được giải thích bởi nhiều nguyên nhân:

– Thiếu $NADPH^+$, coenzym này được cung cấp bởi chu trình pentose và cần thiết cho quá trình tổng hợp acid béo.

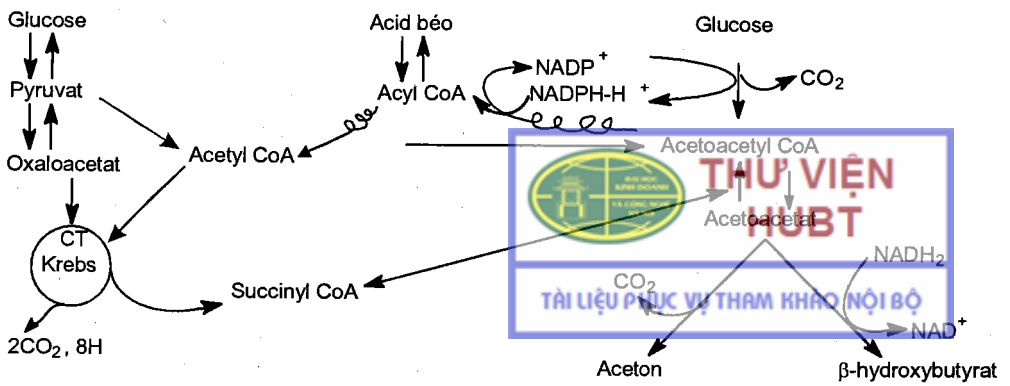
– Thiếu succinyl CoA, sản phẩm chuyển hoá của vòng Krebs, succinyl CoA là chất cung cấp CoA để hoạt hoá acetoacetat.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.11. Sự tạo thành chất cetonic

Dù cho cơ chế nào, cơ thể coi sự tạo thành chất cetonic bệnh lý là hậu quả của sự mất cân đối giữa hai quá trình chuyển hoá lipid và glucid. Sự oxy hoá hoàn toàn acid béo thực hiện qua vòng Krebs chỉ có thể được khi có sự thoái hoá song song và cân đối của glucid.



Hình 9.12. Liên quan giữa chuyển hoá glucid và lipid

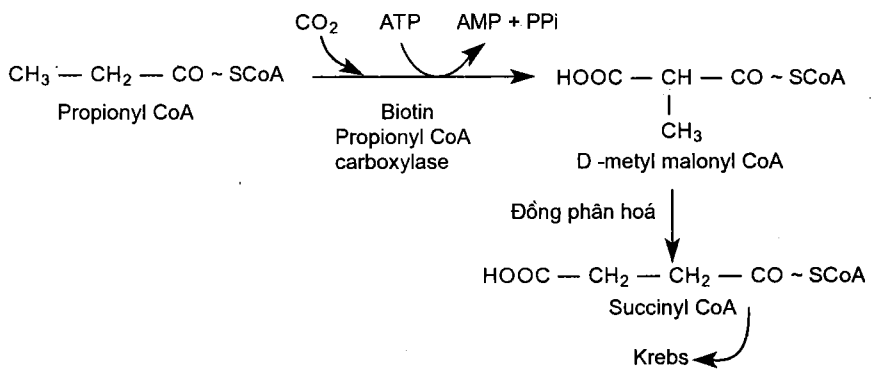
2.3.3. Các con đường chuyển hoá khác

Acetyl CoA cũng có thể được cơ thể sử dụng làm nguyên liệu để tổng hợp cholesterol hoặc tái tạo lại acid béo (xem phần tổng hợp CH và AB).

2.4. Thoái hoá acid béo bão hoà có số carbon lẻ

Acid béo bão hoà có số carbon lẻ cũng β -oxy hoá như trên, nhưng mẩu acyl CoA còn lại trước vòng xoắn cuối cùng gồm 5 carbon (nếu là acid béo có số carbon chẵn, mẩu này là butyryl CoA), mẩu 5 carbon này tách đôi thành propionyl CoA và acetyl CoA.

Propionyl CoA carboxyl hoá nhờ xúc tác của propionyl CoA carboxylase cùng biotin và ATP, chuyển thành metyl malonyl CoA rồi succinyl CoA nhờ metyl malonyl CoA mutase. Succinyl CoA là sản phẩm trung gian của vòng Krebs.



Hình 9.13. Oxy hoá mẩu cuối cùng của sự oxy hoá acid béo bão hoà có số carbon lẻ

2.5. Thoái hoá acid béo chưa bão hoà

Acid oleic (18C) là AB chưa bão hoà phổ biến, thường có trong glycerid, thoạt tiên được hoạt hoá dưới dạng oleyl CoA.

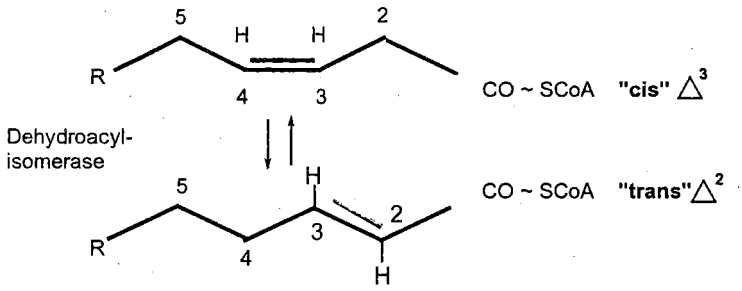
$$CH_3\text{–}(CH_2)_7\text{–}\overset{10}{CH}\text{=}\overset{9}{CH}\text{–}(CH_2)_7\text{–}CO \sim SCoA$$

OleylCoA

Tiếp đó oleyl CoA bắt đầu được β- oxy hoá, sau ba vòng sẽ tách ra được 3 phân tử acetyl CoA và còn lại acyl CoA với 12 carbon, có liên kết đôi ở vị trí β- γ tức là 3-4 dạng cis (cần chú ý sản phẩm chuyển hoá trung gian của sự oxy hoá dưới dạng trans).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Một phản ứng chuyển liên kết này sang vị trí α - β (tức 2-3) và dạng trans nhờ dehydroacyl isomerase.

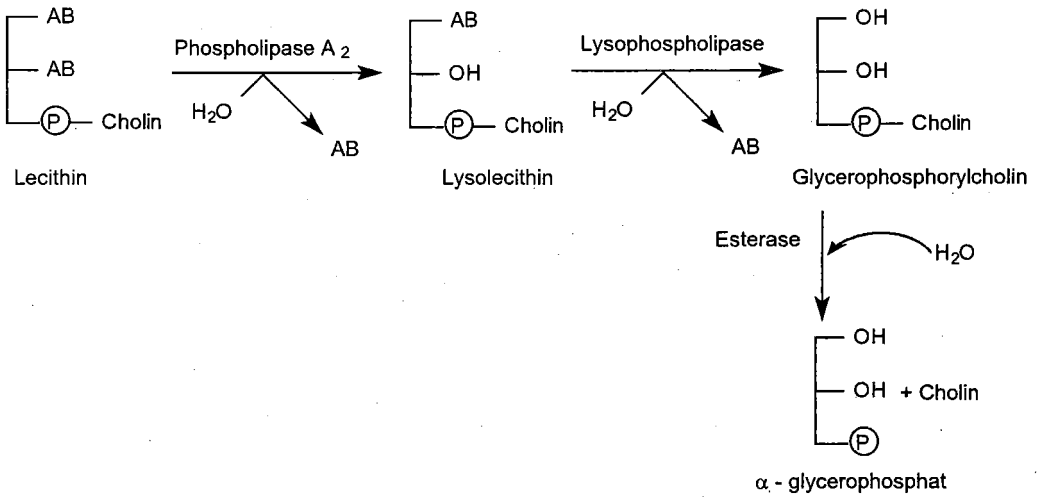


Hình 9.14. Biến đổi thuận nghịch liên kết đôi Δ^3 cis thành Δ^2 trans nhờ isomerase

Sau đó, quá trình β-oxy hoá tiếp tục như thường lệ, sơ đồ quá trình thoái hoá trên là chung cho tất cả các acid béo chưa bão hoà với bất kỳ vị trí nào của liên kết đôi.

2.6. Thoái hoá glycerophospholipid

Hầu hết các tổ chức có phospholipase tham gia vào thoái hoá phospholipid. Phospholipase A_2 thuỷ phân este của acid béo đính ở vị trí β để cho lysophospholipid. Sản phẩm này tiếp tục được lysophospholipase thuỷ phân tạo thành glycerophosphorylbase, chất này cuối cùng được phân huỷ nhờ esterase, giải phóng α-glycerophosphat và alcol có nitơ.



Hình 9.15. Thoái hoá lecithin

THƯ VIỆN HUBT

3. Tổng hợp lipid

3.1. Tổng hợp acid béo

Nhiều tổ chức của cơ thể có thể tổng hợp được AB nhưng mô mỡ, gan và ruột là những tổ chức có khả năng tổng hợp mạnh nhất. AB được tổng hợp từ những nguyên liệu lipid hoặc không phải lipid. Glucid được chuyển hoá dễ dàng thành lipid. Acetat hoặc glucose ghi dấu xuất hiện nhanh trong mỡ. Mô mỡ tiếp nhận nhanh chóng AB lưu động để tạo thành glycerid khi nhu cầu cần thiết.

Những tổ chức có khả năng tổng hợp lipid mạnh là những tổ chức có thể oxy hoá nhanh chóng glucose theo chu trình pentose để sản sinh ra $NADPH_2$ (coenzym cần thiết cho quá trình tổng hợp AB). Insulin xúc tác sự xâm nhập glucose vào trong tế bào mỡ, tăng cường sự tổng hợp AB. Sự thoái hoá glycogen cũng sản xuất ra năng lượng cần thiết cho sự tổng hợp AB.

Hiện nay, nhờ những công trình nghiên cứu của Lynen, Wakil, Popjack, Vagelos v.v... mà người ta đã biết được ít nhất ba quá trình tổng hợp AB bão hoà:

- Tổng hợp ở bào tương (hay ngoài ty thể).
- Tổng hợp ở trong ty thể.
- Tổng hợp ở vi thể (microsome).

Trong bà quá trình trên, quá trình tổng hợp ở bào tương là chủ yếu.

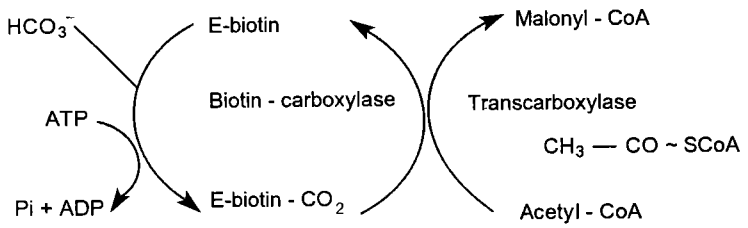
3.1.1. Tổng hợp acid béo ở bào tương

Quá trình này xảy ra ở phần nổi của dung dịch siêu ly tâm của ty thể. Nó tổng hợp AB mới có 16 carbon. Trước khi đi vào cơ chế của sự tổng hợp AB ở bào tương, ta hãy nghiên cứu một số enzym và yếu tố cần thiết cho quá trình tổng hợp này.

a. Một số enzym và yếu tố cần thiết cho sự tổng hợp AB ở bào tương:

- Acetyl CoA carboxylase: những nghiên cứu đầu tiên trên nấm men (*levua*), gan chim, chứng tỏ sự tổng hợp AB cần $NaHCO_3$ tức nguồn CO_2. CO_2 được sử dụng trong phản ứng carboxyl hoá acetyl-CoA thành malonyl CoA với sự xúc tác của acetyl - CoA carboxylase có nhóm ngoại là biotin.

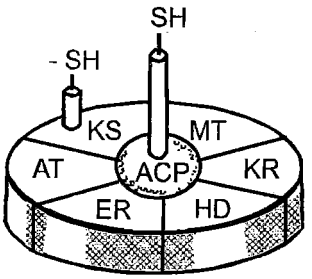
$$HOOC - CH_2 - CO \sim SCoA$$



Hình 9.16. Sự tổng hợp malonyl-CoA

- Acyl synthase (enzym tổng hợp AB): sự tổng hợp AB ở *E.coli, levua*, gan chim hay gà cần phức hợp enzym gồm 7 protein gắn liền với nhau, đó là acyl synthase. Acyl synthase bao gồm 6 enzym gắn với nhau quanh một protein mang gốc acyl gọi là ACP (acyl carrier protein). Hình 9.17 minh họa sự phối hợp 7 protein của acyl synthase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.17. Sự sắp xếp của các protein trong acyl synthase

ACP: Protein mang nhóm acyl có vai trò mang gốc acyl ở SH trung tâm liên kết thioester

AT: Acetyl CoA- ACP transferase có vai trò vận chuyển gốc acyl từ CoA hay từ SH trung tâm tới SH ngoại vi của KS.

MT: Malonyl CoA- ACP transferase có vai trò vận chuyển gốc malonyl từ CoA tới ACP.

KS: β cetoacyl ACP synthase có vai trò ngưng tụ acyl và malonyl

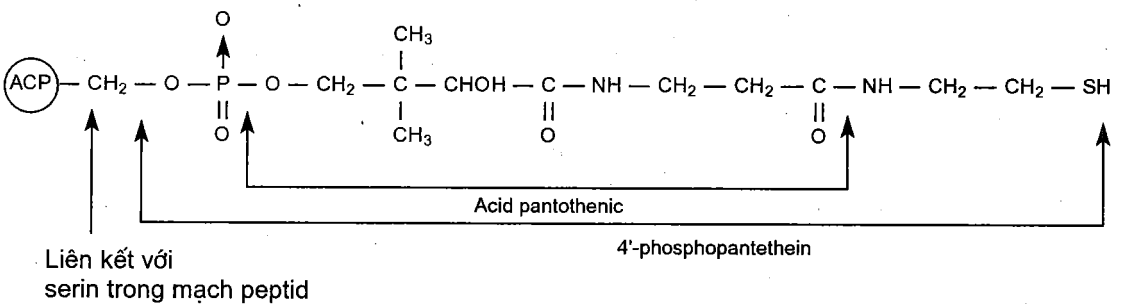
KR: β cetoacyl ACP reductase có vai trò khử nhóm β ceton thành β hydroxy.

HD: β hydroxy acyl ACP dehydratase có vai trò khử nước từ β hydroxy ACP tạo liên kết đôi.

ER: Enoyl-ACP-reductase có vai trò khử liên kết đôi thành liên kết đơn tạo thành gốc acyl bão hoà ACP.

Ở E.coli, các cấu tử có thể tách rời thành các cấu tử riêng biệt mà vẫn có thể hoạt động.

Ở nấm men levua và động vật khác, 7 cấu tử phải gắn liền nhau mới có tác dụng.



Hình 9.18. Cấu tạo của protein mang nhóm acyl (ACP)

– Protein mang acyl - (ACP) (hình 9.18):

Đối với procaryot, các phân tử acetyl CoA và malonyl CoA xúc tác bởi acetyl transferase và malonyl transferase được chuyển đến một protein nhỏ có TLPT = 8800 có tên là protein mang acyl (ACP). Nhóm ngoại của ACP là phosphopantethein được đính với protein bởi liên kết este giữa gốc phosphat của nhóm ngoại với gốc -OH của serin của protein.

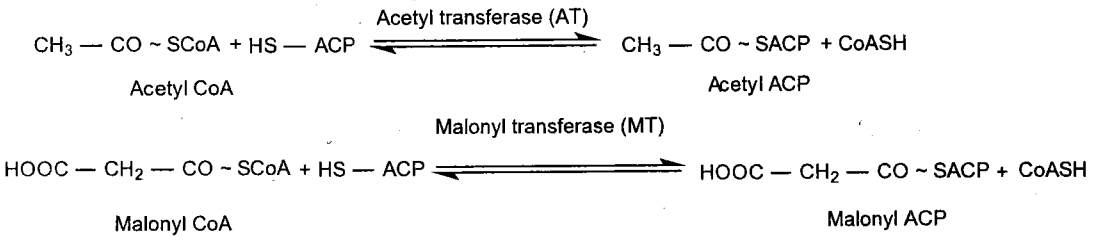
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Như vậy acid orthophosphoric được nối dưới dạng liên kết dieste: một liên kết với acid pantothenic, một với gốc serin trong phân tử protein. Nhóm ngoại phosphopantethein rất giống với coenzym A, cũng chính gốc -SH là phần hoạt động của quá trình gắn và vận chuyển gốc acyl, coenzym A chỉ tham gia vào

những giai đoạn đầu và cuối của quá trình tổng hợp AB ở bào tương. Tất cả những giai đoạn trung gian huy động nhóm SH của ACP; chỉ ở giai đoạn cuối, AB tạo thành giải phóng SH của ACP để chuyển sang nhóm SH của CoA. Nhóm SH của ACP lại tiếp tục nhận gốc malonyl mới.

b. Quá trình tổng hợp AB ở bào tương

– Sự tạo thành acetyl ACP và malonyl ACP (hình 9.19): nguyên liệu đầu tiên của sự tổng hợp AB ngoài ty thể là những phân tử acetyl-CoA và malonyl CoA. Đối với procaryot, sự tổng hợp AB bắt đầu từ phản ứng tạo thành acetyl ACP và malonyl ACP. Acetyl transferase và malonyl transferase xúc tác hai phản ứng trên.



Hình 9.19. Phản ứng tạo thành acetyl ACP và malonyl ACP

– Bốn giai đoạn của sự tổng hợp AB ở bào tương (xem hình 9.20)

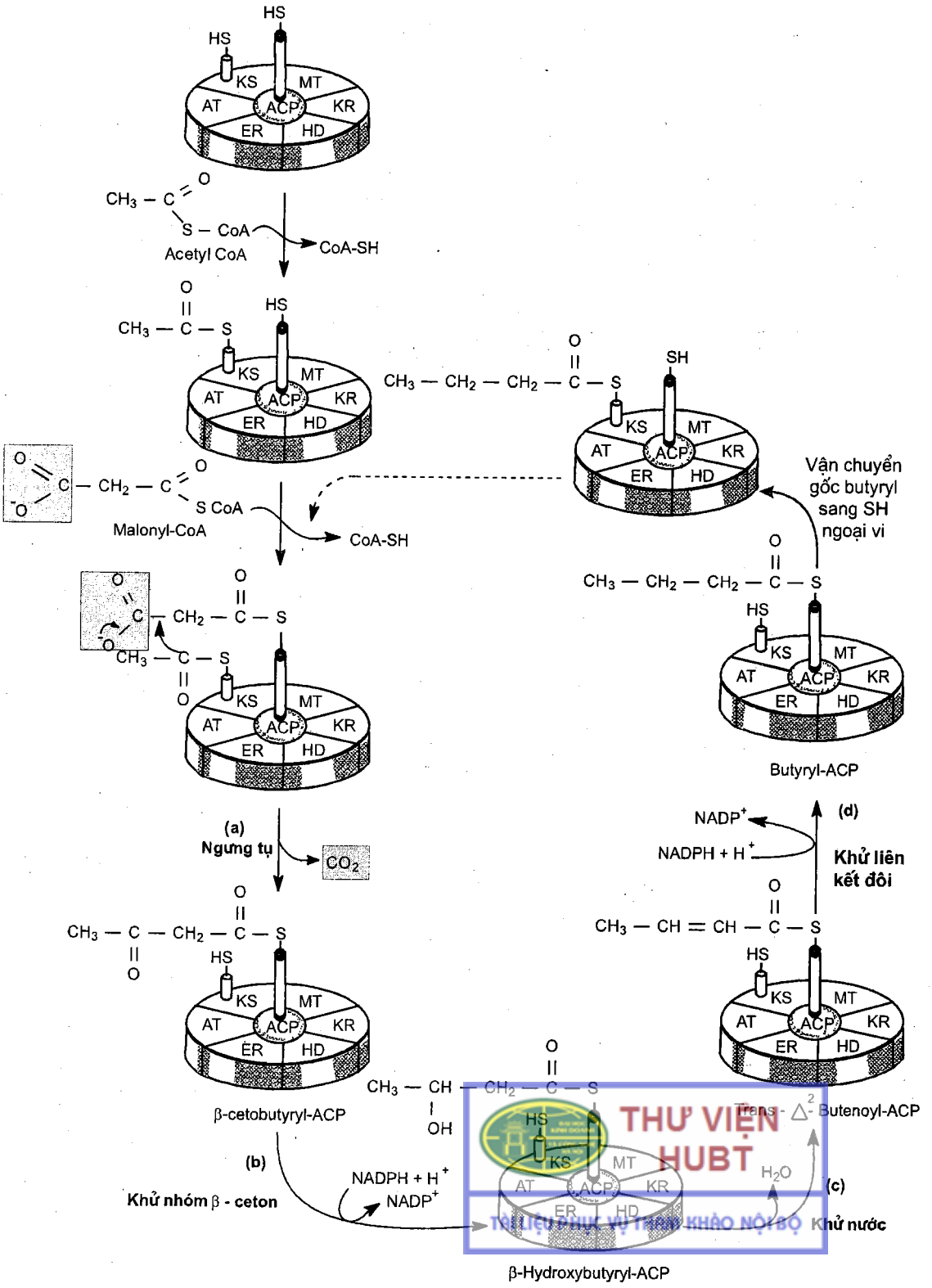
(1) Phản ứng ngưng tụ:

Acetyl ACP và malonyl ACP ngưng tụ với nhau để tạo thành acetoacetyl ACP có bốn carbon. Phản ứng ngưng tụ được xúc tác bởi β-cetoacyl ACP synthetase (KS) giải phóng CO_2. Như vậy, CO_2 ở phản ứng đầu tiên, tạo malonyl ACP không tham gia vào cấu tạo của acid béo. Sự có mặt của CO_2 chỉ để hoạt hoá gốc acetyl – CoA.

(2) Phản ứng khử thứ nhất:

Acetoacetyl ACP, nhờ xúc tác của β - cetoacyl ACP reductase (KR) có coenzym là NADPH, H^+ chuyển gốc CO thành CHOH, biến acetoacetyl ACP thành β–hydroxybutyryl ACP.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.20. Tổng hợp acid béo ở bào tương

(3) Phản ứng khử nước:

Enzym khử nước đặc hiệu β - hydroxy acyl ACP dehydratase (HD) xúc tác phản ứng khử β-hydroxybutyryl ACP thành crotonyl ACP (trans Δ^2 butenoyl-ACP).

(4) Phản ứng khử thứ hai:

Là phản ứng bão hoà liên kết đôi của crotonyl ACP tạo thành butyryl ACP. Phản ứng được xúc tác bởi enoyl ACP reductase (ER) có coenzym là NADPH, H^+.

Sau đó butyryl được vận chuyển sang SH ngoại vi của KS nhờ AT. SH trung tâm được giải phóng (ACP - SH) lại tiếp tục gắn malonyl nhờ MT tạo thành ACP-S malonyl (tương tự như 2 phản ứng tạo ACP- acetyl và ACP- malonyl).

Butyryl ACP tạo thành lại tiếp tục phản ứng với phân tử malonyl ACP mới và cứ sau một vòng thứ hai như trên sẽ tạo ra một acid béo dài hơn hai carbon (tức có sáu carbon). Sự kéo dài chuỗi AB cứ tiếp tục tới acid palmitic có 16 carbon. Giai đoạn cuối cùng của sự tổng hợp là sự giải phóng ACP khỏi acyl ACP song song với sự tạo thành acyl CoA.

$$\text{Palmityl ACP + CoA} \longrightarrow \text{HS - ACP + Palmityl CoA}$$

– Chú thích về quá trình tổng hợp acid béo ở bào tương:

+ Quá trình tổng hợp AB xảy ra chủ yếu ở bào tương, trong khi đó acetyl CoA (cũng như malonyl CoA) lại được tạo thành phần lớn ở trong ty thể do quá trình thoái hoá glucid hoặc lipid. Acetyl CoA phải qua ty thể nhưng màng của ty thể lại không cho acetyl CoA thấm qua. Acetyl CoA qua được màng của ty thể nhờ trung gian carnitin qua phản ứng thuận nghịch tương tự như với acylcarnitin (hình 9.21).

$$\text{Acetyl CoA + Carnitin} \xrightarrow{\text{Carnitin acetyl transferase}} \text{Acetyl carnitin + CoASH}$$

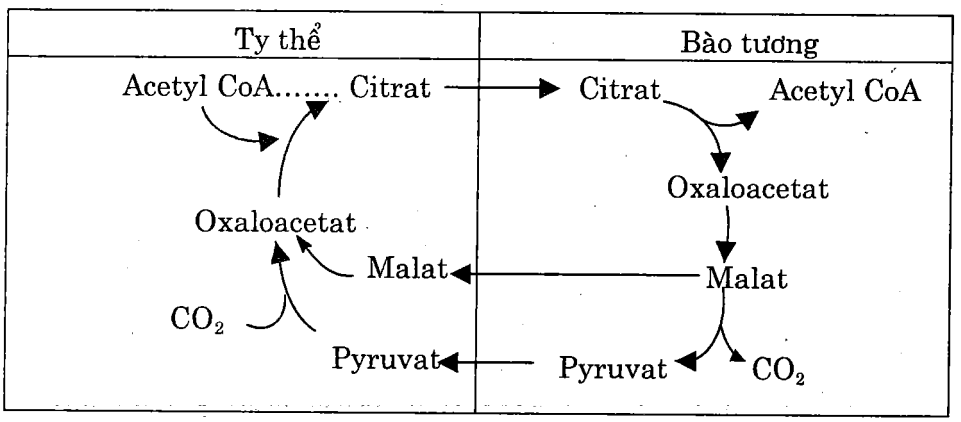
Acetyl CoA cũng có thể thoát ra khỏi ty thể bằng con đường thứ hai, dưới dạng citrat.

$$\begin{matrix}\text{Acetyl CoA} \\ + \\ \text{Oxaloacetat}\end{matrix} \xrightarrow{\text{Citrat synthetase}} \text{Citrat + CoA}$$

Ra bào tương, citrat được tách ra khỏi acetyl CoA nhờ enzym phân huỷ citrat là citrat lyase, phản ứng này cần ATP.

$$\text{Citrat + ATP + CoA} \xrightarrow{\text{Citrat lyase}} \text{Oxaloacetat + Acetyl CoA + ADP + P}$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.21. Sự vận chuyển acetyl-CoA từ trong ty thể ra bào tương

Acetyl CoA được thoát từ ty thể ra bào tương nhờ trung gian của citrat qua một loạt phản ứng.

+ Acetyl CoA cung cấp hai carbon ở vị trí CO, phần còn lại của chuỗi là của malonyl CoA.

+ Cần hai phân tử NADP khử cho mỗi phân tử malonyl CoA vì mỗi lần kéo dài chuỗi AB được hai carbon thì cần hai phản ứng khử: một phản ứng khử ceton và một phản ứng khử liên kết đôi.

+ Palmityl CoA ức chế tổng hợp AB do cơ chế ức chế ngược.

***Bảng 9.1.** Tóm tắt những phản ứng chính tổng hợp acid béo bão hoà ở bào tương*

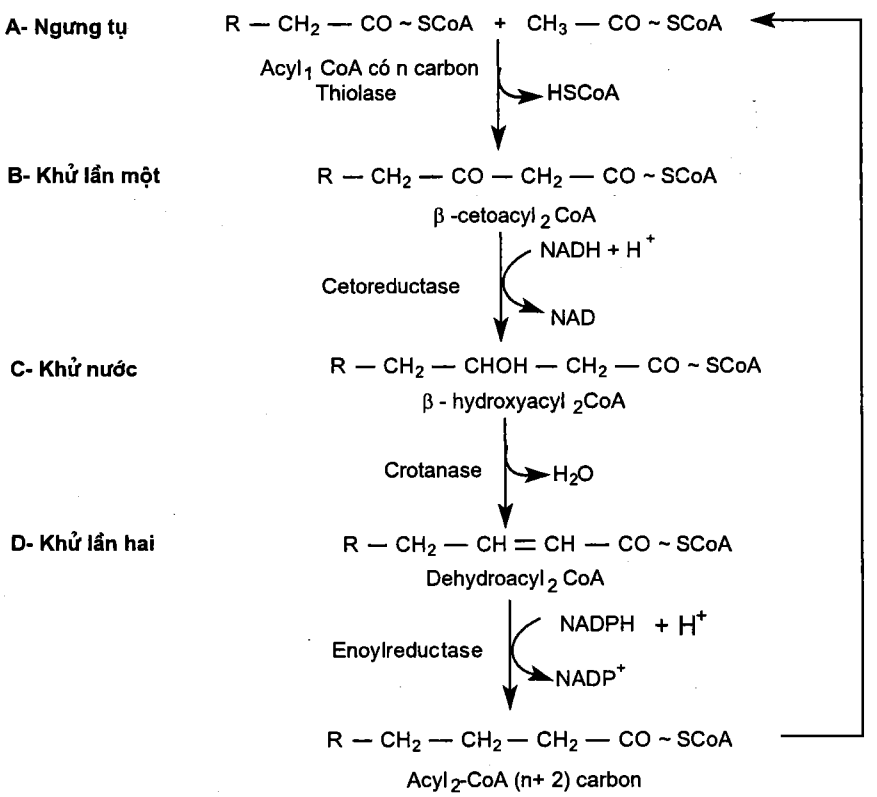
Phản ứng		Enzym xúc tác
Carboxyl hoá acetyl thành malonyl CoA	Acetyl CoA + HCO_3^- + ATP → malonyl CoA + ADP + Pi	Acetyl CoA carboxylase
Tạo acetyl ACP	Acetyl CoA + ACP ⇌ Acetyl ACP + CoA–SH	Acetyl transferase (AT)
Tạo malonyl ACP	Malonyl CoA + ACP ⇌ Malonyl ACP + CoA-SH	Malonyl transferase (MT)
Ngưng tụ	Acetyl ACP + Malonyl ACP ⇌ Acetoacetyl ACP + ACP + CO_2	β - cetoacyl ACP-synthetase (KS)
Khử lần 1	Acetoacetyl ACP + NADPH + H^+ ⇌ β-hydroxybutyryl ACP + $NADP^+$	β-ceto acyl ACP-reductase (KR)
Khử nước	β-hydroxybutyryl ACP ⇌ Crotonyl ACP + H_2O	β hydroxyacyl - ACP dehydratase (crotonase) (HD)
Khử lần 2	Crotonyl-ACP + NADPH + H^+ → Butyryl ACP + $NADP^+$	Enoyl ACP reductase (ER)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ

3.1.2. Tổng hợp acid béo ở trong ty thể

Quá trình tổng hợp AB ở trong ty thể không phải là chủ yếu, quá trình này cần ATP, $NADH_2$ và $NADPH_2$. ATP cần cho sự tạo thành acyl CoA của acid béo sẵn có. Quá trình này gắn những phân tử acetyl CoA vào chuỗi AB sẵn có (tức kéo dài chuỗi AB cũ) để tạo thành những AB có 18carbon, 20carbon. Quá trình cũng có thể kéo dài chuỗi AB không bão hoà.

Cơ chế kéo dài chuỗi AB tiến hành gần tương tự ngược lại với quá trình β oxy hoá. Các enzym tham gia vào quá trình này giống như ở quá trình β oxy hoá, trừ enzym ở giai đoạn khử lần hai (hình 9.22) được xúc tác bởi enoyl reductase có coenzym là $NADPH_2$.



Hình 9.22. Tổng hợp acid béo bão hoà ở trong ty thể

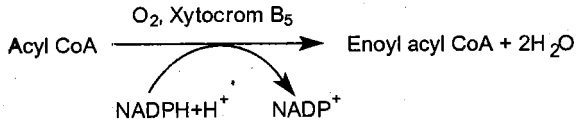
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.1.3. Tổng hợp acid béo ở vi thể

Quá trình này chưa được sáng tỏ hoàn toàn. Nguyên liệu dùng là malonyl CoA (chứ không phải là ACP), $NADPH + H^+$. Quá trình này tổng hợp chủ yếu các acid có 22 carbon và 24 carbon của sphingolipid và cả các acid không bão hoà. Cũng như ở hệ thống trong ty thể, hệ thống này làm nhiệm vụ kéo dài những acid béo đã được tổng hợp ở bào tương.

3.1.4. Tổng hợp acid béo không bão hoà

Hầu hết acid béo không bão hoà được tổng hợp từ các acid béo bão hoà tương ứng dưới dạng acyl CoA

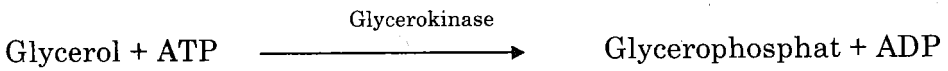


Trong cơ thể người và một số động vật không tổng hợp được một số acid béo không bão hoà gọi là AB không thay thế được như: a.linoleic, a.linolenic, a.arachidonic (còn gọi là vitamin F).

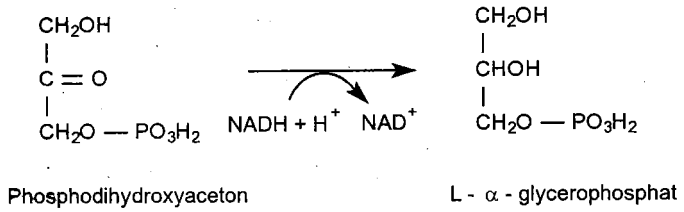
3.2. Tổng hợp glycerid

Glycerid được tổng hợp bởi nhiều tổ chức hoặc tế bào: gan, thận, mô mỡ, ruột... Nguyên liệu ban đầu là glycerol và acid béo.

– Gan và thận, niêm mạc ruột có glycerokinase xúc tác phản ứng hoạt hoá glycerol thành glycerophosphat (hình 9.23).



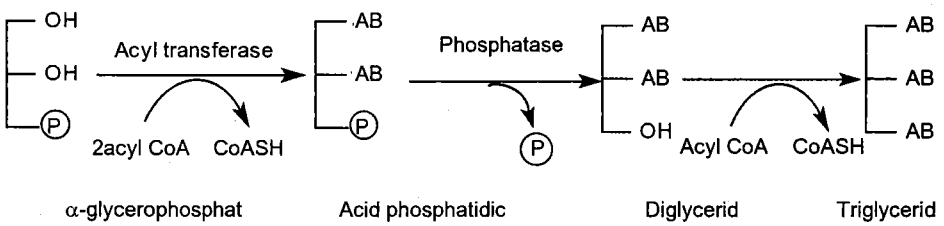
– Tế bào mỡ không có kinase trên, do đó glycerophosphat được tổng hợp từ phosphodihydroxy aceton (sản phẩm thoái hoá của glucid). Phản ứng này được xúc tác bởi glycerophosphat dehydrogenase có $NADH+H^+$.



Hình 9.23. Phản ứng tạo thành glycerophosphat

THƯ VIỆN HUBT
TRUNG TÂM PHỤC VỤ THÔNG TIN KHOA HỌC NỘI BỘ

Acid béo được hoạt hoá bởi enzym thiokinase, với sự có mặt của ATP và CoA tạo thành acyl CoA. Hai phân tử acyl CoA kết hợp với α-glycerophosphat tạo thành 1,2-diglycerid phosphat (acid phosphatidic) nhờ xúc tác của acyl transferase. Acid phosphatidic nhờ xúc tác của phosphatase chuyển thành 1-2 diglycerid. Diglycerid có thể tiếp tục gắn với một acyl CoA thứ ba để tạo thành triglycerid (hình 9.24).



Hình 9.24. Tổng hợp glycerid

3.3. Tổng hợp glycerophospholipid

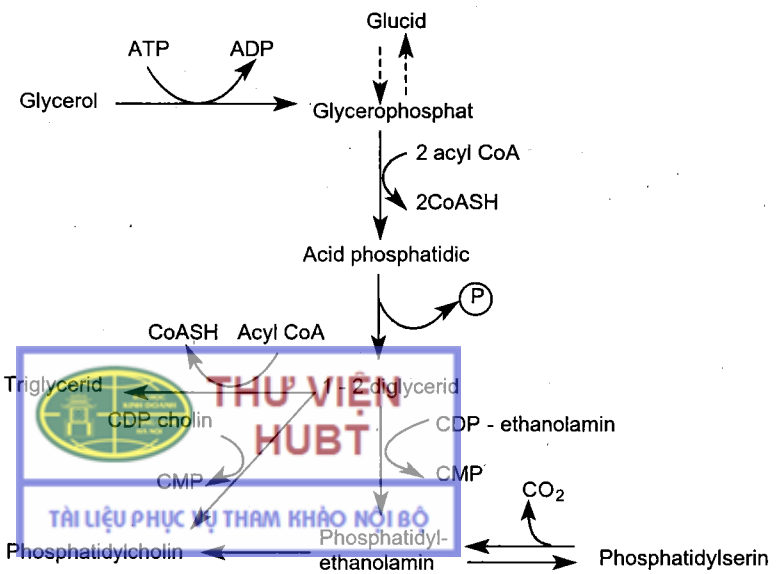
Màng sinh vật được cấu tạo chủ yếu bởi hai thành phần protein và lipid. Trong số các lipid màng thì phosphatid và cholesterol chiếm tỷ lệ cao nhất.

Có thể có 4 con đường tổng hợp glycerophospholipid. Sau đây là con đường chung và phổ biến mà nguyên liệu đầu là acid phosphatidic (hình 9.25).

Sự tổng hợp phosphatid có nitơ (phosphatidyl cholin, phosphatidyl ethanolamin và phosphatïdyl serin) bắt đầu từ sự thuỷ phân acid phosphatidic dưới tác dụng của một phosphatase đặc hiệu. Diglycerid tạo thành sẽ tác dụng với một dẫn xuất của cholin (hoặc ethanolamin) qua những giai đoạn sau:

– Thoạt tiên cholin (hoặc ethanolamin) được phosphoryl hoá nhờ ATP cùng sự xúc tác của một kinase đặc hiệu thành phosphorylcholin (hoặc phosphoryl ethanolamin).

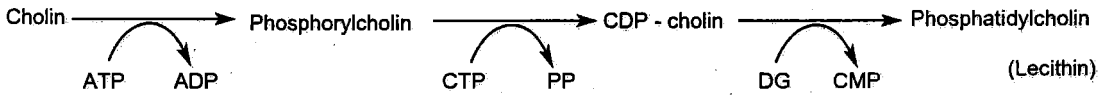
– Phosphorylcholin (hoặc phosphorylethanolamin) sau đó tác dụng với cytidin triphosphat (CTP) để tạo thành cytidin diphosphocholin viết tắt là CDP-cholin hoặc cytidin diphosphoethanolamin (CDP-ethanolamin).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

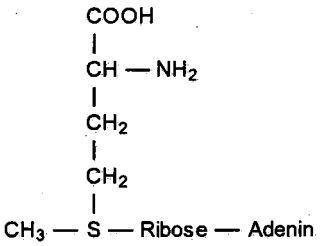
Hình 9.25. Tổng hợp glycerid và glycerophospholipid

– Giai đoạn cuối cùng là sự chuyển phosphorylcholin (hoặc phosphorylethanolamin) của CDP - cholin (hoặc CDP - ethanolamin) sang diglycerid tạo thành phosphatidylcholin, lecithin (hoặc phosphatidylethanolamin).



Hình 9.26. Sơ đồ quá trình tổng hợp lecithin

Phosphatidylserin được tổng hợp từ phosphatidylethanolamin bằng cách trao đổi giữa hai base. Cũng có một con đường chuyển phosphatidyl ethanolamin thành phosphatidyl cholin bằng cách gắn lên chức amin của phosphatidyl ethanolamin 3 gốc methyl từ S.adenosylmethionin (hình 9.27).



Hình 9.27. S. adenosylmethionin

3.4. Tổng hợp sphingolipid

3.4.1. Tổng hợp sphingomyelin

Hiện nay, người ta thường cho rằng sphingosin được tổng hợp từ palmityl CoA và serin: palmityl CoA ngưng tụ với serin kèm theo sự giải phóng CO_2 và CoA tạo ra ceto dihydrosphingosin, chất này nhờ $NADPH_2$ bị khử thành dihydro sphingosin. Dưới tác dụng của một enzym có FAD, dihydro sphingosin bị mất 2H ở vị trí 4-5 tạo ra sphingosin. Sphingosin tác dụng với một acyl CoA tạo ra ceramid (hình 9.28). Ceramid được coi như chất bản lề tổng hợp ra các sphingolipid tác dụng với CDP - cholin cho sphingomyelin.

3.4.2. Tổng hợp cerebrosid

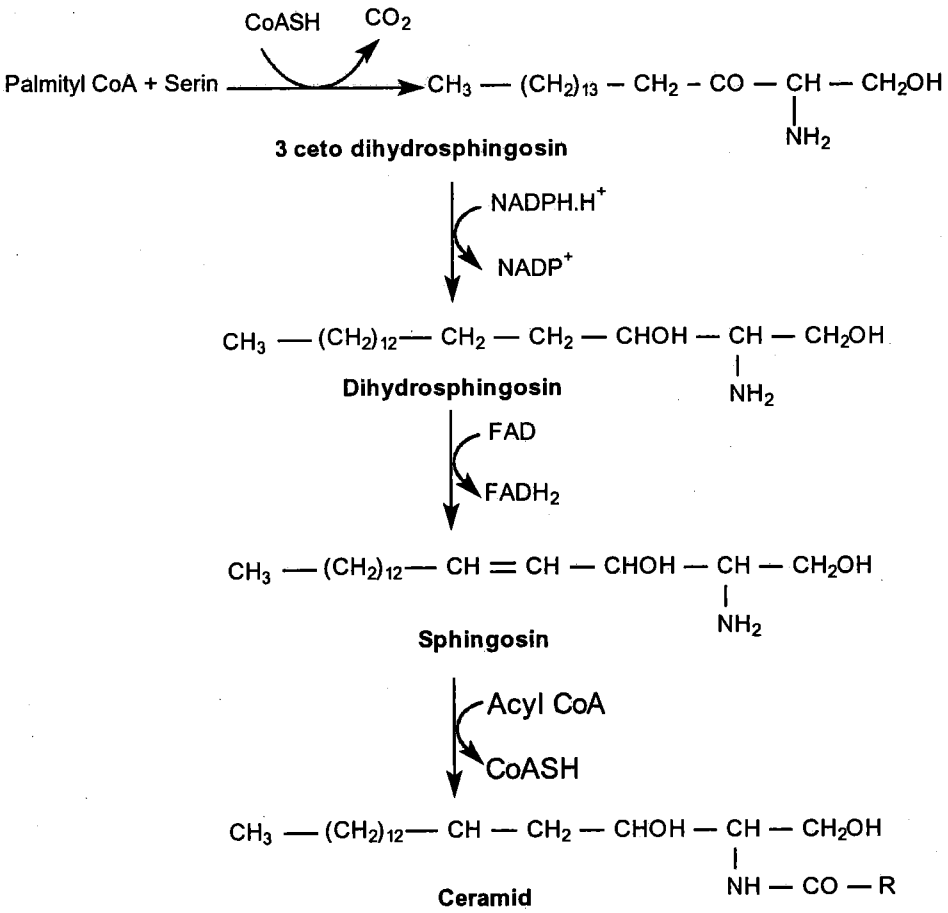
Cerebrosid được tạo thành từ ceramid và UDP - galactose hoặc UDP-glucose

Ceramid + UDP galactose ⟶ Cerebrosid + UDP

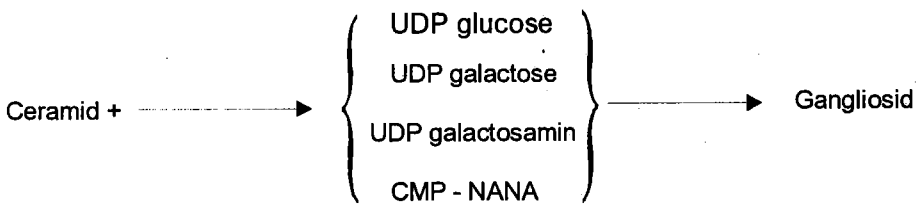
THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN PHỤC VỤ THIẾT THỰC NHIỆM NỘI BỘ

3.4.3. Tổng hợp gangliosid

Gangliosid được tạo thành từ cerebrosid bằng cách gắn lần lượt galactose, galactosamin, acid sialic (NANA) dưới dạng hoạt hoá.

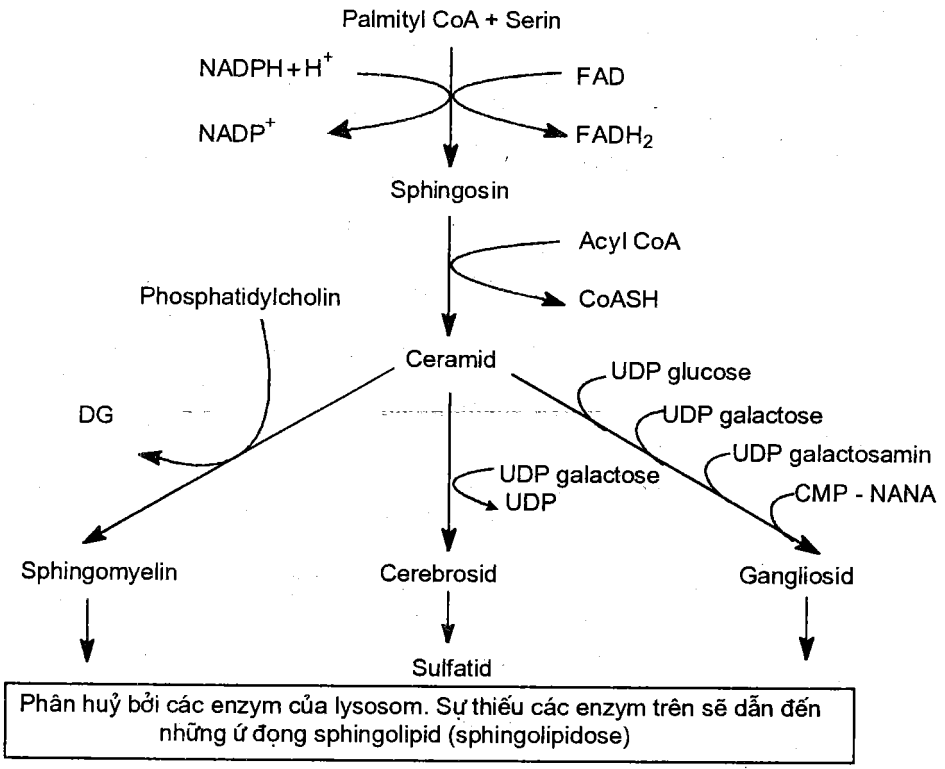


Hình 9.28. Sơ đồ tổng hợp ceramid



Tổng hợp gangliosid

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.29. Chuyển hoá sphingolipid

4. Ảnh hưởng của các hormon lên chuyển hoá lipid

Sự chuyển hoá lipid phụ thuộc vào tình trạng dinh dưỡng và quá trình điều hoà của các hormon lên quá trình phân huỷ và tổng hợp lipid. Mô mỡ chứa một số lipase, một trong số đó là triglycerid lipase nhạy cảm với hormon (diglycerid lipase và monoglycerid lipase không nhạy cảm với hormon nhưng hoạt động rất mạnh so với triglycerid lipase nhạy cảm với hormon).

Triglycerid lipase được hoạt hoá bởi AMP vòng qua trung gian của protein kinase. Cơ chế của sự hoạt hoá enzym này cũng tương tự như ở quá trình hoạt hoá sự phân huỷ glycogen bởi hormon.

4.1. Điều hoà của các hormon lên sự phân huỷ lipid

Một số hormon xúc tác quá trình phân huỷ lipid như adrenalin, noradrenalin, ACTH, glucagon. Những hormon này tăng cường sự giải phóng acid béo từ mô mỡ và làm tăng acid béo huyết tương. Các hormon này, còn gọi là hormon phân huỷ mỡ, tác động chủ yếu lên sự phân huỷ lipid bằng cách hoạt hoá adenyl cyclase, tăng cường sự tạo thành AMP vòng, rồi AMP vòng biến triglycerid lipase ở dạng không hoạt động thành hoạt động qua trung gian của protein kinase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Một số hormon khác: thyroxin, hormon sinh trưởng (GH) tác dụng chậm lên sự phân huỷ lipid.

Glucocorticoid, ngoài tác dụng trực tiếp lên adenyl cyclase để hoạt hoá triglycerid lipase còn hạn chế sự tổng hợp lipid bằng cách ức chế sự xâm nhập glucose vào trong tế bào, như vậy hạn chế sự cung cấp các nguyên liệu cần thiết cho sự tổng hợp triglycerid.

4.2. Điều hoà của các hormon lên sự tổng hợp lipid

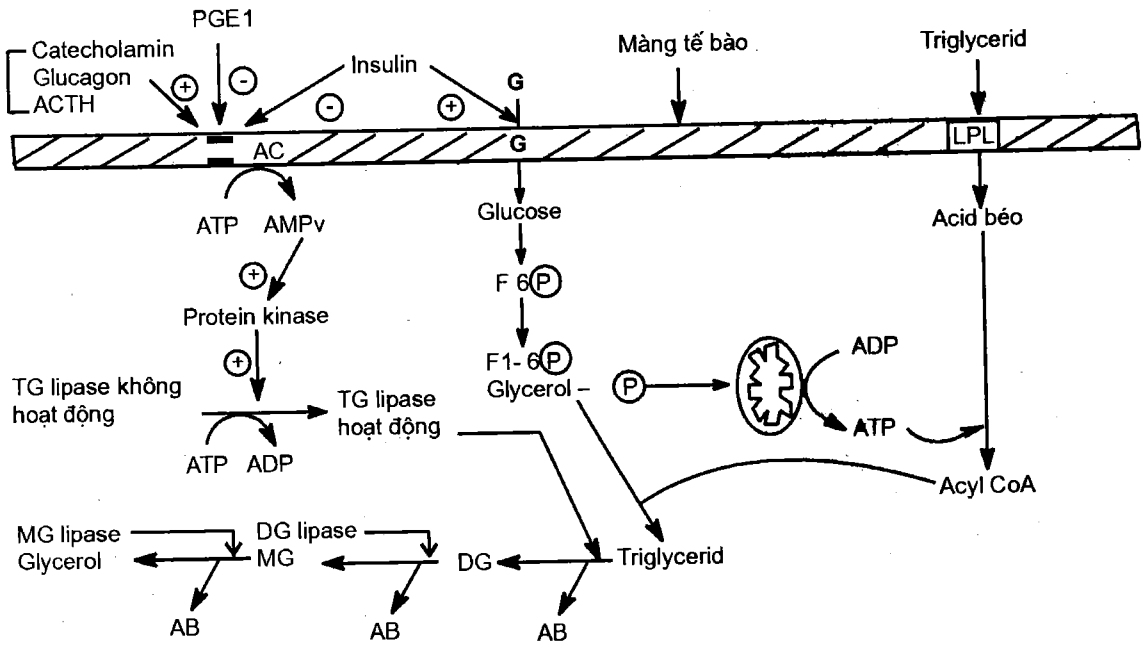
Một số hormon (insulin, prostaglandin) có tác dụng lên sự điều hoà tổng hợp lipid (hình 9.30).

Các hormon này còn được gọi là hormon chống thoái hoá lipid.

Insulin:

Insulin có 2 tác dụng: chống thoái hoá lipid và tăng tổng hợp lipid.

– Insulin chống thoái hoá lipid bằng cách ức chế hoạt động adenyl cyclase do đó ức chế tổng hợp AMPv và giảm hoạt động triglycerid lipase kéo theo sự giảm lượng acid béo tự do và glycerol.



Hình 9.30. Điều hoà chuyển hoá lipid ở mô mỡ bởi hormon

Ghi chú: ⊖ ức chế; ⊕ hoạt hoá; AC: adenylcyclase; LPL: lipoprotein lipase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Insulin cũng tăng tổng hợp lipid bằng hoạt hoá sự xâm nhập glucose vào trong tế bào, do đó làm tăng $NADPH_2$ (chu trình pentose) và cung cấp các acetyl-CoA cần thiết cho sự tổng hợp lipid.

Prostaglandin E (PGE_1):

PGE_1 tác dụng lên chuyển hoá lipid tương tự như insulin, tác dụng chống thoái hoá lipid bằng cách ức chế adenyl cyclase, giảm AMPv. PGE_1 có tác dụng tăng tổng hợp lipid yếu hơn so với insulin.

5. Chuyển hoá cholesterol

Cholesterol là chất cần thiết cho cơ thể, tham gia vào thành phần cấu tạo của màng tế bào và quá trình tổng hợp nhiều hormon steroid và acid mật. Cholesterol có thể có hai nguồn gốc: nó được đưa vào từ thức ăn và được tổng hợp bởi những tế bào, chủ yếu là tế bào gan.

5.1. Tiêu hoá và hấp thụ cholesterol

Mỗi người ăn khoảng 300-500mg cholesterol/ngày. Thức ăn giàu cholesterol là mỡ, thịt, gan, não, lòng đỏ trứng. Phần lớn cholesterol có thể do nguồn gốc nội sinh: 1g/ngày.

Cholesterol thức ăn được hấp thụ ở ruột cùng với các lipid khác trong phân tử chylomicron. Từ 80-90% cholesterol hấp thụ trong bạch mạch được este hoá với acid béo chuỗi dài. Cholesterol nguồn gốc ngoại sinh và nội sinh được máu đưa tới các tế bào dưới dạng kết hợp với lipoprotein. Hai lipoprotein quan trọng nhất là lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) và lipoprotein tỷ trọng cao (HDL) (xem mục 6: lipoprotein). Ở máu người cholesterol toàn phần (gồm cholesterol tự do và cholesterol este khoảng 200 mg/100ml máu, trong đó chủ yếu là cholesterol este (66%)). Khoảng một nửa cholesterol được bài xuất trong phân sau khi được chuyển thành acid mật. Phần còn lại được đào thải dưới dạng sterol trung tính: coprostanol- cholesterol.

5.2. Tổng hợp cholesterol

Cholesterol được tổng hợp chủ yếu ở gan và ruột. Ngoài ra, cholesterol còn được tổng hợp ở thượng thận, tinh hoàn, buồng trứng, da, hệ thần kinh. Giống như acid béo, cholesterol được tổng hợp từ các mẩu acetyl CoA, nhưng ở một số thực vật thì khác nhau hoàn toàn. Hầu hết các giai đoạn của sự tổng hợp cholesterol hiện nay đã được biết rõ nhờ các thí nghiệm bằng các chất được đánh dấu.

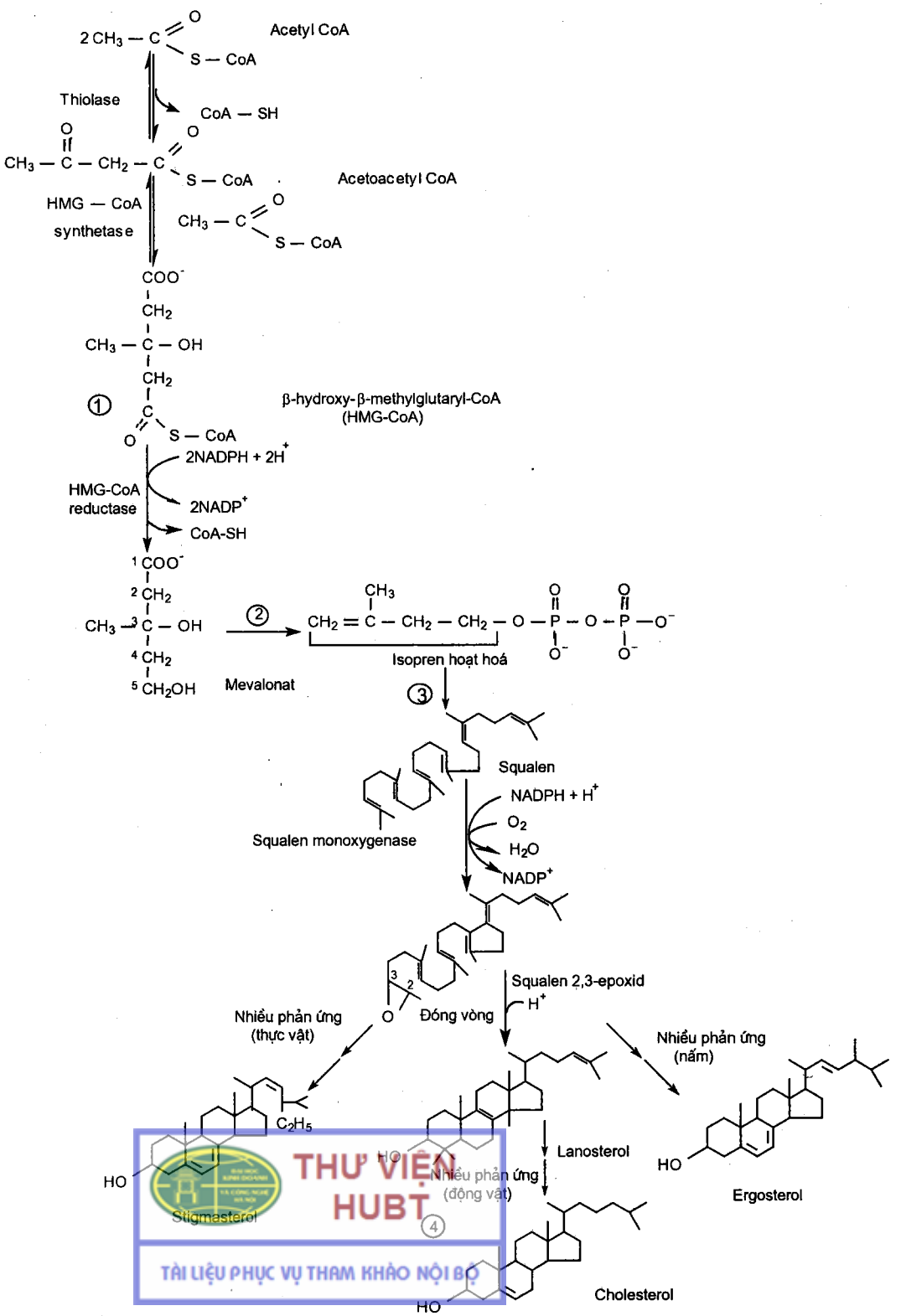
Quá trình tổng hợp cholesterol có thể chia thành bốn giai đoạn:

Giai đoạn 1: Sự tạo thành mevalonat từ acetat (hình 9.31)

Phản ứng đầu tiên là phản ứng ngưng tụ hai phân tử acetyl CoA tạo thành phân tử acetoacetyl CoA. Tiếp theo acetoacetyl CoA ngưng tụ với một phân tử acetyl CoA nữa để tạo thành β-hydroxy - β-methylglutaryl-coenzym A (HMG-CoA) nhờ HMG CoA synthetase làm xúc tác.

Phản ứng thứ ba là phản ứng HMG-CoA thành mevalonat (gốc thioeste được chuyển thành alcol) nhờ xúc tác của HMG-CoA reductase có coenzym là NADPH. H^+.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 9.31. Các giai đoạn chính tổng hợp cholesterol

Giai đoạn này là giai đoạn được nghiên cứu sâu trong điều hoà sinh tổng hợp cholesterol. Nhiều thuốc có tác dụng ức chế tổng hợp CH của cơ thể đều có tác dụng ức chế ở giai đoạn này.

Giai đoạn 2: Sự tạo thành isopren hoạt hoá (mạch 5C)

Trước hết, mevalonat được phosphoryl hoá 3 lần nhờ 3ATP sau đó khử CO_2 và một phosphat để cho một đơn vị isoperen hoạt hoá (Δ^3 isopentenyl pyrophosphat hay dimethylallyl pyrophosphat).

Giai đoạn 3: Sự tạo thành squalen

Squalen được tạo thành từ 6 đơn vị isopren hoạt hoá ngưng tụ với nhau.

Đầu tiên, isopentenyl pyrophosphat ngưng tụ với dimethylallyl pyrophosphat tạo thành geratenyl pyrophosphat (10C). Tiếp theo ngưng tụ tiếp với isopentenyl pyrophosphat tạo thành farnesyl pyrophosphat (có 15C). Sau đó, hai phân tử farnesyl pyrophosphat ngưng tụ tạo thành squalen (có 30C) và giải phóng hai pyrophosphat.

Giai đoạn 4: Sự tạo thành cholesterol

Dưới tác dụng của squalenmonoxygenase, squalen được gắn thêm oxy dưới dạng epoxid tạo thành squalen 2,3 - epoxid. Từ squalen - 2,3 epoxid có thể biến đổi nhiều cách (hình 9.31).

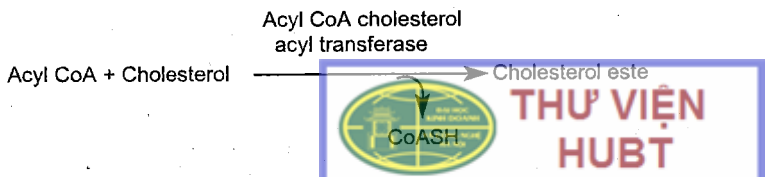
Ở động vật, dưới tác dụng của enzym đóng vòng tạo thành lanosterol. Qua nhiều phản ứng khử gốc - CH_3 lanosterol biến đổi thành cholesterol (có 27C).

Ở thực vật, qua nhiều phản ứng có thể tạo thành stigmasterol. Ở một số nấm có thể tạo thành ergosterol.

5.3. Tổng hợp cholesterol este

Cholesterol este có thể được tổng hợp bởi hai con đường khác nhau

– Con đường thứ nhất do xúc tác của enzym cholesterol este synthetase xảy ra chủ yếu ở các tổ chức: gan, ruột, thượng thận. Quá trình này cần hai phản ứng: trước tiên acid béo được hoạt hoá bởi CoASH thành acyl CoA với sự tham gia của ATP. Sau đó acyl CoA tác dụng với cholesterol nhờ xúc tác của acyl CoA cholesterol acyl transferase tạo ra cholesterol este



THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Con đường thứ hai xảy ra ở huyết tương và được xúc tác bởi lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT). Trong phản ứng này acid béo gắn ở vị trí 2 của lecithin được chuyển trực tiếp tới cholesterol không qua trung gian acyl CoA.

$$\text{Lecithin} + \text{Cholesterol} \xrightarrow{\text{LCAT}} \text{Cholesterol este} + \text{Lysolecithin}$$

LCAT được tổng hợp ở gan, bài tiết vào huyết tương và hoạt động ở huyết tương. Phản ứng este hoá cholesterol nhằm mục đích lấy cholesterol ra khỏi lipoprotein phòng ngừa cholesterol khuếch tán tới các tổ chức vì cholesterol giải phóng khỏi gan chủ yếu là cholesterol tự do kết hợp với lipoprotein huyết thanh. LCAT huyết tương giảm trong vữa xơ động mạch.

5.4. Điều hoà tổng hợp cholesterol

Sự tổng hợp cholesterol được điều hoà bởi cholesterol ăn vào, một số hormon và acid mật.

– Estrogen: hormon sinh dục nữ ức chế quá trình tổng hợp cholesterol bằng cách ức chế HMG CoA synthetase làm giảm lượng HMG CoA, cho nên nữ dưới 50 tuổi ít bị vữa xơ động mạch hơn nam giới.

– Đói làm giảm tổng hợp cholesterol do giảm acetyl CoA, ATP và $NADPH+H^+$.

– Acid mật có tác dụng ức chế trực tiếp lên sự tổng hợp cholesterol ở niêm mạc ruột.

– Cholesterol thức ăn: bản thân nó không ức chế sự tổng hợp cholesterol ở ruột nhưng nó có tác dụng ức chế sự tổng hợp cholesterol ở gan bằng cách gây giảm tổng hợp HMG CoA reductase, enzym đầu tiên của quá trình tổng hợp cholesterol.

Gần đây bắt đầu xuất hiện một loại thuốc mới, chất ức chế HMG CoA reductase, thuốc này có tác dụng làm hạ cholesterol máu để phòng ngừa bệnh vữa xơ động mạch (lovastatin, simvastatin...).

5.5. Tổng hợp acid mật

Con đường thoái hoá chính của cholesterol ở động vật là sự tạo thành acid mật. Quá trình này xảy ra ở gan và ruột. Ở người, những acid mật là acid cholic và chenodeoxycholic, acid deoxycholic và litocholic. Hai acid đầu được tạo thành ở gan còn gọi là acid nguyên phát. Hai acid sau được tạo thành ở ruột còn gọi là acid thứ phát.

5.5.1. Cấu tạo hoá học của acid mật

Các acid mật có cấu tạo hoá học khác với cholesterol ở những đặc điểm sau (hình 9.32):

Có 24 carbon (do chuỗi ngang của cholesterol bị cắt đi 3 carbon), gốc -COOH gắn ở vị trí C-24.

– Có một đồng phân α ở C-3: 3 β - hydroxyl của cholesterol được chuyển thành gốc 3- α-hydroxy.

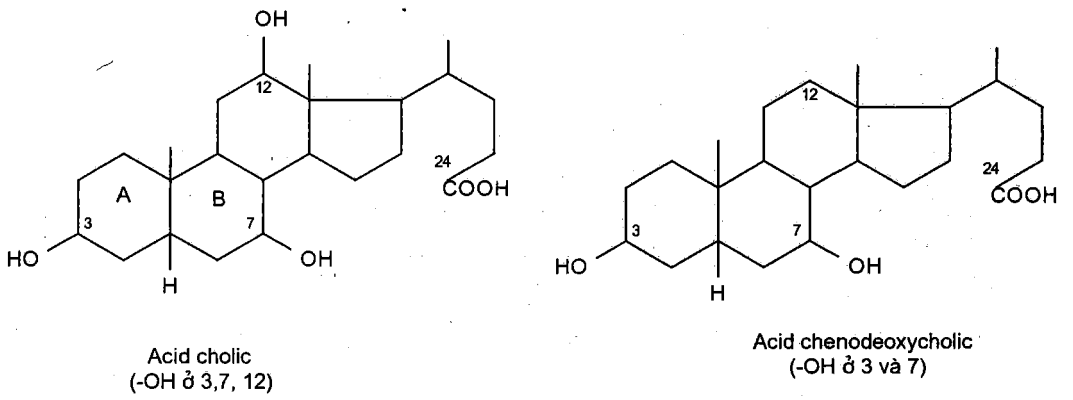
– Mất liên kết đôi ở vòng B.

– Có nhiều gốc hydroxyl. Bốn acid mật chỉ khác nhau ở số lượng gốc -OH gắn với nhân sterol.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tất cả các acid mật không ở dạng tự do mà được liên hợp với glycin hoặc taurin (một dẫn xuất của cystein) bằng liên kết amid với gốc -COOH ở C-24.

Tính chất kiềm của mật: các acid mật liên hợp được trung hoà với các ion K, Na tạo thành muối mật: glycocholat và taurocholat. Muối mật có tính chất nhũ tương hoá mạnh, do đó giúp tiêu hoá mỡ dễ dàng.



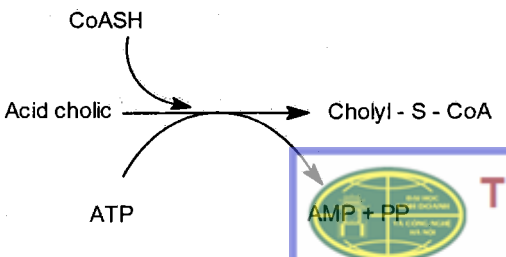
Hình 9.32. Cấu tạo hoá học của acid mật

5.5.2. Tổng hợp acid mật

Trong quá trình tổng hợp acid mật, một hoặc hai gốc hydroxyl được gắn vào nhân sterol ở dạng α. Gốc 3 β -hydroxyl cholesterol được chuyển thành dạng 3 α-hydroxyl. Liên kết đôi ở vòng B của cholesterol bị khử.

Sau đó, carbon cuối cùng của chuỗi ngang của cholesterol được oxy hoá rồi gắn với CoA bởi liên kết thioeste: carbon 24 cũng bị oxy hoá. Mẩu ba carbon từ C-25 đến C-27 được tách ra thành phân tử propionyl CoA. Trong quá trình tách này, CoA được gắn vào C-24 và tạo ra những sản phẩm cholyl CoA (có 3 gốc -OH) và chenodeoxycholyl CoA (có hai gốc -OH).

Phản ứng liên hiệp acid mật với glycin hoặc taurin cần sự hoạt hoá trước acid mật nhờ enzym hoạt hoá, ATP và CoA. Quá trình hoạt hoá này chỉ xảy ra ở microsom của gan.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 9.33. Phản ứng hoạt hoá acid cholic thành cholyl CoA trước khi liên hợp với glycin hoặc taurin

Cholyl CoA và chenodeoxycholyl CoA liên hợp bằng liên kết amid với glycin hoặc taurin để tạo thành acid mật liên hợp (acid glycocholic, glycochenodeoxycholic, taurocholic và taurochenodeoxycholic) và giải phóng CoA.

Hầu hết acid mật giải phóng từ gan dưới dạng liên hợp, đổ trực tiếp vào hành tá tràng qua ống dẫn mật hoặc dự trữ ở túi mật khi không cần ngay cho quá trình tiêu hoá.

Ở ruột, dưới tác dụng của vi khuẩn ruột, acid mật liên hợp bị thuỷ phân, giải phóng glycin hoặc taurin. Sau đó gốc hydroxyl ở C-7 được tách ra và acid cholic được chuyển thành acid deoxycholic, acid chenodeoxycholic chuyển thành acid lithocholic (acid mật tạo thành ở ruột còn được gọi là acid mật thứ phát).

Phần lớn acid mật ở ruột (acid mật nguyên phát còn lại và những acid mật thứ phát) được tái hấp thu qua tĩnh mạch cửa, tới gan và bài tiết lại vào mật, đó là chu trình ruột gan của acid mật. Như vậy túi mật có đầy đủ các acid mật nguyên phát và thứ phát.

Cholesterol, khác với những sản phẩm khác, không được oxy hoá thành CO_2 và H_2O. Vì vậy, việc chuyển hoá cholesterol thành acid mật tránh cho cơ thể không bị ứ đọng cholesterol vì sự ứ đọng cholesterol ở các tổ chức gây nên nhiều bệnh nguy hiểm, đặc biệt là vữa xơ động mạch.

6. Lipoprotein và sự vận chuyển lipid

Tính chất chung của các lipid là không tan trong nước. Trong các tế bào, tổ chức và các dịch sinh vật, lipid luôn luôn ở dưới dạng phức hợp với protein gọi là lipoprotein (Lp). Lp tan trong nước do đó nó được lưu thông trong huyết tương của máu. Protein kết hợp với lipid được bài tiết bởi các tế bào ruột hoặc nhu mô gan. Người ta đặt tên cho các thành phần của protein trong Lp là apolipoprotein (ApoLp).

6.1. Cấu trúc của lipoprotein

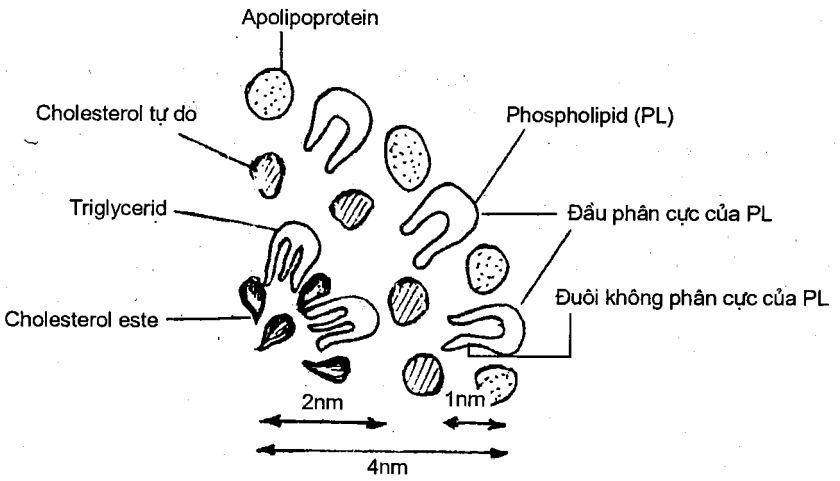
Lipoprotein được Macheboeuf (1929) mô tả có tên là Xênáp (Cénapse). Cấu trúc của Lp chưa được biết hoàn toàn đầy đủ mặc dù gần đây đã có nhiều tiến bộ. Ngoài thành phần protein, Lp còn có các thành phần khác như phospholipid, triglycerid, sterid và cholesterol. Lp có hình dạng gần hình cầu, đường kính từ 100 đến 800 Angstron. Các phân tử lipid và protein được liên kết với nhau chủ yếu bởi các liên kết Vander Wal. Theo mô hình của Shen (1977), trong phân tử Lp, apolipoprotein và phospholipid chiếm phần vỏ ngoài rồi đến cholesterol tự do (không este hoá) ở phần sau. Phần trung tâm gồm triglycerid và cholesterol este hoá không phân cực. Chính phần vỏ gồm phospholipid và apolipoprotein (có chiều dày khoảng 1nm) phân cực, bảo đảm tính hoà tan của phân tử Lp trong huyết tương (hình 9.34).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các apolipoprotein, do cấu trúc peptid của mình, có thể quyết định bản chất và lượng của lipid kết hợp. ApoLp cũng quyết định sự nhận diện của một lipoprotein nhất định bởi chất nhận của màng (receptor).

Cấu trúc của các loại apolipoprotein cũng bắt đầu được biết. Người ta đặt tên các chữ A, B, C cho các apolipoprotein chính; D và E cho các apolipoprotein ít

hơn. ApoLp A và C lại có các nhóm phụ AI, AII và CI, CII, CIII. ApoLp B có chứa hai dạng phân tử khác nhau B_{48} và B_{100}. Apolipoprotein E cũng có 3 dạng E_2, E_3, E_4. Hiện nay, người ta đặt nhiều hy vọng vào việc định lượng đặc hiệu các loại ApoLp, qua đó có thể biết được nồng độ các lipoprotein trong huyết tương và bản chất các rối loạn về chuyển hoá lipid.



Hình 9.34. Mẫu cấu trúc chung của lipoprotein (kích thước của HDL)

6.2. Phân loại và tính chất của lipoprotein

Những lipoprotein được phân loại theo một số đặc tính lý hoá: tỷ trọng, chỉ số nổi, phân tách bằng điện di với các giá khác nhau, phân loại bằng một số polyanion (heparin, sulfat dextran) hoặc theo tính đặc hiệu về miễn dịch (xem bảng 9.2).

Bằng phương pháp điện di trên giá polyacrylamid, lipoprotein được phân tách thành bốn loại như sau (bắt đầu từ thành phần di chuyển xa nhất đến thành phần di chuyển chậm nhất (hình 9.35)):

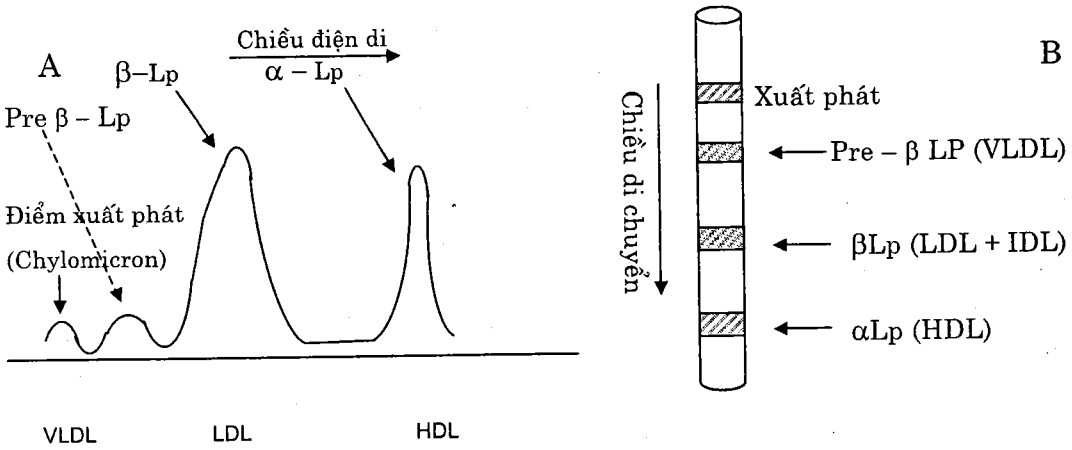
– Alpha lipoprotein (α-Lp) thành phần này di chuyển cùng tốc độ với α_1-globulin.

– Beta lipoprotein (β- Lp), di chuyển cùng tốc độ với β - globulin.

– Tiền beta - lipoprotein (pre - β-Lp): thành phần này nếu chạy trên giá thạch hay tinh bột thì chạy trước β-Lp).

– Các chylomicron di chuyển ít và thực tế dừng lại ở điểm xuất phát tức điểm đặt của mẫu huyết thanh để làm điện di.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 9.35. A. Điện di đồ lipoprotein huyết thanh trên gel acrylamid
B. Điện di lipoprotein huyết thanh người bình thường trên cột gel acrylamid

***Bảng 9.2.** Tính chất hoá lý và chức năng của lipoprotein huyết tương người*

Phân loại - Theo điện di - Theo tỷ trọng	Điểm xuất phát Chylomicron d=0,94	Pre - β VLDL d=0,95 – 1,006	β IDL + LDL d=1,007 - 1,063	α HDL d=1,064-1,210
Thành phần Protein (%) Apo-Lp chính Lipid (%) Lipid chủ yếu	 0,5 – 2 B_{48}, C 98 – 99,5 Triglycerid	 12 B_{100}, C, E 88 Triglycerid	 25 B_{100}, E 75 Cholesterol	 50 A_1, A_2, C, D 50 Phospholipid Cholesterol
Nguồn gốc	Ruột non	Gan và ruột non	Sản phẩm chuyển hoá của VLDL	Gan và ruột non
Chức năng	Vận chuyển triglycerid ngoại sinh	Vận chuyển triglycerid nội sinh	Vận chuyển cholesterol và phospholipid tới tế bào ngoại vi	Vận chuyển cholesterol từ tế bào ngoại vi về gan

Hiện nay, người ta đã xác định được phân tử lượng và vai trò của một số ApoLp, qua đó biết được nồng độ của các loại lipoprotein huyết tương và bản chất một số rối loạn chuyển hoá lipid (xem bảng 9.3).

***Bảng 9.3.** Chức năng sinh lý của apolipoprotein*

ApoLp	Phân tử lượng	Chức năng
$ApoA_1$	28.300	Hoạt hoá LCAT
ApoB	250.000	Gắn LDL với receptor - LDL
$ApoC_2$	10.000	Hoạt hoá lipoprotein lipase
$ApoE_{1-3}$	32.000 – 39.000	Vận chuyển cholesterol

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.3. Chuyển hoá và vai trò của lipoprotein

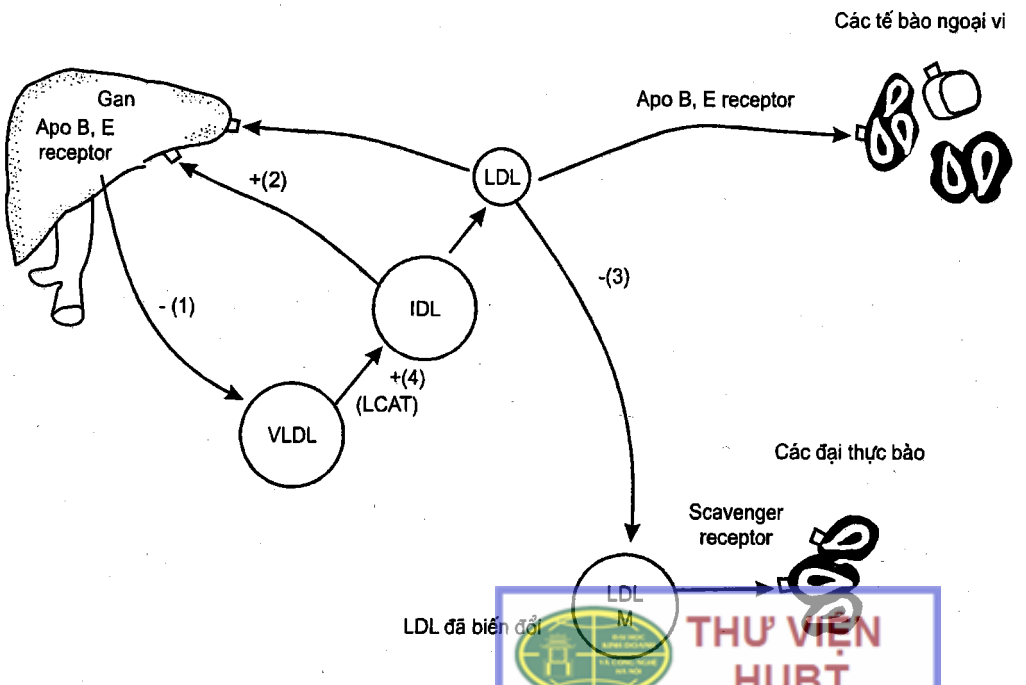
Lipoprotein có 2 nguồn gốc: nội sinh và ngoại sinh.

– Gan tổng hợp các Lp nội sinh từ các sản phẩm của lipid, glucid và các acid amin (acid amin tạo ceton). Quá trình tổng hợp xảy ra trên bề mặt của hệ thống lưới trong chất nguyên sinh của tế bào gan.

– Lp ngoại sinh được tạo ra từ ruột, có thể được chuyển hoá ở gan.

6.3.1. Chylomicron (Chyl)

Chylomicron là những phần tử lipid chứa dưới 2% protein (ApoLp B_{48}, C, E) và ít nhất 85% triglycerid, 5-10% phospholipid và 6-9% cholesterol. Chúng được tạo ra trong nội mô ruột và có vai trò vận chuyển triglycerid, cholesterol của thức ăn theo hệ thống bạch huyết vào đại tuần hoàn. Trong máu, chylomicron tương tác với lipoprotein lipase ở mao mạch nội mô để thuỷ phân triglycerid thành acid béo tự do để hấp thụ ở mô cơ và mỡ. Tại đó, AB tự do được oxy hoá, cung cấp năng lượng hoặc tổng hợp lại thành triglycerid. Qua quá trình trên chylomicron biến dần thành chylomicron tồn dư ít TG hơn và giàu cholesterol este hơn, đến gan sẽ được thâu tóm và tiêu hoá trong lysosom cho cholesterol tự do. Cholesterol này có thể được sử dụng tham gia tổng hợp màng, dự trữ ở gan, tạo muối mật, sản xuất lipoprotein.



Hình 9.36. Chuyển hoá VLDL, IDL, LDL và các thuốc ảnh hưởng

- (1) Ức chế bài tiết VLDL (acid nicotinic, gemfibrozil)
+ (2) Kích thích tổng hợp receptor ApoB, E ở gan (cholestyramin, lovastatin)
- (3) Ức chế sự biến đổi LDL (probucol)
+ (4) Hoạt hoá LPL (gemfibrozil, clofibrat, bezalip)
Scavenger receptor = receptor dọn rác: LPL = lipoprotein lipase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.3.2. Lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) (xem hình 9.36)

VLDL còn gọi là pre-β - lipoprotein, được tổng hợp từ gan và ruột, có khoảng 12% protein (ApoLp B_{100}, C, E) và 88% lipid, chủ yếu là triglycerid nội sinh và một phần cholesterol, cho nên vai trò chính của VLDL là vận chuyển triglycerid nội sinh. VLDL cũng tương tác với lipoprotein lipase để thuỷ phân bớt triglycerid làm cho kích thước VLDL giảm dần và được gọi là VLDL tồn dư hoặc IDL (lipoprotein có tỷ trọng trung gian). Khoảng một nửa số IDL được chuyển hoá ở gan, phần còn lại tiếp tục mất dần triglycerid để trở thành LDL.

6.3.3. Lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL)

LDL có tỷ trọng cao hơn và kích thước nhỏ hơn so với VLDL, có 25% protein (chủ yếu $ApoB_{100}$) và 75% lipid (chủ yếu là cholesterol nội sinh). LDL vận chuyển cholesterol tới mô và tương tác với receptor - LDL trên màng tế bào. Các hạt LDL được tế bào thâu tóm, cholesterol được dùng làm nguyên liệu tổng hợp steroid tham gia thành phần màng tế bào. Các tế bào thâu tóm LDL nhờ các receptor LDL (xem hình 9.36).

– *Receptor-LDL*: receptor - LDL được nghiên cứu chi tiết bởi Brown và Goldstein (giải Nobel 1985). Đó là một chuỗi peptid gồm 822 acid amin, một phần xuyên qua màng, phần - NH_2 tận cùng ở ngoài tế bào tương tác với LDL, còn phần - COOH nằm trong bào tương và cho phép LDL hoà nhập với lysosom. Receptor-LDL có ở hầu khắp mọi tế bào, đặc biệt ở tế bào thâu tóm cholesterol. Receptor-LDL có thể gắn nhiều loại Lp: LDL, IDL và HDL. Ở gan nếu có nhiều receptor-LDL thì đa số các hạt IDL được loại khỏi máu và chỉ một số ít chuyển thành LDL. Nếu có ít receptor - LDL thì sự phân giải IDL ở gan sẽ ít hơn và lượng lớn hơn IDL sẽ được chuyển thành LDL. Như vậy lượng receptor - LDL giảm tạo thành sự tăng LDL trong máu và thoái hoá của chúng chậm lại.

– *Cơ chế hoạt động*: LDL được thâu tóm theo các cơ chế ẩm bào thông qua receptor (receptor mediated endocistosis).

+ LDL gắn trên receptor-LDL với ái lực cao qua trung gian $ApoB_{100}$ của LDL.

+ Phức hợp LDL - receptor - LDL được nhấn chìm vào trong bào tương, đồng thời tạo thành túi chứa phức hợp gọi là endosom.

+ pH trong endosom thấp hơn làm cho phức hợp phân ly: receptor có thể quay ra mặt tế bào, còn LDL hoà nhập vào lysosom, giải phóng cholesterol và acid amin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Điều hoà receptor -LDL*: mọi tế bào đều có thể tự điều hoà sản xuất cholesterol theo nhu cầu. Khi nhu cầu cao (thời kỳ phát triển , tổng hợp acid mật, tổng hợp hormon steroid) tế bào tăng tổng hợp receptor để tăng nhận cholesterol từ ngoài vào. Ngược lại tổng hợp receptor giảm khi thừa cholesterol. Sự điều hoà

này theo cơ chế kiểm soát ngược tránh cho tế bào không quá tải cholesterol và giữ cho hàm lượng cholesterol trong tế bào hằng định.

Nhờ công trình của Brown và Goldstein mà người ta đã biết nhiều khuyết tật của receptor-LDL là gây chứng tăng cholesterol huyết gia đình.

Có nhiều kiểu đột biến gen mã hoá receptor -LDL, hậu quả làm giảm lượng receptor dẫn tới tăng thời gian tồn lưu LDL ở huyết tương (thời gian bán huỷ của LDL trong máu khoảng 1,5 ngày). Kết quả làm tăng LDL trong máu.

6.3.4. Lipoprotein có tỷ trọng cao (HDL) (xem hình 9.37)

HDL được tổng hợp ở gan và ruột có tỷ lệ protein khoảng 50% gồm có $ApoA_1$ (64%), A_2 (20%), C (11%), D (3%), E(2%) và khoảng 50% lipid trong đó phospholipid~30%, cholesterol ~ 18%, triglycerid 2%. Lượng cholesterol trong HDL được gọi là cholesterol tốt bởi vì cholesterol được HDL vận chuyển từ các tế bào ngoại vi về gan để thải ra ngoài bằng đường mật.

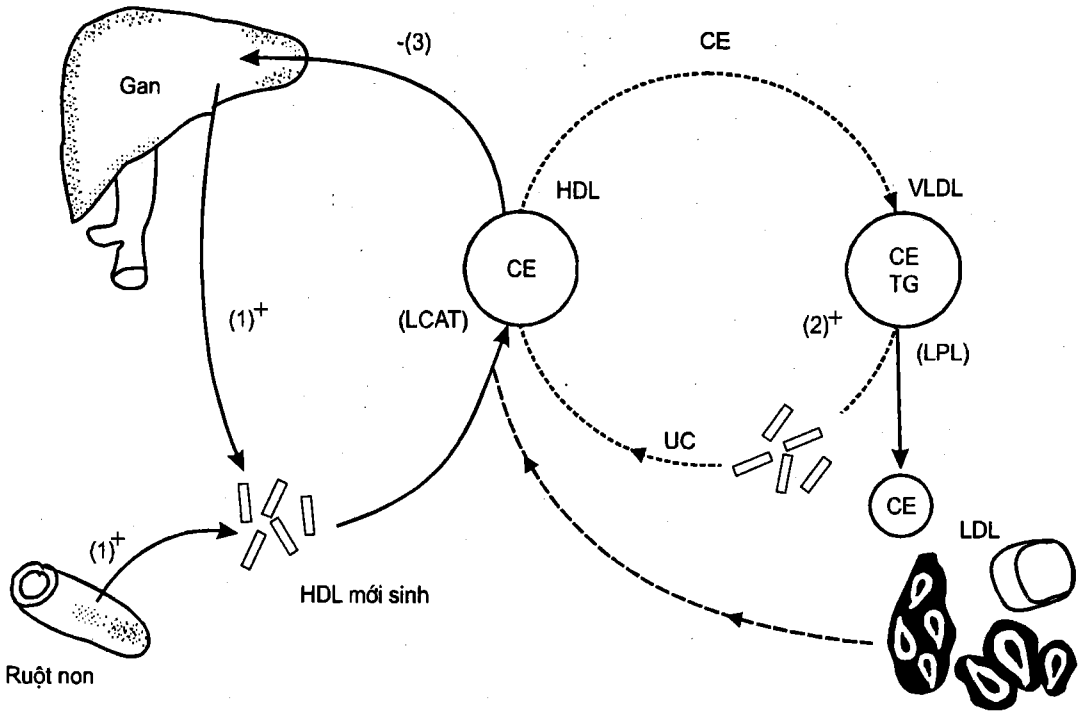
Trong vữa xơ động mạch, người ta xác định được HDL có vai trò bảo vệ, nghĩa là lượng HDL càng cao thì nguy cơ bị vữa xơ động mạch càng thấp. Các chỉ số cholesterol - HDL hay $ApoLpA_1$ cũng có mối tương quan tương tự HDL.

Ngược lại với HDL, LDL là Lp gây xơ vữa động mạch (XVDM), riêng nồng độ LDL trong máu cao cũng tạo nên các mảng xơ vữa mà thủ phạm chính là cholesterol trong LDL, người ta còn gọi là cholesterol xấu. Thông thường, ngoài sự thoái hoá chủ yếu theo con đường receptor đặc hiệu, một phần nhỏ LDL còn thoái hoá theo con đường kém đặc hiệu hơn trong đó có sự tham gia của đại thực bào. Khi nồng độ cholesterol trong máu tăng cao thì sự thoái hoá theo còn đường này cũng tăng dần tới sự ứ đọng cholesterol ở đại thực bào thành động mạch (gây mảng xơ vữa), đại thực bào ở gân và da gây u vàng (Brown và Goldstein, 1983). Gần đây phát hiện nguồn gốc cholesterol ứ đọng ở đại thực bào trong mảng xơ vữa là LDL đã bị oxy hoá (Steinberg, 1989). Bản thân đại thực bào và tế bào nội mô chứa rất ít receptor - LDL nhưng lại có quá nhiều receptor dọn rác (scavenger receptor) là loại chỉ nhận biết được LDL đã biến đổi. Khi LDL bị oxy hoá, các lysin của $ApoB_{100}$ bị biến đổi do phản ứng với các sản phẩm oxy hoá của acid béo.

Các đại thực bào thâu tóm LDL đã biến đổi thành các tế bào có bọt. Tế bào có bọt còn có thể hình thành do sự thâu tóm các cục máu đông. Sự hình thành các tế bào có bọt là một trong những chặng đầu tiên hình thành bản xơ vữa động mạch.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Do vậy, một trong những cơ chế phòng ngừa VXĐM là hạn chế sự hình thành tế bào có bọt. Các thuốc chống oxy hoá (vitamin E) có tác dụng ngăn sự peroxy hoá của acid béo hay probucol có tác dụng ức chế sự biến đổi của LDL đều có tác dụng phòng và thuyên giảm VXĐM. Các thuốc lưu thông huyết mạch cùng với các yếu tố làm giảm thời gian tồn tại của LDL trong máu đều góp phần làm giảm sự biến đổi của LDL. Đó cũng là một trong những yếu tố phòng ngừa VXĐM.



Hình 9.37. Chuyển hoá của HDL và cơ chế tác dụng của thuốc làm tăng nồng độ cholesterol - HDL

(1) Kích thích tổng hợp $ApoA_1$ (gemfibrozil)

(2) Kích thích tiêu lipid của Lp giàu TG (gemfibrozil, bezalip, clofibrat)

(3) Ức chế thoái hoá HDL (a.nicotinic)

UC: Cholesterol tự do

CE: Cholesterol este

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 10

CHUYỂN HOÁ PROTID VÀ ACID NUCLEIC

MỤC TIÊU

1. Hiểu và trình bày lại được diễn biến chính của:

- *Quá trình thoái hoá và tổng hợp acid amin (những đơn vị cấu tạo của phân tử protid).*
- *Quá trình thoái hoá và tổng hợp nucleotid (những đơn vị cấu tạo của phân tử acid nucleic).*

2. Giải thích được một số những nguyên lý cơ bản của quá trình:

- *Thoái hoá và sinh tổng hợp của hemoglobin và protein đặc hiệu.*
- *Thoái hoá và tổng hợp acid nucleic (ADN và ARN).*

3. Phân tích vai trò chính và những liên quan của chuyển hoá protid và acid nucleic với các chuyển hoá khác.

4. Liên hệ để giải thích những rối loạn chuyển hoá protein và acid nucleic dẫn đến tình trạng bệnh lý.

Từ đó tìm hiểu tác dụng của một số loại thuốc có liên quan.

1. Sinh tổng hợp mononucleotid

Động vật có khả năng tổng hợp trong cơ thể các hợp phần purin và pirimidin của acid nucleic. Bởi vậy không bắt buộc phải đưa chúng vào trong thức ăn. Nhưng đối với một số loài vi sinh vật, để phát triển bình thường cần có một lượng purin và pirimidin trong môi trường dinh dưỡng.

Ba hợp phần cần có trong thành phần mononucleotid là:

- H_3PO_4 (sẵn có trong cơ thể từ các chuyển hoá)
- Pentose:

+ Ribose được hình thành dưới dạng ribose 5' phosphat theo con đường hexose monophosphat của chuyển hoá glucid.

+ Deoxyribose được tổng hợp theo phản ứng:

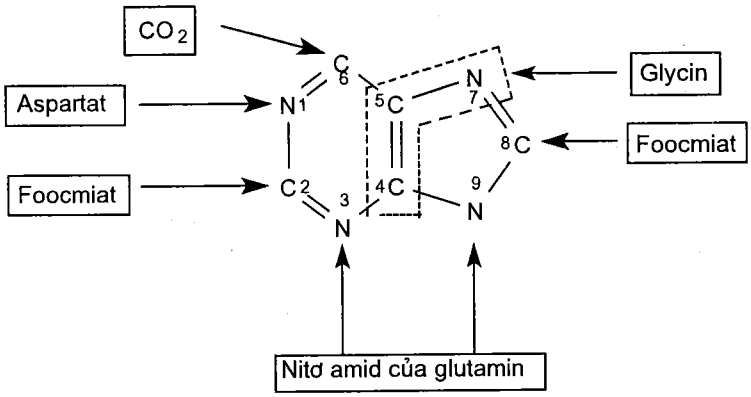
Phosphoglyceraldehyd + Acetaldehyd → Deoxyribose 5' (P)

- Nucleotid purin và pirimidin có thể được tổng hợp mới từ những tiền chất không phải nucleotid như acid amin, NH_3, CO_2, foocmiat hoặc là được tổng hợp trực tiếp từ những gốc purin và pirimidin sẵn có.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.1. Tổng hợp ribonucleotid có base purin

Nhờ phương pháp nghiên cứu ghi dấu đồng vị người ta đã xác định được nguồn gốc các nguyên tố trong sự hình thành nhân purin (hình 10.1).



Hình 10.1. Sơ đồ biểu thị nguồn gốc các nguyên tử của purin

N_1: Có nguồn gốc từ acid aspartic
C_2 và C_8 có nguồn gốc từ acid formic
N_3 và N_9 có nguồn gốc từ glutamin
C_4, C_5, N_7 có nguồn gốc từ phân tử glycin
C_6 có nguồn gốc từ CO_2

Các công trình nghiên cứu của Bucharan, Greenberg đã xác định được quá trình tổng hợp purin; có thể chia quá trình tổng hợp làm 4 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Tạo glycinamid ribosyl - 5' phosphat (glycinamid ribotid)

– Phản ứng đầu tiên của sự tổng hợp là sự pyrophosphoryl hoá phân tử ribose-5'-phosphat với sự tham gia của ATP để tạo thành 5'- phosphoribosyl-pyrophosphat (PRPP).

– Tiếp theo là sự gắn amin của glutamin vào PRPP nhờ xúc tác của enzym amidophosphoribosyl transferase để tạo nên 5' phosphoribosyl-1-amin. Chất này kết hợp với glycin tạo nên glycinamid-ribosyl 5' phosphat, tức là glycinamid ribotid (GAR). Phản ứng kết hợp này sử dụng năng lượng từ sự phân giải ATP.

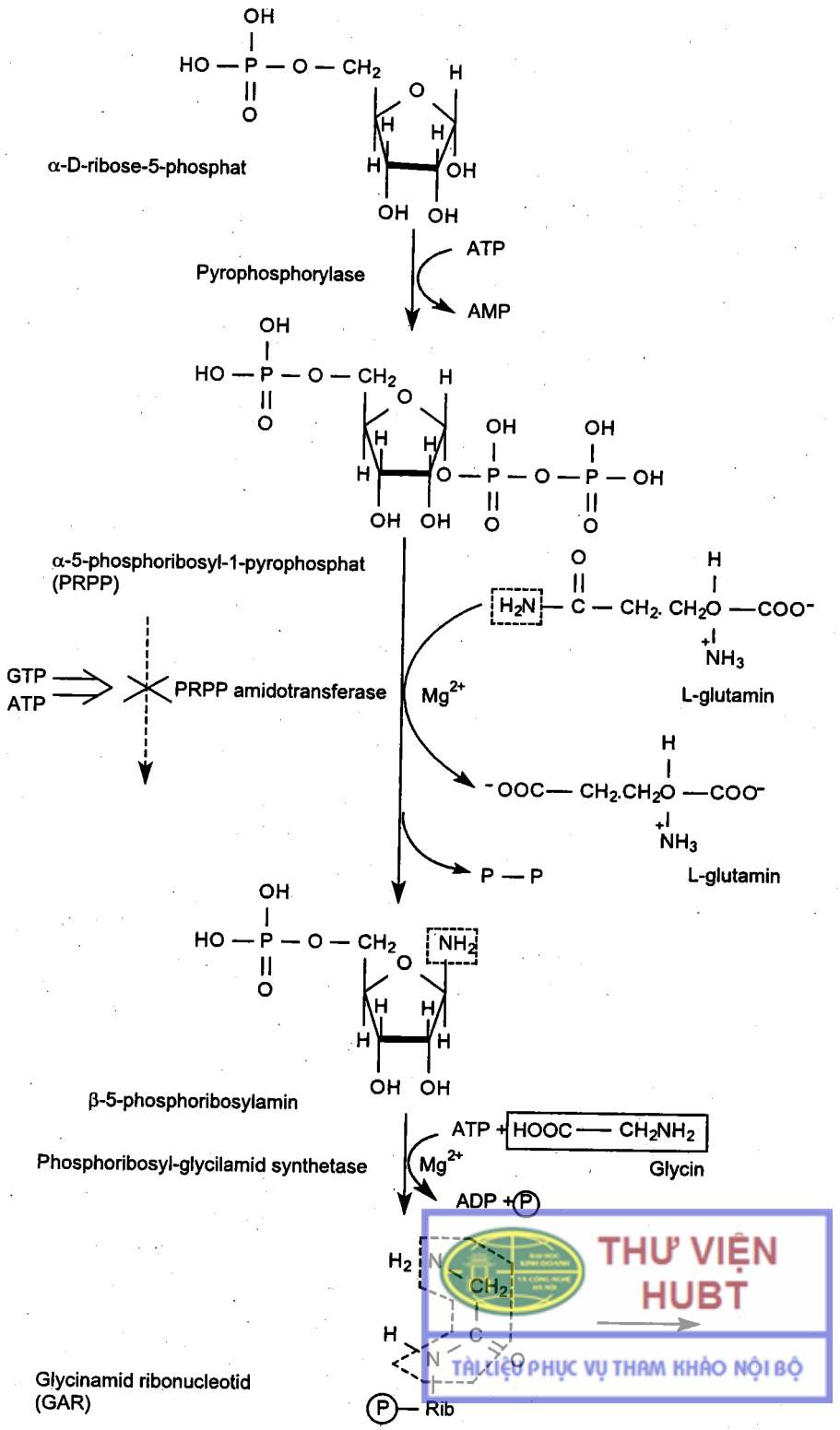
Giai đoạn 2: Tạo nhân imidazol

Glycinamid ribosyl 5' phosphat được formyl hoá với sự tham gia của methenyl tetrahydrofolat (chất cho fomyl) và enzym transformylase tạo nên α-N-formylglycinamid ribonucleotid. Sau đó chất này được amin hoá với sự tham gia của glutamin tạo thành α-N-glycinamidin ribonucleotid. Sau đó α-N-glycinamidin ribonucleotid loại một phân tử H_2O để đóng vòng nhờ năng lượng từ sự phân giải ATP tạo thành 5-aminoimidazol rồi ribonucleotid.

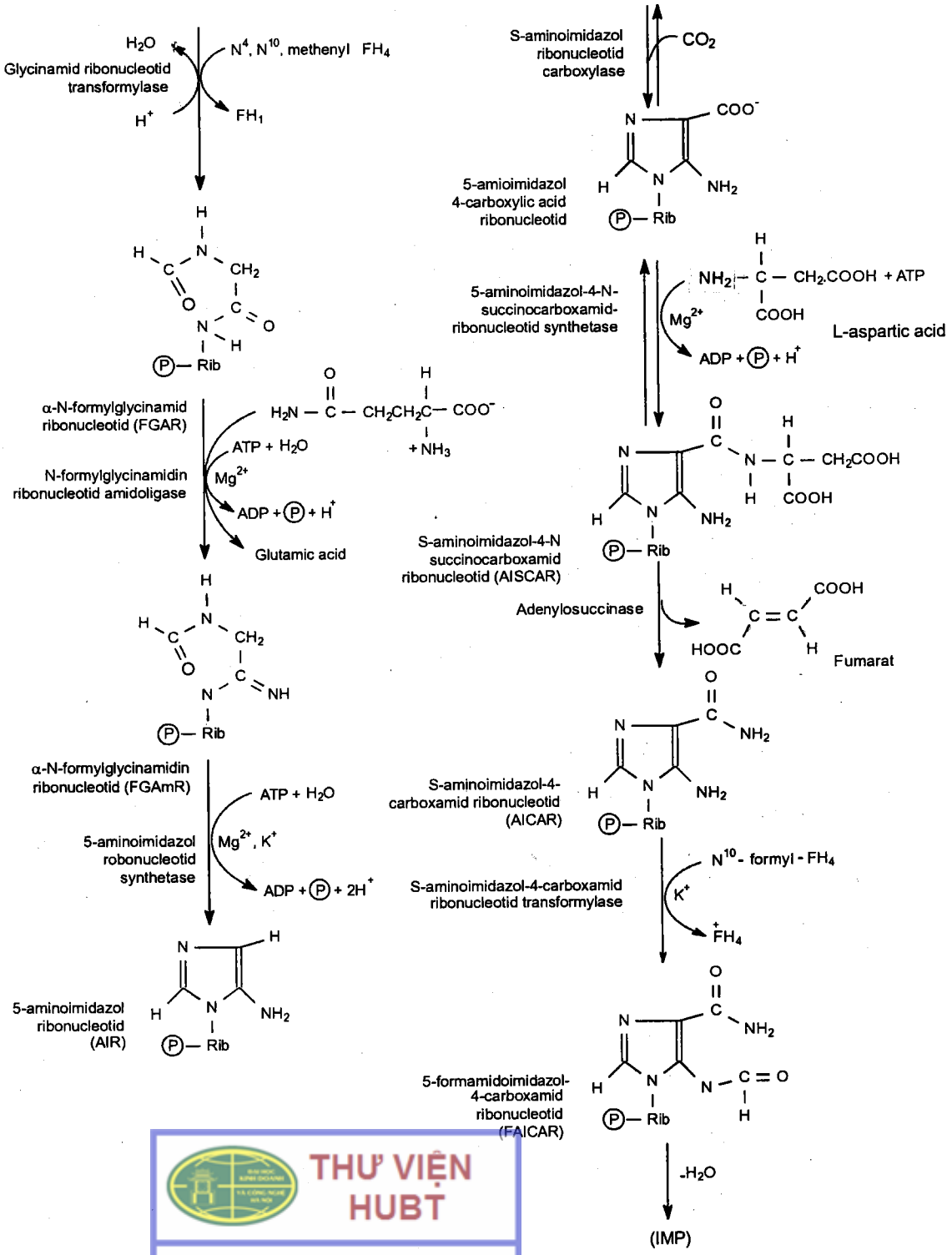
Giai đoạn 3: Tạo nhân purin và sự hình thành acid inosinic

5-aminoimidazol ribonucleotid được carboxyl hoá với sự xúc tác của 5 aminoimidazol ribonucleotid carboxylase tạo thành 5-amino-4 carboxy imidazol ribonucleotid. Chất này kết hợp với acid aspartic tạo nên 5-amino-4 succino carboxamid imidazol ribonucleotid. Phản ứng này cần năng lượng từ sự phân giải ATP. Sau đó acid fumaric tách khỏi 5-aminoimidazol -4 succinocarboxamid. Sau đó với sự tham gia của N^{10} formyl tetrahydrofolat (chất chuyển formyl) tạo nên 5-formamidoimidazol-4 carboxamid ribonucleotid (FAICAR). Chất này khử H_2O để đóng vòng tạo thành acid inosinic (IMP) (hình 10.2).

THƯ VIỆN HUBT

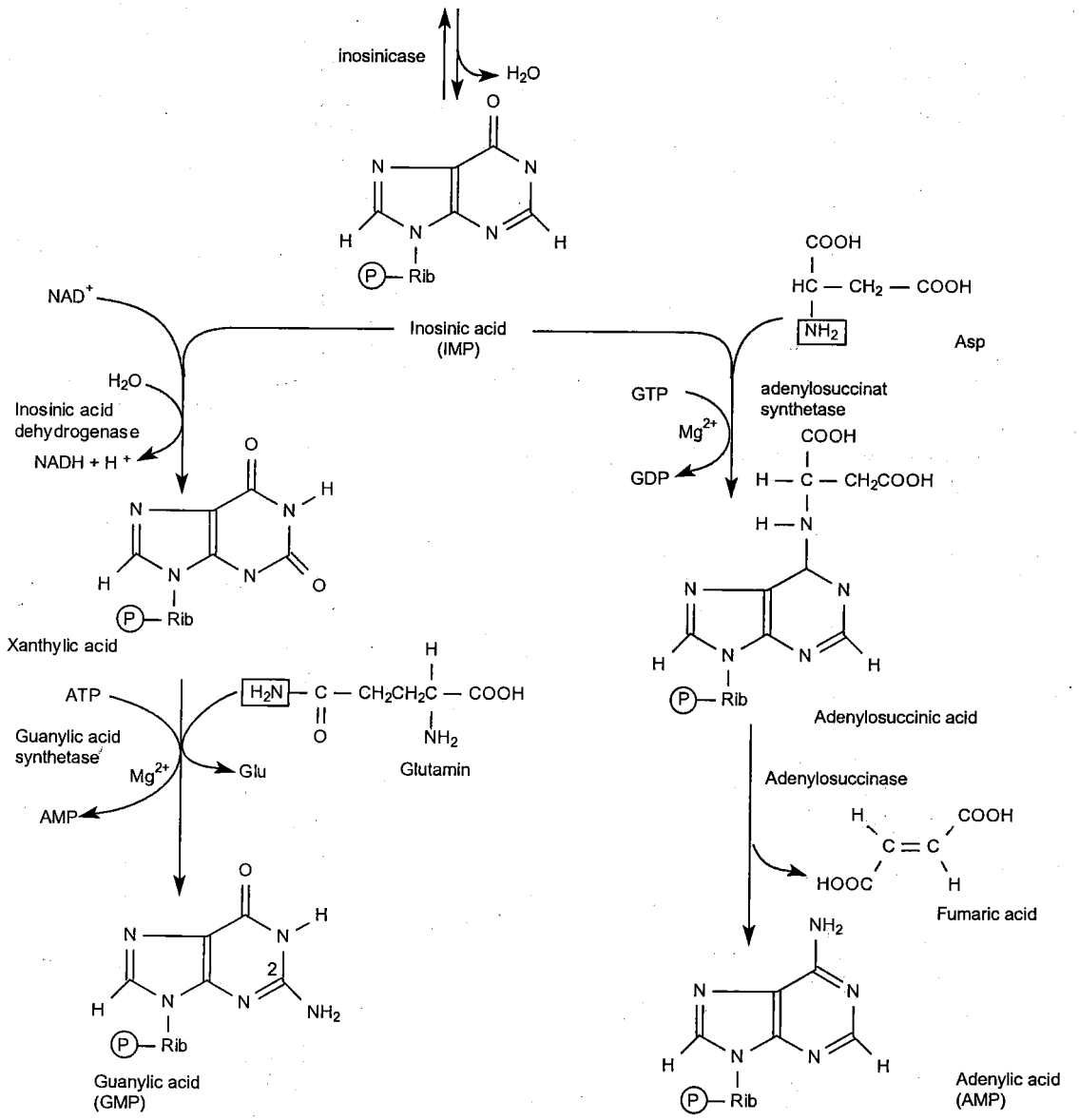


Hình 10.2. Những phản ứng mở đầu tổng hợp acid inosinic (IMP)



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.2 (tiếp). Những phản ứng tiếp theo dẫn đến tổng hợp acid inosinic (IMP)



Hình 10.3. Tổng hợp AMP và GMP từ IMP

Giai đoạn 4: Chuyển acid inosinic thành acid adenilic và acid guanylic

– Tạo acid adenylic (AMP)

Acid inosinic ngưng tụ với acid aspartic tạo thành succino adenin nucleotid, phản ứng này cần năng lượng từ sự phân huỷ GTP. Sau đó tách acid furmaric để tạo thành acid adenylic (AMP).

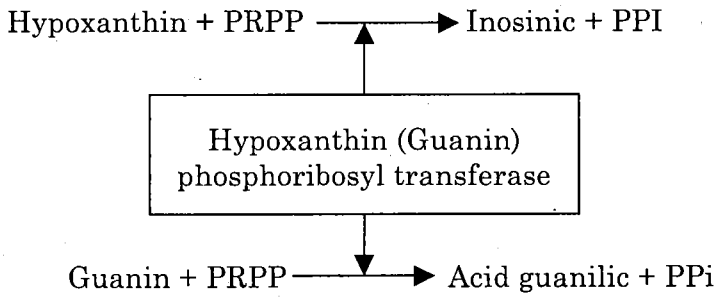
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Tạo acid gluanylic (GMP)

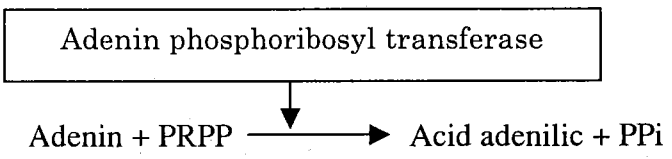
Acid inosinic bị oxy hoá ở vị trí carbon thứ hai của phân tử purin tạo acid xanthilic. Sau đó cũng ở vị trí thứ hai có sự gắn nhóm amin để tạo thành acid guanilic, phản ứng này cần năng lượng từ sự phân giải ATP.

Như vậy qua 4 giai đoạn trên, các base purin: adenin, guanin được hình thành đồng thời với sự tổng hợp nucleotid monophosphat tương ứng (AMP, GMP).

Cơ chế hình thành các mononucleotid như đã mô tả trên là chính, song không phải là duy nhất. Người ta đã phân lập được các enzym xúc tác sự hình thành các mononucleotid từ các base tự do, thí dụ từ hypoxanthin và guanin nhờ enzym hypoxanthin hoặc guanin phosphoribosyl transferase.



Từ adenin nhờ enzym adenin phosphoryl transferase



Người ta cũng còn thấy có sự phosphoryl hoá các nucleosid tạo ra nucleotid nhờ ATP. Thí dụ: adenosin được phosphoryl hoá nhờ ATP:

Adenosin + ATP ⟶ AMP + ADP

1.2. Tổng hợp ribonucleotid base pyrimidin

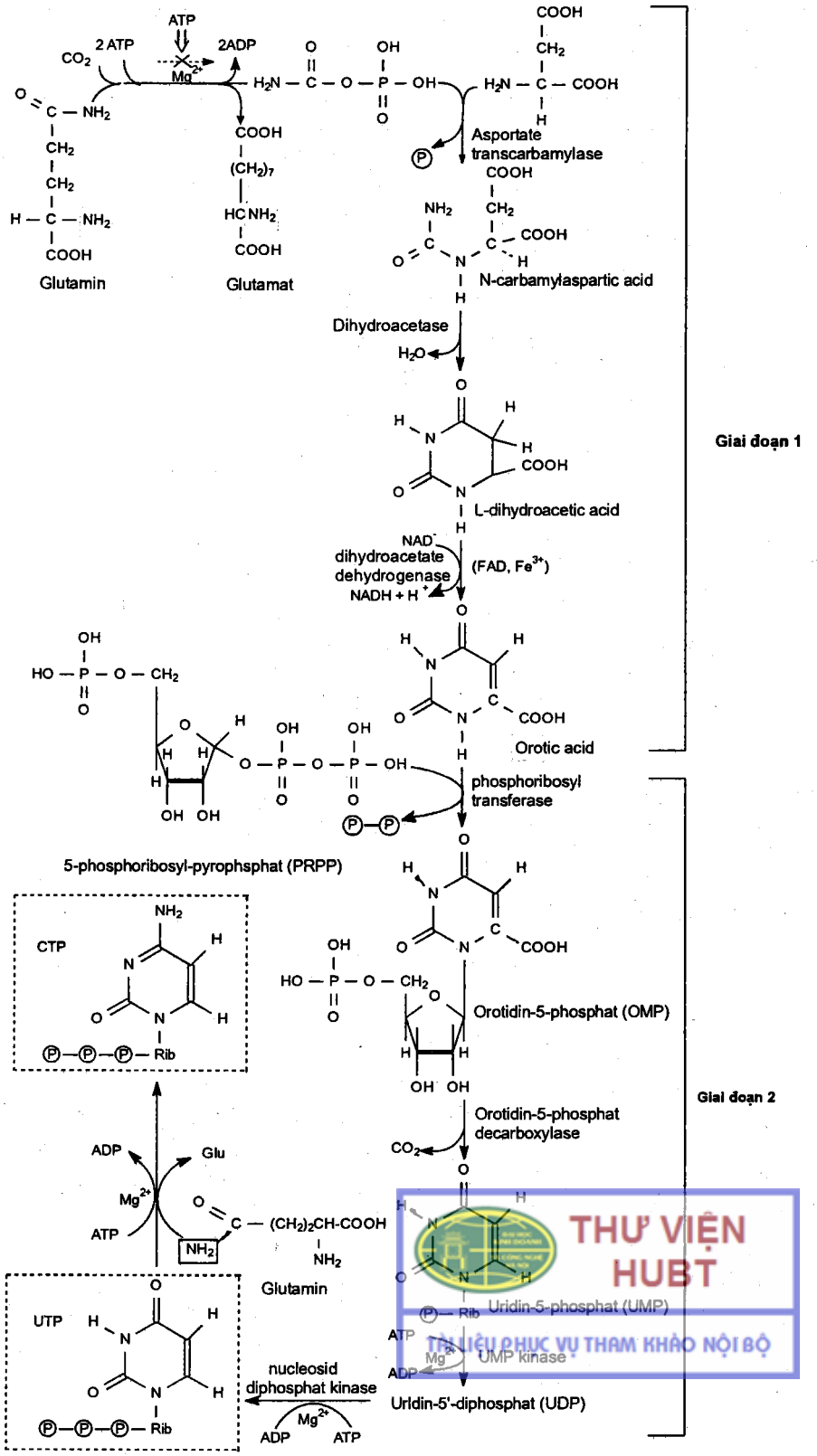
Có thể chia quá trình tổng hợp các ribonucleotid base pyrimidin thành 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Sự tạo thành acid orotic (hình 10.4)

Acid orotic là acid có nhân pyrimidin và là chất trung gian trong quá trình sinh tổng hợp các base pyrimidin. Nguyên liệu đầu tiên được sử dụng là carbamyl phosphat và acid aspartic. Carbamyl phosphat là hợp chất không bền, được tổng hợp ở ty thể từ NH_3 và CO_2 (xem phần tổng hợp urê). Carbamylphosphat kết hợp với acid aspartic với sự xúc tác của aspartat carbamyl transferase tạo thành carbamyl aspartic. Chất này đóng vòng tạo nên acid L-dihydroorotic nhờ sự xúc tác của enzym dihydroorotase. Sau đó acid L-dihydroorotic bị oxy hoá để thành acid orotic dưới tác dụng của dihydroorotat dehydrogenase có coenzym là NAD.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Giai đoạn 2: Sự tạo thành các base pyrimidin và các nucleosid phosphat chứa base pyrimidin



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.4. Sự tạo thành acid oritic (giai đoạn 1) và cytidin triphosphat (CTP)

– Tạo thành uridin monophosphat (UMP):

Acid orotic gắn với ribose 5' phosphat nhờ enzym orotidin 5' phosphat pyrophosphorylase có sự tham gia của phosphorybosyl pyrophosphat (PRPP) để tạo thành oritidin 5' phosphat (acid oritidilic). Sau đó oritidin 5' phosphat bị khử carboxyl tạo thành uridin mononucleotidphosphat, (UMP, acid uridilic) nhờ sự xúc tác của oritidin 5'-0 phosphat decarboxylase (hình 10.4).

– Sự tạo thành cytidin triphosphat (CTP):

Uridin monophosphat được phosphoryl hoá 2 lần tạo thành uridin triphosphat (UTP). Uridin triphosphat được amin hoá ở vòng pyrimidin tạo thành cytidin 5' triphosphat (CTP). Chất cho nhóm amin này ở động vật có vú là glutamin, ở E.coli là NH_3 tự do (hình 10.4).

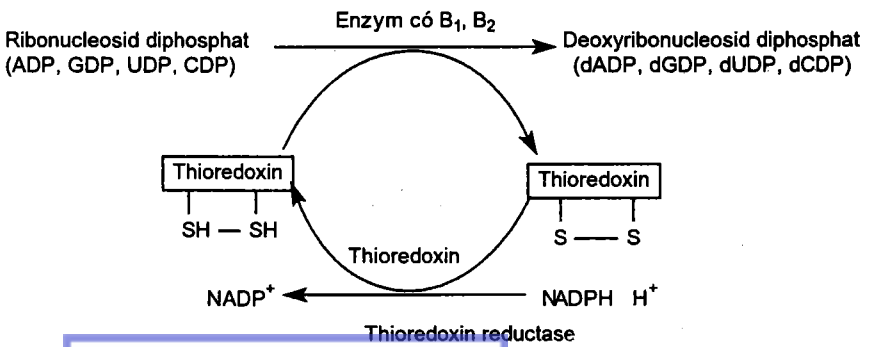
Sự khác nhau giữa hai quá trình tổng hợp nucleotid có base purin và nucleotid có base pyrimidin là:

Các nucleotid có base purin được tổng hợp dần từng bước trên cơ sở một phân tử ribose 5' phosphat và qua chất trung gian chung là acid inosinic.

Các nucleotid có base pyrimidin được tổng hợp riêng nhân pyrimidin dưới dạng acid orotic. Sau đó acid orotic kết hợp với phosphoribosyl pyrophosphat và tiếp tục biến đổi thành các nucleotid có base pyrimidin.

1.3. Tổng hợp deoxyribonucleotid

Sự tổng hợp các deoxyribonucleotid được thực hiện nhờ quá trình khử oxy của các ribonucleotid: khử trực tiếp hydroxyl của ribose ở C'-2 của ribonucleosid-5'-diphosphat. Các ribonucleotid bị khử bởi một hệ thống enzym với sự tham gia của thioredoxin, thioredoxin reductase và hai enzym có vitamin B_1 và B_2. Chất cho hydro là NADPH + H^+. Sau quá trình khử, các ribonucleosid- 5' diphosphat được chuyển hoá thành deoxyribonucleosid -5'- diphosphat.



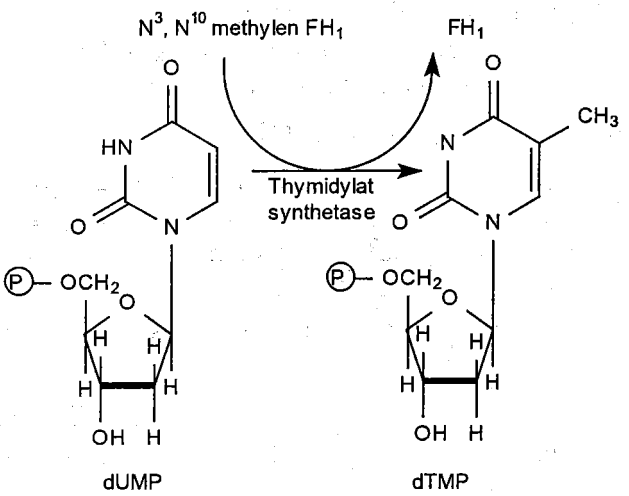
Hình 10.5. Khử ribonucleosid - 5'- diphosphat thành deoxyribonucleosid -5'- diphosphat

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Tổng hợp acid deoxythymidylic (dTMP)

Sự tổng hợp nucleotid này rất đặc biệt vì nó không có ribonucleotid tương ứng. dUMP tạo ra từ phản ứng khử amin của dCMP, được methyl hoá nhờ xúc tác của thymidylat synthetase. Chất cho methyl là methylen N-5N-10 tetrhydrofolat.

Sau đó dTMP được phosphoryl hoá thành dTTP nhờ có mặt của kinase và ATP (xem hình 10.6 và tóm tắt ở hình 10.7).



Hình 10.6. Tổng hợp dTMP từ dUMP

2. Chuyển hoá của acid nucleic

Các tế bào của cơ thể sống cần và có khả năng tổng hợp acid nucleic cho chúng và không yêu cầu phải có acid nucleic trong thức ăn. Vì vậy hàm lượng của acid nucleic trong thức ăn không có ý nghĩa đặc biệt đối với cơ thể. Bằng các nghiên cứu theo dõi tốc độ đổi mới của các acid nucleic trong cơ thể, người ta đã đưa ra kết luận là: các acid ribonucleic (ARN) của tế bào được đặc trưng bởi sự trao đổi mạnh và đổi mới nhanh chóng. Lượng ARN tăng trong tế bào cùng với sự tăng tổng hợp mạnh mẽ protein. Khi kích thích kéo dài tế bào thần kinh, hàm lượng ARN tăng và tốc độ đổi mới ARN cũng tăng. Sự đổi mới acid desoxyribonucleic (ADN) trong các mô thì chậm hơn. Sự đổi mới ADN được quan sát trong các tế bào đang phát triển, tế bào tái sinh và thời kỳ phân chia.

Trong chương này sẽ trình bày cả sự chuyển hoá acid nucleic và sự thoái hoá nucleotid.

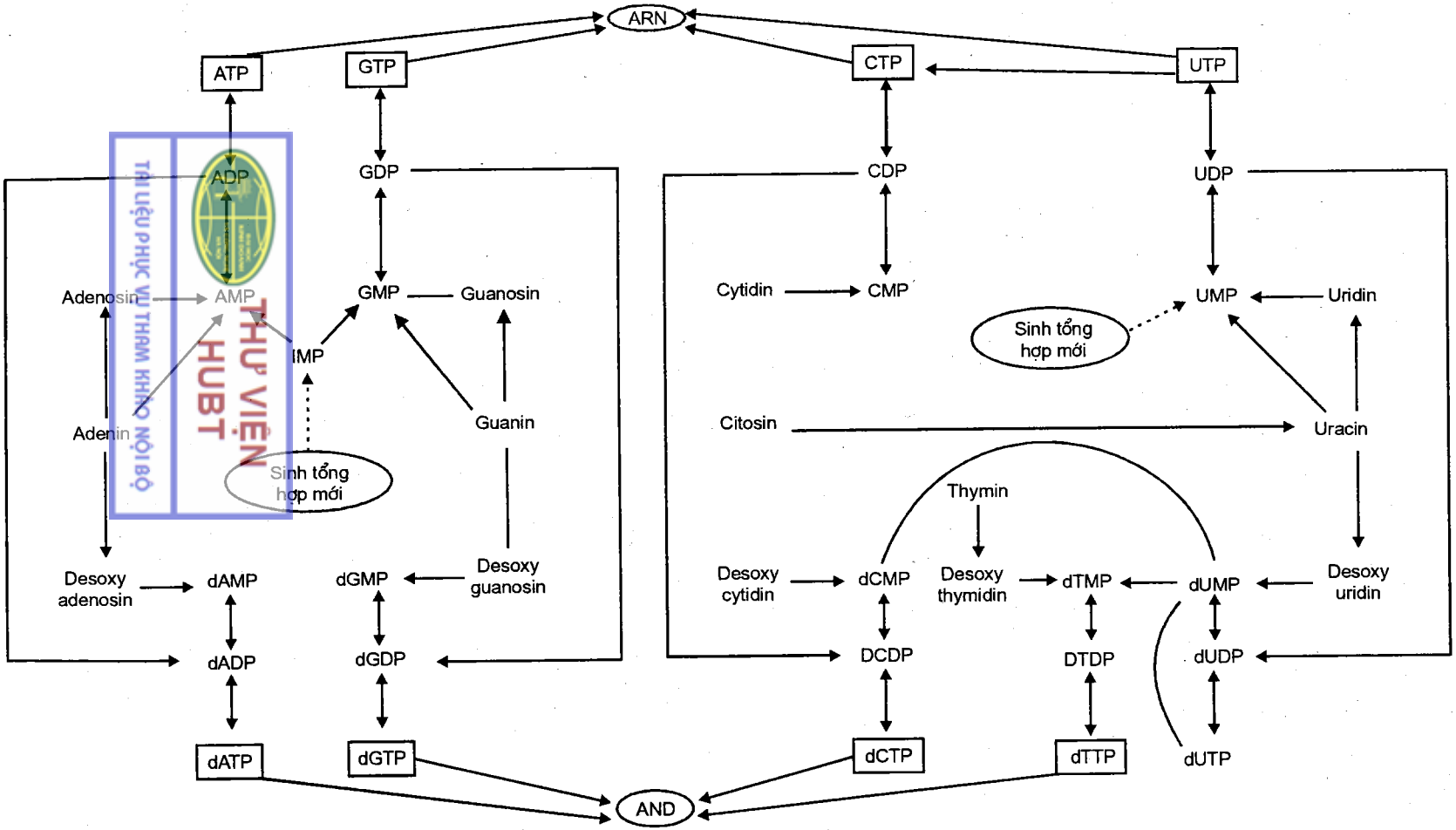
– Một số nucleotid là thành phần các coenzym quan trọng (NAD^+, $NADP^+$, FMN, FAD, coenzym A).

– Acid desoxyribonucleic (ADN) mang thông tin di truyền.

– Acid ribonucleic (các dạng ARN) tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein.

Bởi vậy chuyển hoá của nucleotid và acid nucleic có ý nghĩa rất quan trọng.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 10.7. Sơ đồ tóm tắt quá trình sinh tổng hợp các ribonucleosid triphosphat và các desoxyribonucleosid triphosphat

2.1. Thoái hoá acid nucleic (AN)

2.1.1. Thoái hoá chung của acid nucleic

Ở tổ chức động vật có các enzym nuclease thuỷ phân acid nucleic. Bản chất của các enzym này là enzym thuỷ phân, cắt liên kết phosphodieste của polynucleotid. Nuclease tác động lên liên kết phosphodieste ở đầu chuỗi AN gọi là exonuclease. Nuclease tác động lên các liên kết phosphodieste ở phần bên trong chuỗi AN gọi là endonuclease. Các endonuclease được chia thành 2 loại:

– *Ribonuclease (RNase) đặc hiệu với các ARN*

Trong số các ribonuclease cần kể tới hai enzym có tính đặc hiệu đặc biệt:

+ RNase tụy tạng cắt các liên kết phosphodieste của ARN khi ở phía carbon 3' có một nucleotid có base pyrimidin (U hoặc C).

+ RNase T_1 chiết suất từ *aspergillus orizae* cắt các liên kết phosphodieste của ARN khi ở phía carbon 3' có một nucleotid guanylic hoặc một nucleotid inosinic (là nucleotid hiếm, có trong ARNt).

– *Các DNase có tính đặc hiệu (không rõ rệt so với các RNase)*

Người ta phân biệt:

+ DNase tụy (hay DNase I) (cắt một chuỗi ADN, ADN một sợi đơn).

+ DNase phân lập từ lách (hay DNase II) (cắt hai chuỗi ADN, ADN một sợi kép).

Dưới tác dụng của các endonuclease, acid nucleic sẽ chuyển hoá thành một hỗn hợp oligonucleotid (chuỗi polynucleotid ngắn) và các mononucleotid.

2.1.2. Thoái hoá của các mononucleotid

Các enzym nucleotidase thuỷ phân các mononucleotid thành acid phosphoric và nucleosid. Sau đó các nucleosid tiếp tục bị thuỷ phân thành các base và pentose dưới tác dụng của nucleosidase.

Acid phosphoric được sử dụng trở lại cho các quá trình phosphoryl hoá hoặc được đào thải ra nước tiểu và phân.

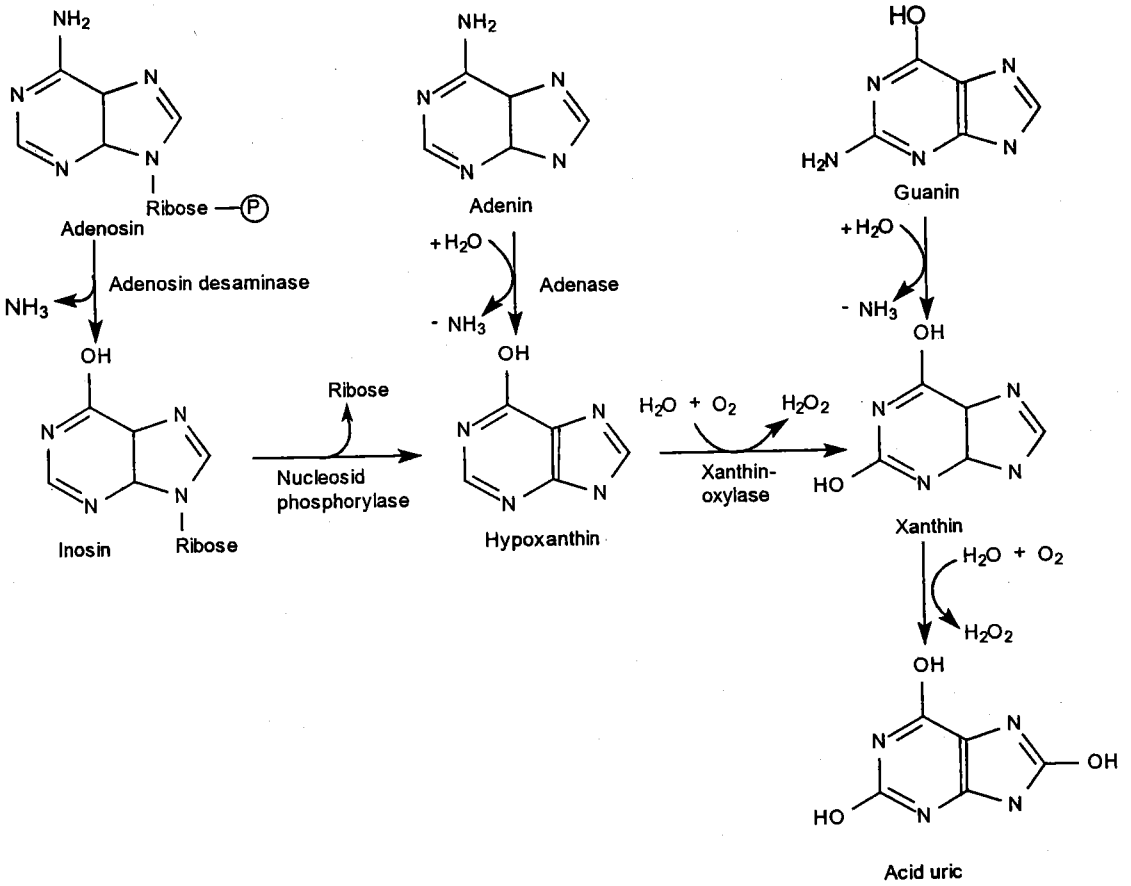
Các pentose chuyển hoá tiếp tục theo con đường chuyển hoá của glucid.

Các base có nitơ tiếp tục thoái hoá tới các sản phẩm cuối cùng là acid uric, urê.

2.1.3. Thoái hoá của các base purin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Adenin và guanin bị thuỷ phân giải phóng nhóm amin tạo thành hypoxanthin và xanthin dưới tác dụng của enzym xanthin oxydase (adenase), hypoxanthin oxy hoá thành xanthin rồi thành acid uric (trihydroxypurin). Adenase có nồng độ rất thấp, trong khi đó nồng độ adenosin desaminase khá cao. Enzym adenosin desaminase khử amin của adenosin tạo thành inosin. Sau đó inosin bị tách ribose tạo thành hypoxanthin, rồi tiếp tục thành acid uric (hình 10.8 và 10.10).



Hình 10.8. Sơ đồ thoái hoá base purin

Trong niêm mạc ruột non, người ta thấy adenosin desaminase hoạt động rất mạnh. Chức năng sinh học của enzym này là bảo vệ cơ thể tránh khỏi tác dụng dược lý mạnh mẽ của adenosin. Adenosin trên cơ thể động vật có vú có tác dụng làm chậm hoạt động của tim, làm giảm huyết áp và kích thích tử cung.

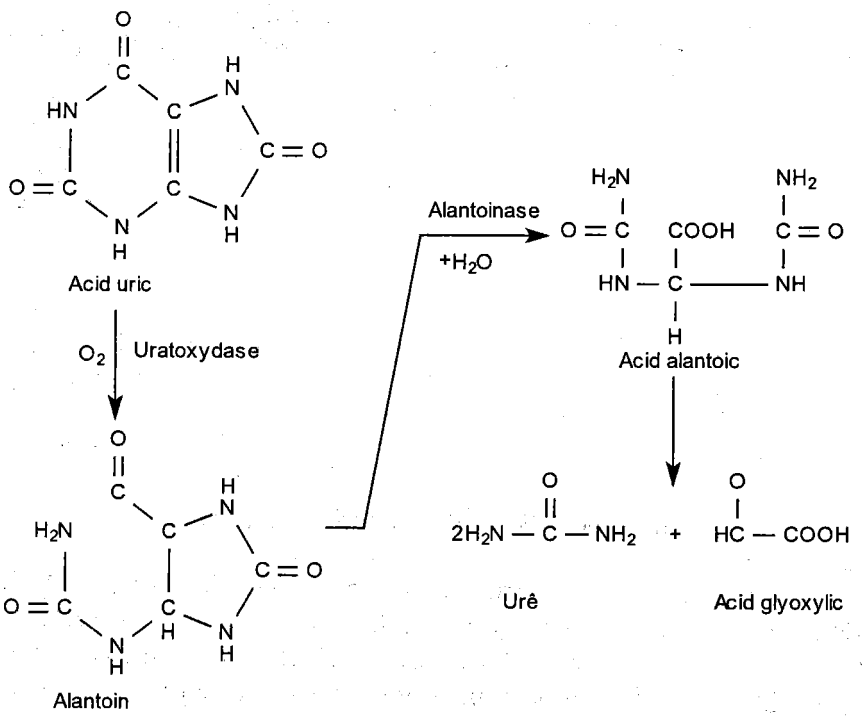
Ở người, sản phẩm thoái hoá cuối cùng của base purin là acid uric. Nồng độ acid uric trong máu ở người bình thường là 3-5mg/100ml. Lượng acid uric trong nước tiểu khoảng 0,3-0,8g/24 giờ. Lượng acid uric trong nước tiểu thay đổi theo chế độ ăn. Chế độ ăn nhiều protid, thí dụ ăn nhiều tổ chức gan, thận, lượng acid uric trong nước tiểu tăng. Trong bệnh Goutte (bệnh thống phong), bệnh tăng bạch cầu, lượng acid uric trong máu có thể tăng tới 7-8g/100ml.

Triệu chứng chủ yếu của bệnh thống phong là tăng purin huyết. Sự tăng này thường diễn ra không thể hiện một triệu chứng gì. Tuy nhiên cũng thường là nguyên nhân tích đọng uric trong các sụn xương, và có thể đó là nguyên nhân gây bệnh thống phong cấp. Mặc dù đã có rất nhiều nghiên cứu nhưng thực chất rối loạn chuyển hoá của bệnh thống phong dẫn tới tăng purin huyết vẫn còn chưa biết rõ; và ngay cả những yếu tố làm tủa urat trong tổ chức cũng chưa biết nhiều.

THƯ VIỆN HUBT

Trong bệnh thống phong, lượng acid uric tăng tới 6-15mg/100ml huyết thanh (bình thường dưới 5mg/100ml). Ở phụ nữ lượng này trung bình thấp hơn 20%. Những cơn thống phong cấp thường xảy ra rất bất ngờ, ngay khi người khoẻ hoàn toàn (thường xảy ra ban đêm, trong khi mơ ngủ). Diễn biến cơn bệnh kéo dài tới hai tuần, sau đó sẽ khỏi. Bệnh thống phong mạn tính có đặc điểm là xương bị biến đổi dần dần do tích đọng urat ở các vùng khớp (xem phần sau).

Ở một số động vật có vú, acid uric bị oxy hoá tiếp tục (chủ yếu ở gan) nhờ enzym uricase (enzym này cũng còn tìm thấy ở thận, lá lách của động vật có vú) để tạo thành alantoin. Ở cá, alatoin tiếp tục thoái hoá thành acid alantoic rồi thành urê (hình 10.9 và 10.10). Ở một số động vật không xương sống, urê tiếp tục bị phân huỷ thành CO_2 và NH_3.



Hình 10.9. Sự thoái hoá của acid uric

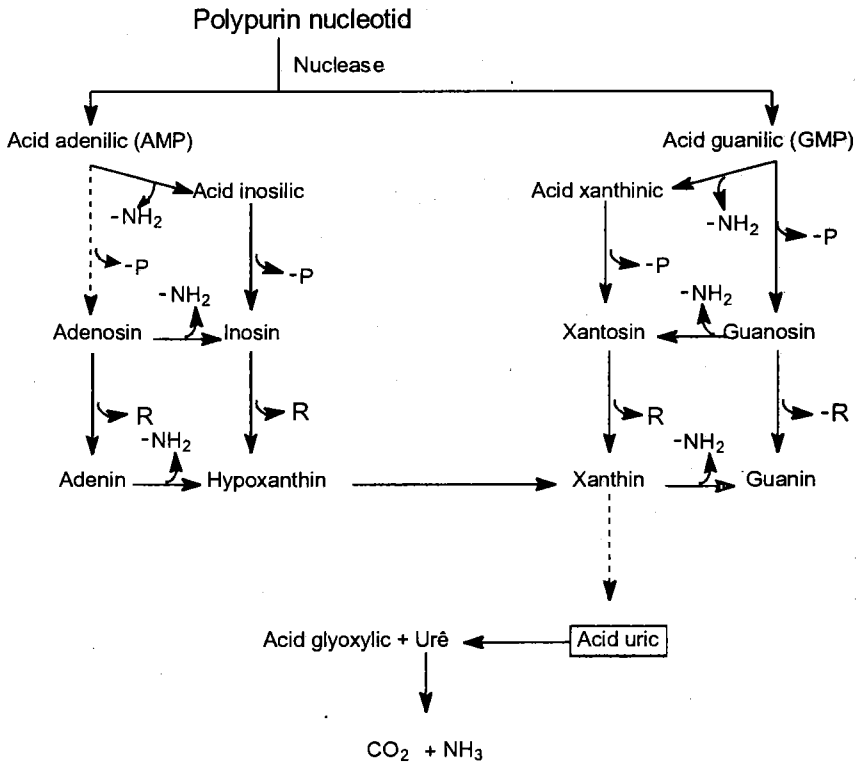
2.1.4. Thoái hoá của base pyrimidin

Thoái hoá của base pyrimidin xảy ra chủ yếu ở gan, chưa được biết rõ ràng.

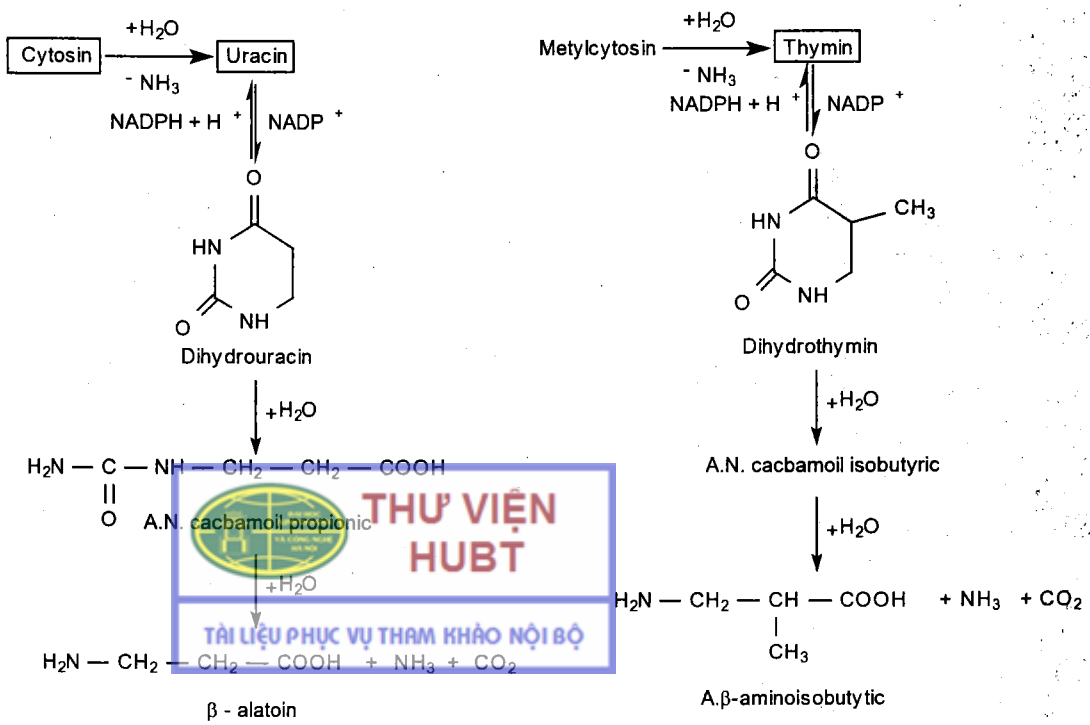
Ở mô động vật và ở một số vi khuẩn, sự biến đổi của uracin thực nghiệm đã chứng minh con đường phân giải chủ yếu của uracin (cũng như các base pyrimidin) ở động vật có thể xảy ra như sơ đồ hình 10.11.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU THAM KHẢO NỘI BỘ

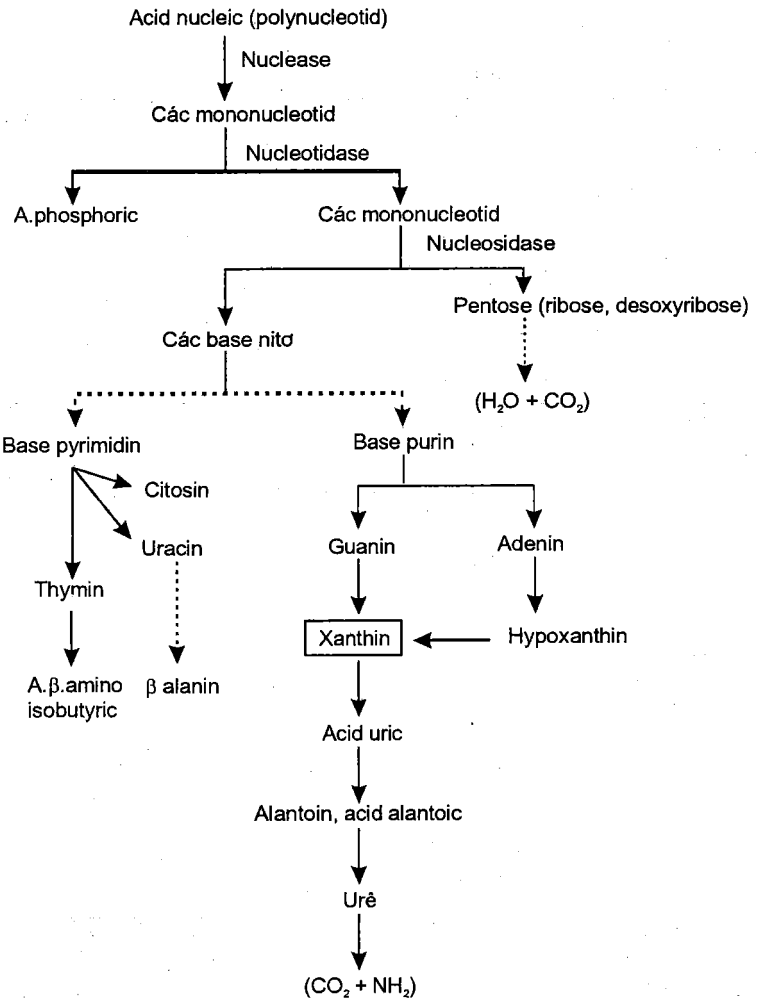
Theo dõi uracin ghi dấu ở chuột thực nghiệm, thấy trong nước tiểu có dihydrouracin, acid β - ureidopropionic và β - alanin ghi dấu. Ở người, có tài liệu cho rằng cả β - alanin và β - aminoisobutyric được chuyển hoá tiếp.



Hình 10.10. Thoái hoá base purin tạo thành acid uric ở người và kèm phản ứng khử nhóm amin tạo NH_3 tự do



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.12. Thoái hoá của acid nucleic và biến đổi tiếp theo của các base nitơ

2.2. *Tổng hợp acid nucleic*

2.2.1. Tổng hợp ADN - sự tái bản (replication) còn gọi là nhân bản hoặc tái tạo nhân đôi (reduplication)

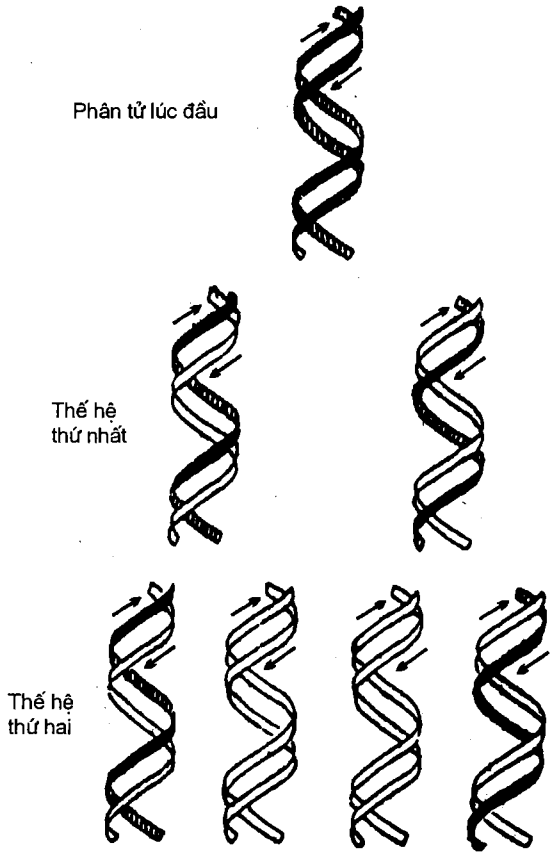
Sau khi đã nghiên cứu cấu trúc của ADN, vấn đề bây giờ là: bằng cách nào ADN được tái bản nhân lên thành những phân tử con?

a. Sự tái bản bán bảo tồn của ADN

Giả thuyết của Watson và Crick cho phép giải thích vì sao phân tử ADN con (F_1) mới được tổng hợp giống phân tử ADN mẹ (Fo). Trong quá trình tái bản, mỗi sợi của ADN mẹ được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi bổ sung. Như vậy, mỗi phân tử ADN mẹ sẽ tạo ra hai phân tử ADN con gồm hai sợi, một trong hai sợi này là sợi của phân tử ADN mẹ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cách tái bản này được gọi là tái bản bán bảo tồn (replication semiconservative). Sự tái bản bán bảo tồn được chứng minh bằng thực nghiệm của Meselson và Stahl (1958):



Hình 10.13. Minh họa nguyên lý tái bản bán bảo tồn ADN (Theo Meselson và Stahl)

Sau khi nuôi cấy vi khuẩn E.coli ở môi trường chỉ có nguồn nitơ là NH_4Cl có nitơ ghi dấu N^{15} thì tất cả ADN của vi khuẩn sẽ trở thành ghi dấu N^{15}. Sau đó các vi khuẩn được nuôi cấy ở môi trường không có ghi dấu thì AND chiết xuất từ vi khuẩn thế hệ thứ nhất có tỷ trọng trung gian giữa tỷ trọng của AND ghi dấu N^{15} và tỷ trọng không ghi dấu. Sang thế hệ thứ hai, ngoài ADN trung gian (50% của tổng số ADN), xuất hiện ADN nhẹ (50% của tổng số ADN) (hình 10.13).

Kết quả thí nghiệm trên khẳng định giả thuyết tái bản bán bảo tồn ADN. Trong quá trình phân chia tế bào, các chuỗi của AND tách ra, mỗi chuỗi được dùng làm khuôn cho sự tổng hợp chuỗi bổ sung (theo "quy luật bổ sung đôi base A với T (hoặc U) và G với C").

b. Cơ chế tái bản

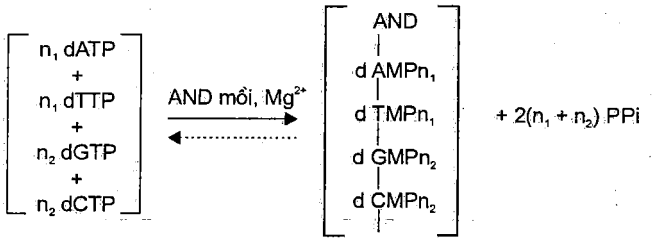
Mặc dù đã có nhiều tiến bộ về nghiên cứu tái bản ADN ở mức độ phân tử nhưng vẫn còn nhiều điểm chưa rõ ràng cần phải tiếp tục làm sáng tỏ.

Sự tổng hợp ADN được thực hiện nhờ xúc tác của ADN polymerase, của ADN ligase và exonuclease.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– ADN polymerase I (hình 10.14):

Năm 1958, A. Korberg đã chiết xuất từ E.coli một enzym gọi là AND-polymerase I xúc tác sự tổng hợp ADN từ các deoxyribonucleosid triphosphat với sự có mặt của ADN mồi theo phản ứng sau:



Phản ứng đòi hỏi sự có mặt trong môi trường đầy đủ cả 4 loại deoxyribonucleosid triphosphat, nếu thiếu một hoặc hai loại deoxyribonucleosid triphosphat thì sự tổng hợp ADN sẽ bị ngừng. Sự có mặt của ADN và ion Mg^{2+} cần thiết cho sự tổng hợp. ADN mồi có tác dụng mở đầu cho sự kéo dài chuỗi AND, ADN polymerase xúc tác sự gắn mononucleotid vào OH 3' của ADN mồi để kéo dài chuỗi ADN theo hướng 5'-3'. Phản ứng này không thuận nghịch vì pyrophosphat được giải phóng ra bị thuỷ phân bởi pyrophosphatase của tế bào.

Sau khi tiến hành thí nghiệm in vitro, tác dụng của ADN polymerase này được coi là enzym có tác dụng tái bản ADN in vivo.

Về sau người ta lại tìm thêm được 2 loại ADN polymerase khác: ADN polymerase II và III.

+ ADN polymerase II: enzym này chỉ có một hoạt tính bổ sung kéo dài chuỗi ADN theo chiều 3'-5'. Enzym này đòi hỏi nhất thiết phải có ADN làm khuôn mẫu.

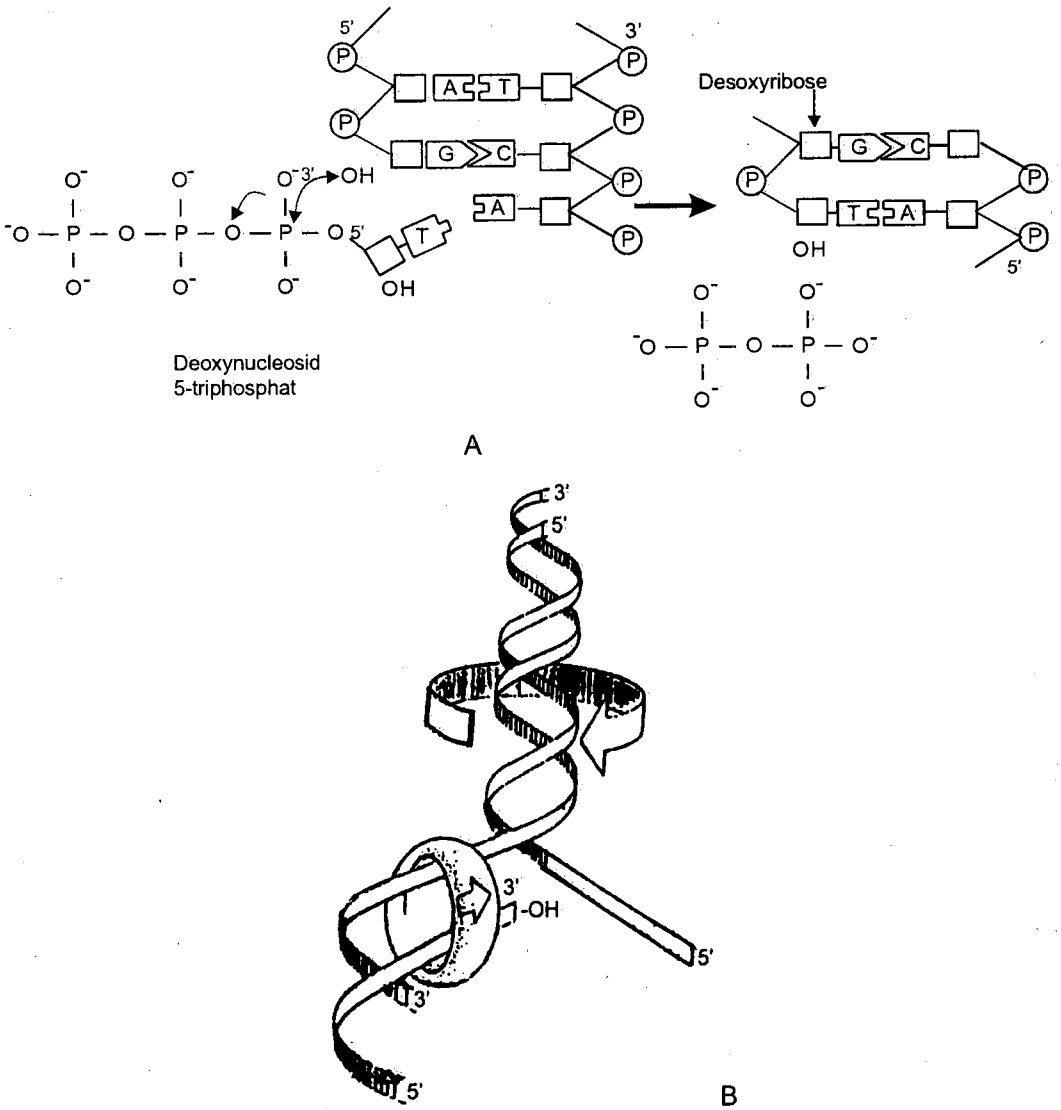
+ ADN polymerase III: được phát hiện năm 1972 bởi T. Korberg (con trai của A. Korkerg). Enzym này có hoạt tính mạnh nhất trong ba loại ADN polymerase, xúc tác sự kéo dài chuỗi ADN cả ở hai đầu và đòi hỏi phải có ADN làm khuôn như ADN polymerase II.

– ADN ligase: là enzym được tìm thấy từ E. coli, có tác dụng nối các sợi ADN. Enzym này xúc tác sự tổng hợp liên kết phosphodieste giữa đầu tận OH 3' của 1 chuỗi ADN với đầu tận monophosphat 5' của chuỗi ADN khác (với điều kiện chuỗi này sau khi nối lại phải là một sợi bổ sung hoàn chỉnh).

Tuỳ theo nguồn gốc của ADN ligase mà cần sự có mặt của NAD^+ hay ATP. Hai chất này có khả năng nhường một AMP. AMP này sẽ được cố định ở đầu mút của một trong những nhánh của ADN. Sau đó OH 3' sẽ chuyển nhóm adenilic để tạo thành liên kết phosphodieste nối hai nhánh ADN.

Cùng với hai enzym trên ADN ligese có thể tham gia sửa chữa ADN bị đứt hoặc tạo thành ADN vòng.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 10.14. Cơ chế tác dụng của ADN polymerase (A) và giả thuyết về cơ chế "quay" (B) mở xoắn

c. Những yếu tố khác tham gia tái bản

Muốn tổng hợp ADN xảy ra được thì hai sợi của phân tử xoắn kép ADN phải được tách rời ra. Trên bề mặt ở mọi nơi mà hai sợi bị tách ra (gọi là chạc ba tái bản) có sự tham gia của nhiều proteinderoulase (enzym mở xoắn), protein này đảm bảo sự tách hai sợi ADN. Phản ứng này cần ATP. Khu vực có một sợi được ổn định nhờ sự có mặt của một protein khác gắn vào ADN. Protein này cũng bảo vệ ADN không bị tác dụng bởi deoxyribonuclease. Sự tổng hợp ADN còn cần một "chất mồi".

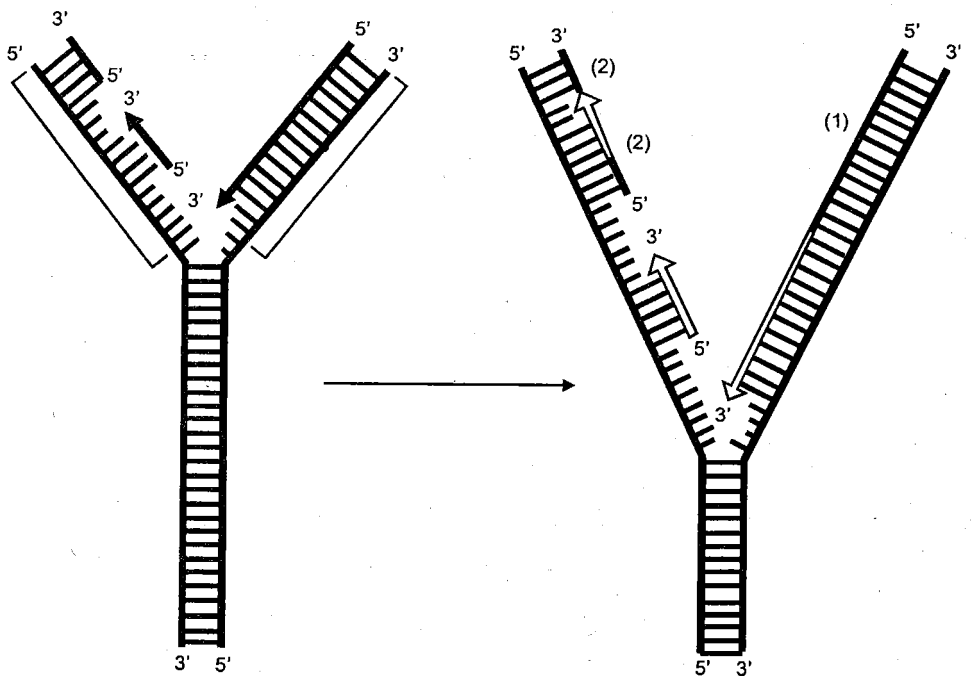
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Người ta đã chứng minh sự tái bản ADN được thực hiện sau khi có sự tạo thành một đoạn ARN bổ sung với một đoạn của ADN. Chất ARN mồi này được tổng hợp nhờ sự tham gia của một enzym gọi là primase. Tác dụng của

proteinenzym này tương tự như ARN polymerase phụ thuộc ADN. Chính đầu OH - 3' của đoạn ARN này sẽ là điểm bắt đầu hình thành chuỗi ADN mới.

d. Giả thuyết của sự tái bản ADN

Hình 10.15 là sơ đồ tái bản ADN dựa trên thực nghiệm tiến hành trên E.coli. ADN polymerase chỉ tổng hợp được ADN theo chiều 5'-3', nhưng ta biết rằng quá trình tái bản lại tạo ra trên hai sợi ngược chiều với nhau. Ở điểm khởi đầu, một trong hai sợi được tổng hợp theo chiều của chạc ba tái bản, sợi thứ hai bắt buộc được tổng hợp từng mẩu theo chiều ngược lại.



Hình 10.15. Tổng hợp ADN trên bề mặt chạc ba tái bản

(1) Sợi liên tục (2) Sợi không liên tục

e. Các giai đoạn của sự tái bản

Các giai đoạn của quá trình tái bản có thể được tóm tắt như sau:

– Nhận diện điểm bắt đầu: nhiều protein tham gia vào sự nhận diện điểm bắt đầu và giúp sự gắn primase, enzym này cần thiết cho sự tổng hợp ARN mồi.

– Mở vòng xoắn kéo ADN: deroulase (enzym mở xoắn) xúc tiến cho việc mở vòng xoắn của hai sợi ADN.

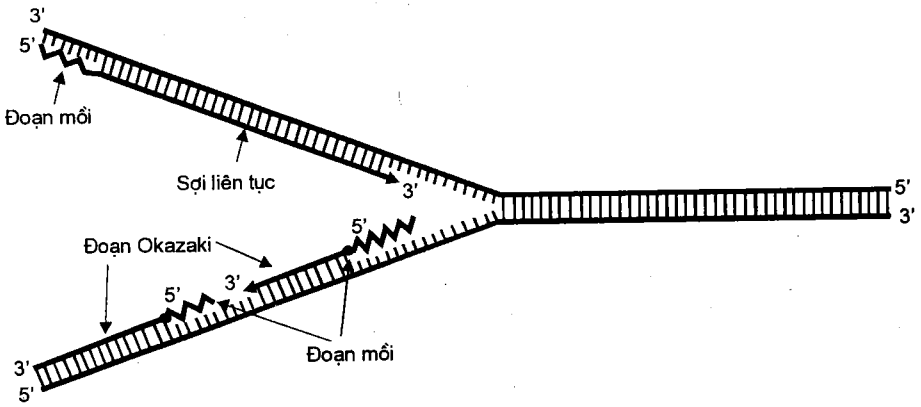
– Tạo thành ARN mồi, primase đã gắn trước vào điểm bắt đầu sẽ xúc tác tổng hợp mẩu ARN (gồm từ 50-100 ribonucleotid) bổ sung với sợi ADN.

– Tạo thành ADN: trong hai sợi ADN, một sợi được tái bản cùng hướng phát triển của chạc ba sẽ liên tục, còn sợi kia sẽ không liên tục. Sợi này gồm những đoạn từ 1000-2000 nucleotid gọi là đoạn Okazaki (tên nhà khoa học Nhật Bản). Mỗi đoạn đều được bắt đầu bằng một mẩu ARN mồi (hình 10.16).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Tách ARN mồi: các đoạn ARN mồi sẽ được tách ra bởi exonuclease

– Nối liền các đoạn Okazaki: sau khi ARN mồi bị tách ra nhờ enzym thuỷ phân và được thay thế bởi các gốc deoxyribonucleotid bổ sung với AND nhờ ADN polymerase I xúc tác, sau đó các đoạn Okazaki nối liền với nhau nhờ tác dụng của ADN ligase.



Hình 10.16. Quá trình tổng hợp chuỗi bổ sung ADN
(hướng kéo dài mạch polnuclyeotid và vai trò của đoạn mồi)

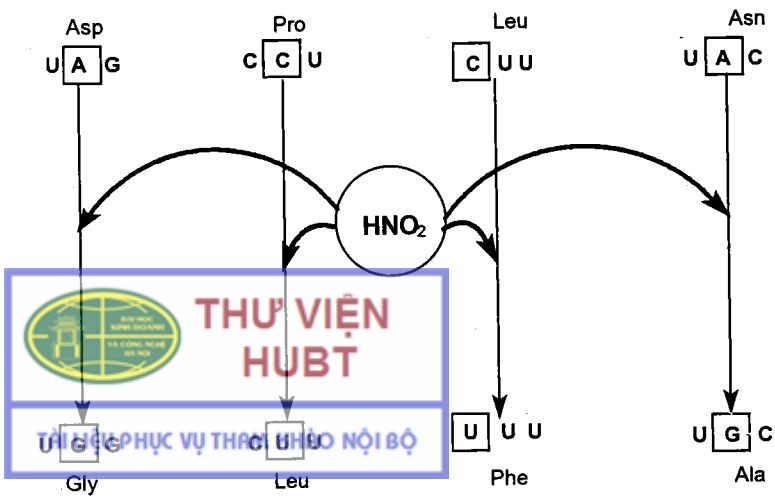
f. Các hoá chất tác động lên sự tái bản

Có nhiều hoá chất tác động làm sai lệch bộ ba mã. Thí dụ:

HNO_2 có thể tác dụng lên nhóm amin của purin và pyrimidin theo kiểu

$$R\text{-}NH_2 + HNO_2 \rightarrow R\text{-}OH + N_2 + H_2O$$

Làm cho adenin (A) trở thành guanin (G), dẫn đến bộ ba mã UAG (mã của Asp) trở thành UGG (mã hoá cho Gly) v.v... do đó mạch protein sau này bị sai lệch thành phần ở vị trí tương ứng và có thể gây đột biến (hình 10.17).



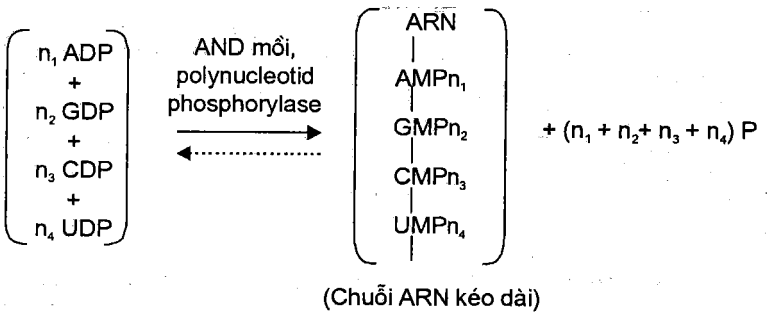
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.17. Khả năng gây đột biến gen (sai lệch bộ ba mã) của HNO_2

2.2.2. Tổng hợp ARN

Trong quá trình tổng hợp ARN, thông tin di truyền chứa trong ADN được chuyển sang ARN, do đó quá trình này trước kia được gọi là sự sao chép (transcrition), nay gọi đúng hơn là sự phiên mã. Một số enzym xúc tác tổng hợp in vivo ARN được biết hiện nay là:

– Polynucleotid phosphorylase: năm 1955, Grunberg - Manago và Ochoa đã chiết được từ *Azotobacter Vinelandi* enzym polynucleotid phospholylase. Đó là enzym đầu tiên được biết có thể tổng hợp polynucleotid. Enzym này xúc tác phản ứng tổng hợp ARN từ các nucloetid diphosphat với sự có mặt của ARN thiên nhiên làm mồi theo phản ứng sau:



(Chuỗi ARN kéo dài)

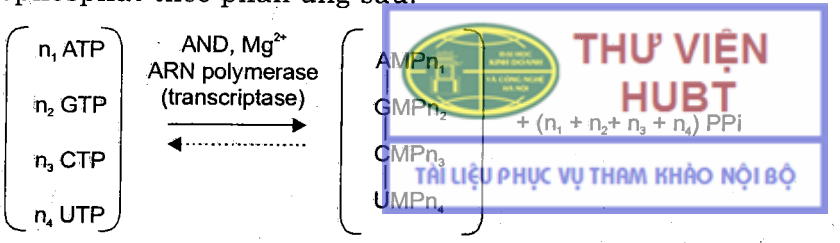
Enzym này đã được sử dụng để tổng hợp các polynucleotid trong những nghiên cứu đầu tiên về bộ ba mật mã (xem chương tổng hợp protein).

– ARN polymerase phụ thuộc ARN (replicase):

Ở virus có sự nhân đôi ARN: các ARN được tổng hợp dựa trên khuôn ARN dưới tác dụng của ARN polymerase (replicase). Đây cũng chính là sự nhân đôi ARN của virus trong tế bào chủ. Thời kỳ đầu của quá trình nhiễm có sự tổng hợp một sợi ARN (-) theo kiểu bổ sung với ARN (+) của virus để tạo ra chuỗi xoắn kép gồm một sợi ARN (-) và một sợi ARN (+), sau đó sợi ARN (-) làm khuôn để tổng hợp các sợi ARN (+) của virus.

– ARN polymerase phụ thuộc ADN (transciptase, nay thường gọi là enzym phiên mã):

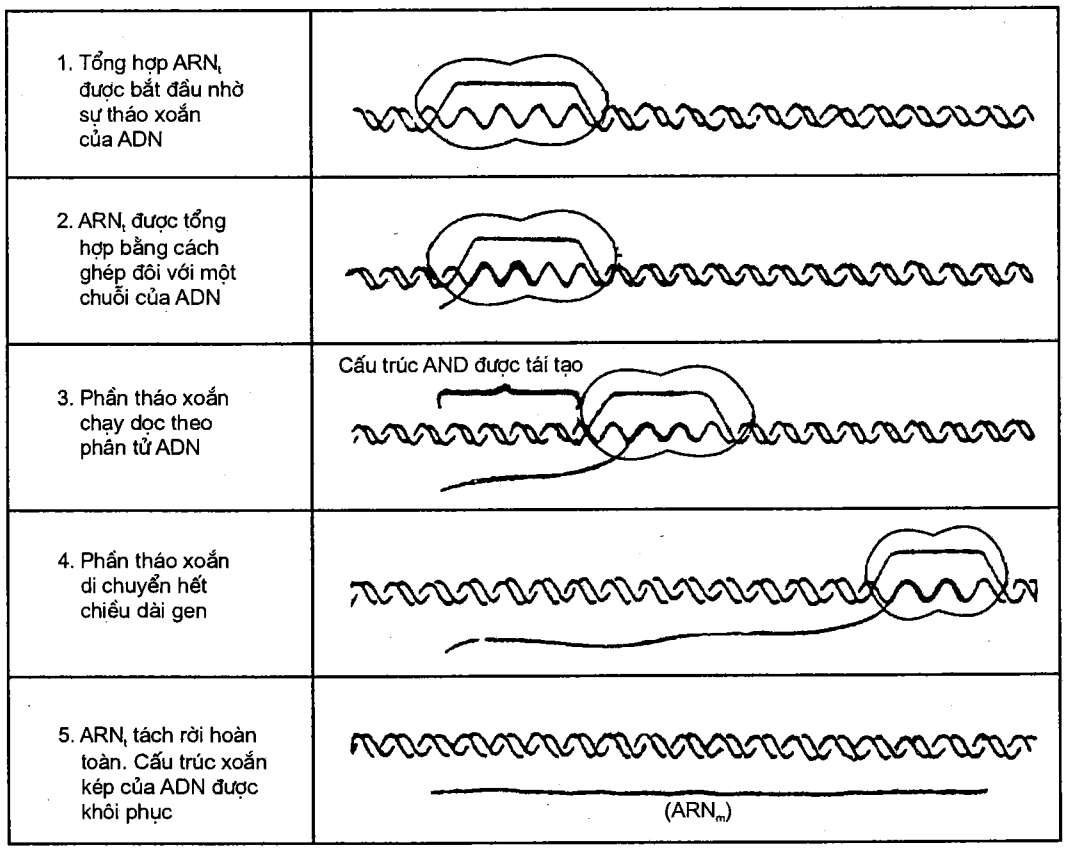
Năm 1959, Weis và cộng sự đã chiết xuất được một enzym từ gan chuột. Enzym này xúc tác phản ứng tạo thành các ARN: ARN ribosom (ARN_r), ARN vận chuyển (ARN_t và ARN thông tin (ARN_m) từ các ribonucleotid triphosphat, giải phóng các pyrophosphat theo phản ứng sau:



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phản ứng này cũng cần sự có mặt của chất mồi. Các base của chuỗi ARN tổng hợp được bổ sung với một trong hai chuỗi của ADN. ARN phát triển theo hướng 5'-3' như đối với ADN.

- Sự tổng hợp ARN trên khuôn ADN nhờ ARN polymerase được mô tả như sau:



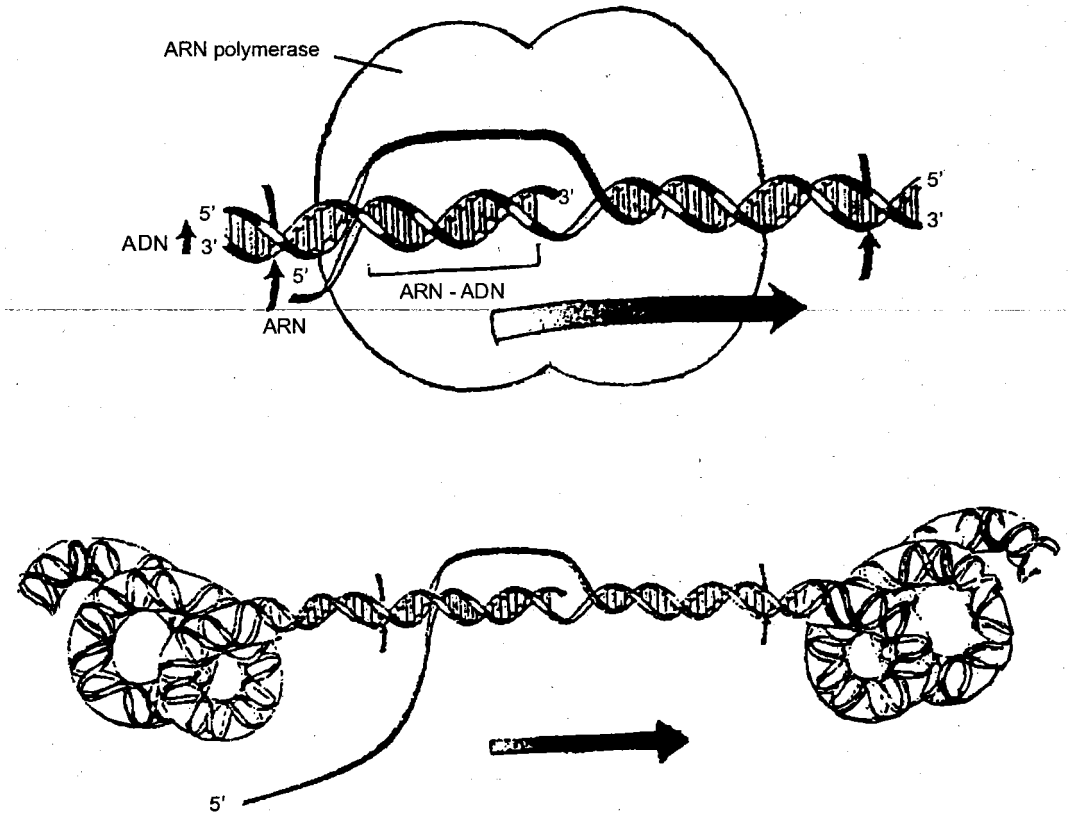
Hình 10.18. Tóm tắt 5 giai đoạn của quá trình phiên mã tạo ra ARN_m

E.coli chỉ có một enzym ARN polymerase phụ thuộc ADN. Enzym này không những tổng hợp được ARN_m mà cả ARN_r và ARN_t. Đó là một enzym phức tạp có trọng lượng phân tử lớn (500.000), chứa 5 tiểu đơn vị là: hai chuỗi α, một chuỗi β, một chuỗi β' và một chuỗi δ (sigma).

Giai đoạn đầu của sự sao chép là sự liên kết của enzym với một vị trí đặc biệt của ADN gọi là vị trí khởi động (site promotuer), vị trí này là một đoạn ngắn của ADN mà ở đó được gắn với ARN polymerase. Sau đó ARN polymerase di chuyển theo chiều 5'-3' tới điểm khởi đầu, từ đó bắt đầu quá trình sao chép. Sau khi khởi đầu, tiểu đơn vị sigma tách ra khỏi enzym. Phần enzym còn lại tiếp tục quá trình sao chép, kéo dài chuỗi ARN cho tới khi có dấu hiệu kết thúc. Để kết thúc sự tạo thành ARN cần có yếu tố ρ (rô). Khi có mặt của yếu tố "rô", ARN polymerase cũng tách khỏi ADN, quá trình sao chép kết thúc.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO

2.3. Rối loạn chuyển hoá acid nucleic



Hình 10.19. Mô tả tạo mạch kép lại ADN - ARN trong quá trình phiên mã (sinh tổng hợp ARN trên khuôn mẫu của AND)

Bệnh Goutte (còn được gọi là bệnh thống phong) được xem như bệnh của sự rối loạn acid nucleic. Trong bệnh Goutte, nồng độ acid trong máu và trong nước tiểu đều tăng. Người ta cho rằng trong bệnh Goutte, cùng với sự tăng nồng độ acid uric trong máu còn có sự lắng đọng urat trong một số tổ chức. Thường có sự tích tụ urat tinh thể ở sụn, bao gân, túi nhày ở các khớp, đôi khi cả ở trong thận, da và cơ. Xung quanh chỗ ứ đọng urat kết tinh là tổ chức viêm, hình thành tổ chức hạt bao quanh các mô; bằng cách đó tạo thành các hạt Goutte to nhỏ khác nhau; thường gặp ở các khớp ngón chân, ngón tay, sụn loa tai, gây viêm khớp mạn tính và biến dạng khớp. Thường các bệnh nhân Goutte có khuynh hướng bị xơ cứng động mạch, tăng huyết áp.

THƯ VIỆN HUBT

Người ta cho rằng trong bệnh Goutte, ở một số trường hợp thấy có sự giảm lượng enzym hypoxanthin - guanin phosphoribosyl transferase (xem phần tổng hợp base purin). Enzym này giảm, hypoxanthin và guanin không tham gia vào sự tổng hợp thành các nucleotid tương ứng. Các hypoxanthin và guanin sẽ thoái hoá tạo thành acid uric. Đó là nguyên nhân làm tăng acid uric trong máu.

ACTH và cortison làm tăng sự bài xuất acid uric ra nước tiểu nên cũng được dùng để điều trị bệnh Goutte.

3. Thuỷ phân protein trong quá trình tiêu hoá protid

Protein của thức ăn (ngoại sinh) hoặc protein của các mô (nội sinh) đều có tính đặc hiệu cao. Muốn tiêu hoá và hấp thụ được protein ngoại sinh hoặc protein nội sinh muốn đi vào chuyển hoá, trước hết protein phải được phân giải thành các acid amin tự do.

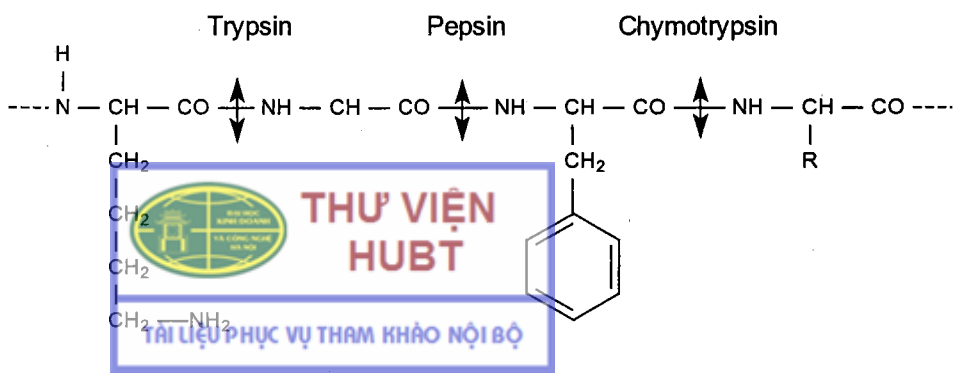
Quá trình tiêu hoá thức ăn là quá trình thuỷ phân các liên kết peptid, làm mất tính đặc hiệu của các protein có nguồn gốc khác nhau, nhờ các enzym thuỷ phân protein tiết ra từ ống tiêu hoá. Các enzym này có tính đặc hiệu, phụ thuộc vào vị trí các liên kết peptid và bản chất của các gốc R của các acid amin tham gia vào liên kết đó. Muốn thuỷ phân nhanh và hoàn toàn một protein cần có sự tham gia của nhiều enzym. Các enzym này lần lượt tác động vào chuỗi polypeptid ở nhiều điểm. Người ta phân biệt hai loại: endopeptidase và exopeptidase.

3.1. Endopeptidase

Endopeptidase là các enzym xúc tác sự thuỷ phân các liên kết peptid trong chuỗi polypeptid. Các endopeptidase ở ống tiêu hoá như sau:

– *Pepsin:* được tiết ra từ các tế bào chính của niêm mạc dạ dày dưới dạng tiền enzym (chưa hoạt động), gọi là pepsinogen. Trong môi trường với quá trình tự xúc tác (dưới tác dụng của pepsin), pepsinogen chuyển thành thành pepsin hoạt động. Enzym này hoạt động ở pH acid, pH thích hợp là 1-2, thuỷ phân các liên kết peptid có nhóm amin (-NH-) thuộc về các acid amin thơm (phenylalamin, tyrosin). Pepsin cắt phân tử protein thành các proteose và pepton, đó là những mảnh protein có trọng lượng phân tử còn khá lớn.

– *Trypsin:* có ở dịch tụy, được tiết ra dưới dạng tiền enzym (trypsinogen). Do tác dụng của một enzym thuỷ phân khác là enterokinase hoặc tự xúc tác, trysin hoạt động ở pH=8, thuỷ phân các protein tự nhiên, các mảnh proteose và cả các pepsin từ dạ dày xuống, cắt các liên kết peptid có nhóm carboxyl (-CO-) thuộc về các acid amin kiềm (arginin, lysin) (xem hình 10.20).



Hình 10.20. Vị trí xúc tác của các endopeptidase

– *Chymotrypsin:* cũng được tiết ra dưới dạng chưa hoạt động là chymotrypsinogen. Chymotrypsinogen chuyển thành chymotrypsin hoạt động dưới tác dụng của trypsin. Chymotrypsin hoạt động ở pH=8, cắt các liên kết peptid có nhóm carboxyl của các acid amin thơm.

3.2. Exopeptidase

Là các enzym xúc tác sự thuỷ phân các liên kết peptid nằm ở hai đầu của chuỗi polypeptid. Các polypeptid, sản phẩm của sự tiêu hoá protein, dưới tác dụng của các endopeptidase kể trên lại tiếp tục chịu tác dụng của các exopeptidase sau đây:

– Carboxylpeptidase của dịch ruột: hoạt động trong môi trường kiềm, thuỷ phân liên kết peptid sát đầu tận cùng nơi có nhóm carboxyl tự do của chuỗi polypeptid, giải phóng các acid amin tự do.

– Aminopeptidase của dịch ruột, hoạt động ở môi trường kiềm, thuỷ phân liên kết peptid tận cùng có nhóm amin đầu, giải phóng các acid amin tự do.

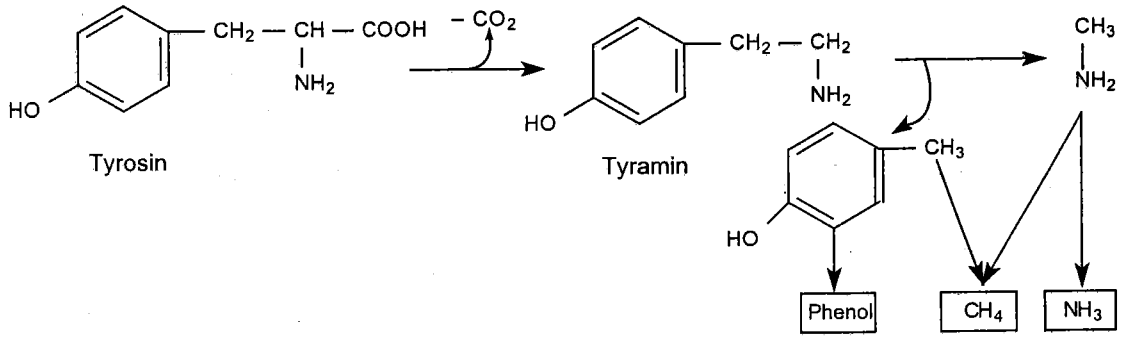
– Dipeptidase của dịch ruột, thuỷ phân các dipeptid, giải phóng các acid amin tự do.

Trong những điều kiện bình thường, nhờ sự phối hợp của các enzym tiêu hoá kể trên, các protein thức ăn hầu như được thuỷ phân hoàn toàn thành các acid amin. Các acid amin này nhanh chóng được hấp thụ qua niêm mạc ruột (chủ yếu là ruột non) vào tĩnh mạch cửa. Một số mảnh peptid nhỏ như dipeptid chưa được tiêu hoá trong lòng ruột có thể được tiếp tục thuỷ phân hoàn toàn trong thành ruột. Ở ruột hai dạng đồng phân của acid amin có khác nhau: đồng phân tự nhiên dạng L được vận chuyển tích cực qua thành ruột vào máu. Quá trình vận chuyển tích cực acid amin cần năng lượng do ATP cung cấp và có sự tham gia của pyridoxal phosphat. Trái lại, đồng phân dạng D chỉ được vận chuyển bằng cách khuyếch tán tự do. Có hiện tượng cạnh tranh hấp thu khi ăn một nhóm nhiều acid amin. Một acid amin ăn vào quá thừa có thể làm chậm sự hấp thu của một acid amin khác.

Một ít acid amin và "cặn bã" của protid thức ăn không hấp thu hết bị đẩy xuống ruột già. Ở đó do tác dụng của enzym vi khuẩn ruột, các acid amin bị phân huỷ thành sản phẩm thoái hoá (nhiều sản phẩm có độc tính như H_2S, NH_4^+, CH_4, phenol...) thải ra ngoài theo phân.

Thí dụ: tyrosin có thể bị các enzym của vi khuẩn phân huỷ ở ruột già thành phenol, metan và amoniac.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Những acid amin chứa nhóm -SH, khi bị phân huỷ bởi enzym vi khuẩn, tạo ra H_2S ở ruột già.

Một phần những độc chất này có thể tái hấp thu vào cơ thể gây ngộ độc. Cần nhớ rằng những vi khuẩn ở ruột có thể giúp cơ thể tổng hợp được một số vitamin. Vì vậy, khi dùng kháng sinh diệt khuẩn, cần dùng phối hợp một số vitamin.

3.3. Hệ enzym catepsin và hiện tượng tự tiêu

Sự hiểu biết về vai trò của các enzym thuỷ phân protein trong các tế bào sống còn quá ít, mặc dù ở một số mô, đặc biệt là gan, quá trình này xảy ra rất mạnh. Người ta biết lysosom của tế bào chứa các enzym, trong đó có các enzym thuỷ phân protein gọi là *catepsin*. Khi màng lipoprotein của lysosom còn nguyên vẹn, các enzym này được giữ ở trong đó. Trong trường hợp màng lypoprotein của lysosom bị phá vỡ, các enzym của lysosom giải phóng vào bào tương, thuỷ phân protein của tế bào và phá huỷ tế bào. Sự có mặt của các enzym này trong tế bào giải thích hiện tượng tự tiêu của tế bào khi tế bào chết.

4. Chuyển hoá acid amin

Acid amin là đơn vị cấu tạo các phân tử protein, là tiền chất của nhiều phân tử sinh học quan trọng khác của cơ thể như các base purin, base pyrimidin, porphyrin, một số hormon, một số vitamin... Ngoài ra, acid amin còn là nguồn năng lượng khi ăn quá thừa so với nhu cầu thay thế của cơ thể.

Trong cơ thể, các acid amin có từ hai nguồn: ngoại sinh do protein của thức ăn và nội sinh do phân giải protein của bản thân cơ thể. Các acid amin này có thể bị thoái hoá, đồng thời cũng được sử dụng để tổng hợp trở lại các protein và các chất khác trong cơ thể. Sự phân giải protein ở các mô và sự tổng hợp trở lại các protein này là quá trình thay cũ đổi mới, xảy ra một cách liên tục trong cơ thể sống. Bằng thí nghiệm dùng chất đồng vị, người ta thấy ở một người 70kg, ăn chế độ trung bình, thì hàng ngày có khoảng 400g protein của cơ thể bị phân giải. Khoảng 1/4 lượng protein này bị oxy hoá hoặc chuyển thành glucid và được thay thế bằng protein tân tổng hợp, 3/4 số acid amin của protein này được sử dụng trở lại.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sau khi các acid amin bị thoái hoá, nhóm amin ($-NH_2$) của chúng được đào thải chủ yếu theo nước tiểu dưới dạng của hợp chất có nitơ, phần lớn là urê. Dù không ăn protein, hàng ngày cơ thể cũng phải đào thải một lượng nitơ nhất định theo nước tiểu và mồ hôi tương ứng với lượng protein nội sinh bị thoái hoá.

4.1. Thoái hoá acid amin

4.1.1. Các con đường thoái hoá chung của acid amin

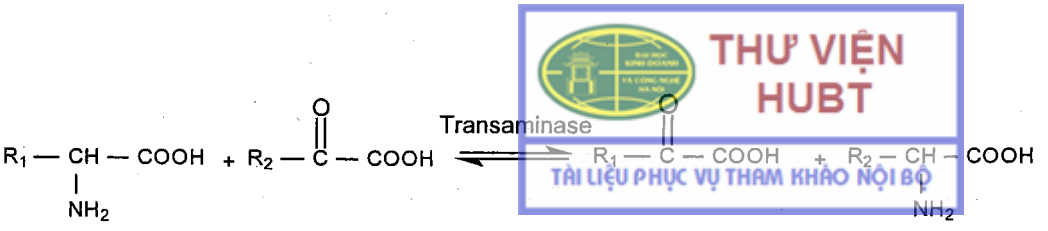
Các acid amin có nguồn gốc ngoại sinh hoặc nội sinh khi không được các mô sử dụng hết để tổng hợp protein và một số chất khác thì có thể bị thoái hoá. Những con đường thoái hoá của acid amin không thuận nghịch với con đường tổng hợp, mặc dù có những giai đoạn chung cho cả hai con đường này. Mỗi acid amin có con đường thoái hoá riêng và có một hệ thống enzym tham gia vào mỗi con đường đó. Các con đường thoái hoá của các acid amin thường dài và phức tạp tạo ra một số chất trung gian có chức năng đối với tế bào, đặc biệt là tạo ra các tiền chất cho các thành phần của tế bào. Phần lớn các acid amin đều mở đầu thoái hoá theo cách loại nhóm amin. Có hai con đường chính để loại nhóm amin ra khỏi acid amin là trao đổi amin và khử amin oxy hoá. Một số acid amin thoái hoá theo con đường khử carboxyl trước.

Ở động vật có xương sống, sự thoái hoá acid amin chủ yếu xảy ra ở gan. Quá trình này cũng xảy ra mạnh ở thận. Ở đa số vi khuẩn, thường quá trình tổng hợp acid amin mạnh hơn là quá trình thoái hoá, đặc biệt trong quá trình sinh trưởng nhanh chóng của chúng.

- *Phản ứng trao đổi amin:*

Phần lớn acid amin (nhất là những acid amin như: alanin, arginin, aspartat, cystein, isoleucin, leucin, lysin, phenylalanin, tyrosin, tryptophan và valin) loại nhóm amin bằng cách trao đổi amin. Trong các phản ứng trao đổi amin, nhóm α-amin của acid amin được chuyển đến nguyên tử carbon α của một acid α-cetonic khác, thường gặp là acid α-cetoglutaric. Mất nhóm amin, acid amin chuyển thành acid α-cetonic tương ứng, còn acid α-cetoglutaric nhận nhóm amin trở thành acid glutamic. Enzym xúc tác cho các phản ứng trao đổi amin là amino transferase hay còn gọi là transaminase, có coenzym là pyridoxal phosphat (dạng phosphat của vitamin B_6).

Phản ứng trao đổi amin thuận nghịch, có hằng số cân bằng gần bằng 1, dễ xảy ra ở cả hai chiều, do đó có transaminase có cả 2 chức năng thoái hoá và tổng hợp acid amin.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

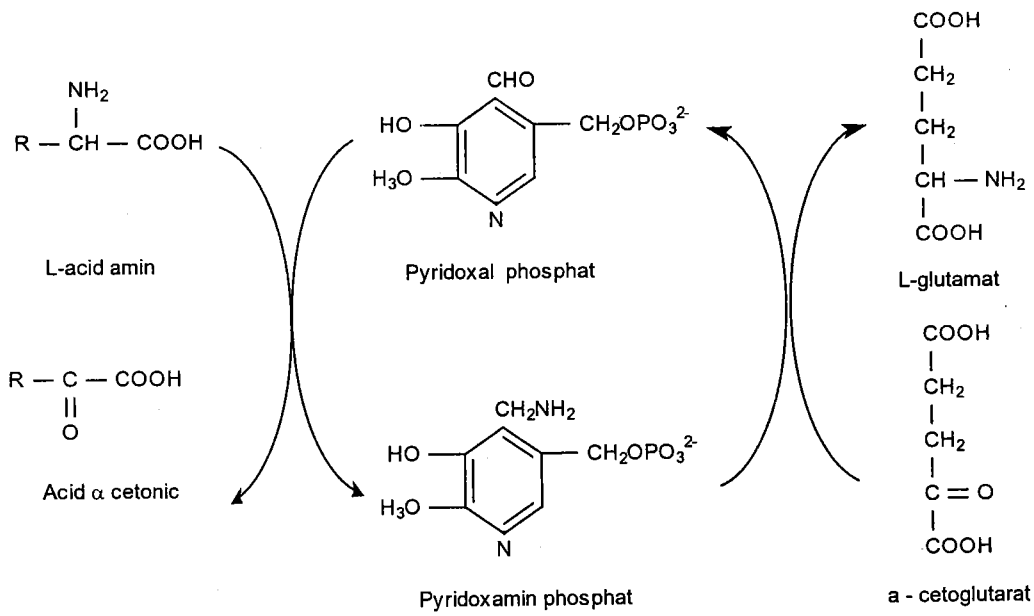
Người ta đã biết nhiều transaminase, đa số cần α-cetoglutarat làm chất nhận nhóm amin. Phổ biến là 2 phản ứng:

– Acid L-glutamic + acid oxaloacetic → Acid α-cetoglutaric + Acid L-aspactic.

– Acid L-glutamic + Acid piruvic → Acid α-cetoglutaric + Alanin.

Đặc điểm của loại phản ứng này là không tạo ra nhóm amin tự do dạng NH_3 (hoặc NH_4^+).

Các transaminase này có tên chung là glutamat transaminase, xúc tác phản ứng trao đổi amin từ các acid amin đến α-cetoglutarat để tạo glutamat.



Hình 10.21. Phản ứng trao đổi amin xúc tác bởi transaminase (coenzym là pyridoxal phosphat)

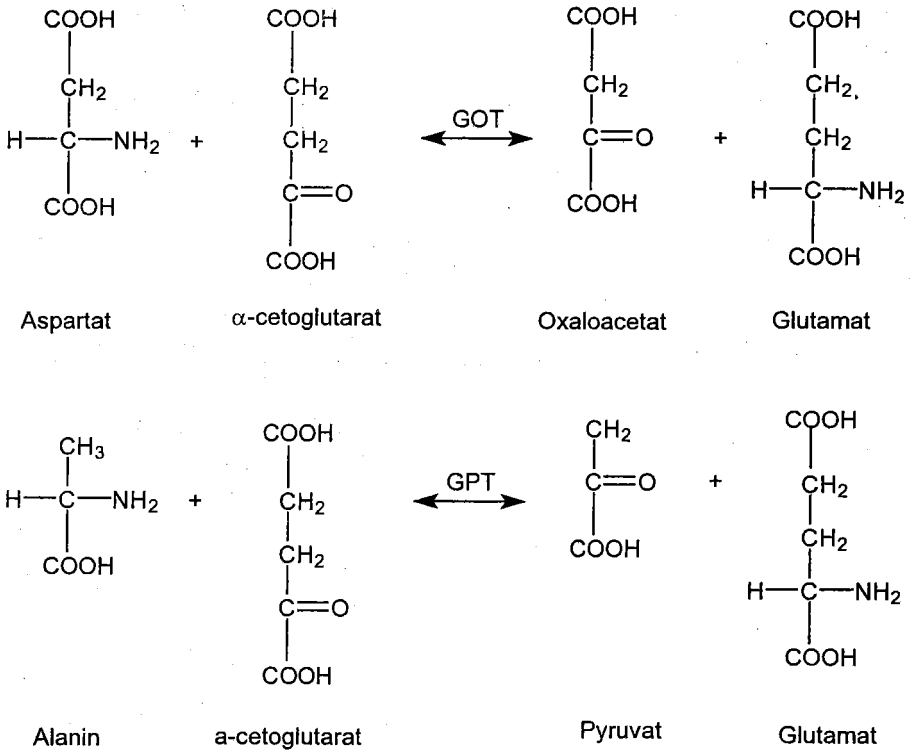
Glutamat transaminase

↓

Acid α-amin + α-cetoglutarat ⟶ Acid α-cetonic + Glutamat

Các transaminase phổ biến và hoạt động mạnh trong các mô động vật là glutamat oxaloacetat transaminase (GOT) và glutamat pyruvat transaminase (GPT) (hình 10.22). GOT còn có tên là aspartat transaminase và glutarat pyruvat transaminase (GPT) còn gọi là alanin transaminase, gọi theo tên của acid amin cho gốc amin (-NH_2).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.22. Phản ứng trao đổi amin xúc tác bởi GOT và GPT

Ngoài ra, cũng có những transaminase khác, ví dụ: leucin transaminase, tyrosin transaminase mà chất nhận nhóm amin cũng là α-cetoglutarat, v.v. .

Như vậy, từ phản ứng trao đổi amin nhờ transaminase mà cuối cùng nhóm amin của phần lớn acid amin được tập trung lại trong glutamat qua trung gian nhận amin là α-cetoglutarat, không tạo ra NH_3 tự do trong quá trình phản ứng.

Các transaminase có ở bào tương và cả trong ty thể của tế bào.

- *Phản ứng khử amin oxy hoá:*

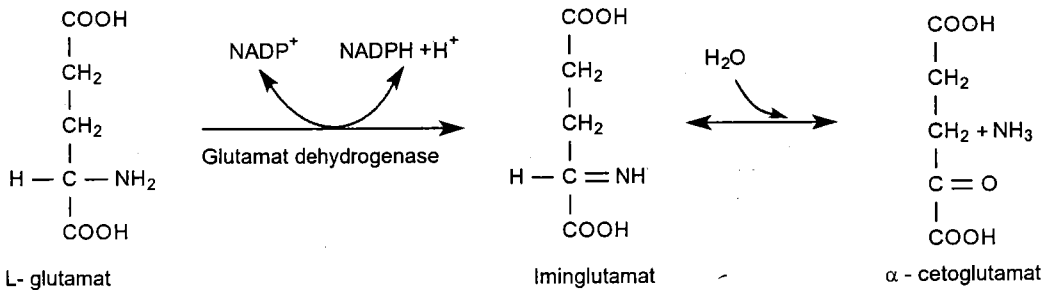
Khử amin là quá trình tách nhóm amin ra khỏi phân tử acid amin dưới dạng NH_3. Có nhiều quá trình khử amin của acid amin, nhưng phổ biến nhất trong cơ thể động vật là quá trình khử amin oxy hoá. Quá trình này gồm hai giai đoạn:

1. Oxy hoá amin của acid amin.

2. Thuỷ phân tự phát acid amin tạo acid α-cetonic và NH_3 tự do.

THƯ VIỆN HUBT

– Với L-glutamat: glutamat được tạo thành do quá trình trao đổi amin, có thể được nhanh chóng khử amin oxy hoá nhờ glutamat dehydrogenase có coenzym là NAD^+ hoặc $NADP^+$, nhưng NAD^+ chiếm ưu thế. Enzym này có hoạt tính cao; có ở bào tương, ty thể của tế bào gan và phổ biến trong các mô của động vật có vú (L.glutamat dehydrogenase của gan bò có trọng lượng phân tử là 336000, chứa 6 tiểu đơn vị giống nhau. Người ta biết thứ tự acid amin của các chuỗi polypeptid của các enzym trên).

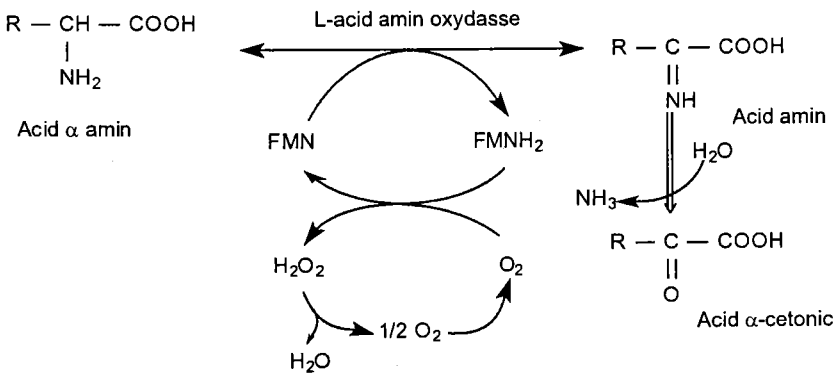


Hình 10.23. Hai giai đoạn phản ứng khử amin oxy hoá (coenzym là $NADP^+$)

NADPH tạo thành sẽ được oxy hoá trong chuỗi hô hấp tế bào. Vì nhóm amin của phần lớn các acid amin, qua phản ứng trao đổi amin, cuối cùng được tập trung lại trong glutamat; và vì trong hầu hết các sinh vật, glutamat là acid amin duy nhất khử được amin oxy hoá với tốc độ khá cao nên glutamat dehydrogenase có vai trò trung tâm trong việc khử amin của acid amin.

Phản ứng trên là thuận nghịch, vì vậy nó có vai trò trong cả hai quá trình thoái hoá và tổng hợp glutamat, nghĩa là phản ứng này không những cung cấp NH_3 từ glutamat cho tổng hợp urê (thoái hoá) mà còn có khả năng sử dụng NH_3 tự do để amin hoá α-cetoglutamat (tổng hợp).

– Với các L-acid amin khác: enzym xúc tác quá trình khử amin oxy hoá là L-acid amin oxydase có coenzym là FMN.



Hình 10.24. Hai giai đoạn phản ứng khử amin oxy hoá (coenzym là FMN)

$FMNH_2$ tạo thành sẽ phản ứng trực tiếp với oxy phân tử tạo peroxyhydro (H_2O_2), không có sự tham gia của cytocrom hoặc các electron khác. H_2O_2 độc đối với cơ thể, bị catalase (một enzym có phổ biến trong các mô, đặc biệt là gan) phân tách thành H_2O và oxy. Các L-acid amin oxydase có ở lưới nội bào của gan và thận, có hoạt tính rất thấp nên không có vai trò quan trọng trong phản ứng khử nhóm amin.

THƯ VIỆN HUBT
THƯ VIỆN HỌC VỤ TRƯỜNG ĐẠI HỌC KINH DOANH VÀ CÔNG NGHỆ HÀ NỘI

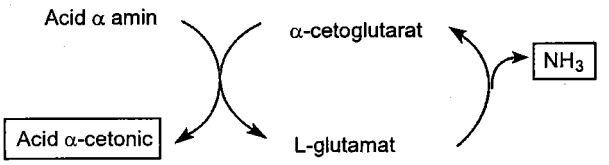
Hai quá trình trao đổi và khử nhóm amin có liên quan chặt chẽ với nhau vì những lý do sau:

– Phần lớn các acid amin dễ trao đổi amin vì hoạt tính của các transaminase cao. Nhóm amin của các acid amin này qua phản ứng trao đổi amin đã tập trung lại trong glutamat.

– Glutamat là acid amin được khử amin oxy hoá với tốc độ khá cao, vì hoạt tính của glutamat dehydrogenase mạnh.

Nhờ đó đa số acid amin được khử amin oxy hoá gián tiếp (qua hệ thống trao đổi amin với α-cetoglutamat nhờ glutamat transaminase) và khử amin oxy nhờ glutamat dehydrogenase.

Kết quả của sự phối hợp giữa hai quá trình trao đổi và khử amin, nhóm amin của acid amin tách ra dưới dạng NH_3 tự do, phần còn lại là acid α-cetonic.



Hình 10.25. Kết quả trao đổi amin phối hợp với khử amin tạo ra NH_3 và acid α-cetonic

- *Phản ứng khử carboxyl:*

Quá trình khử carboxyl của acid amin được thực hiện tương đối dễ dàng trong các mô động vật và thực vật, đặc biệt rất phổ biến ở các vi sinh, tạo các amin tương ứng. Enzym xúc tác cho quá trình này là decarboxylase có coenzym pyridoxal phosphat.

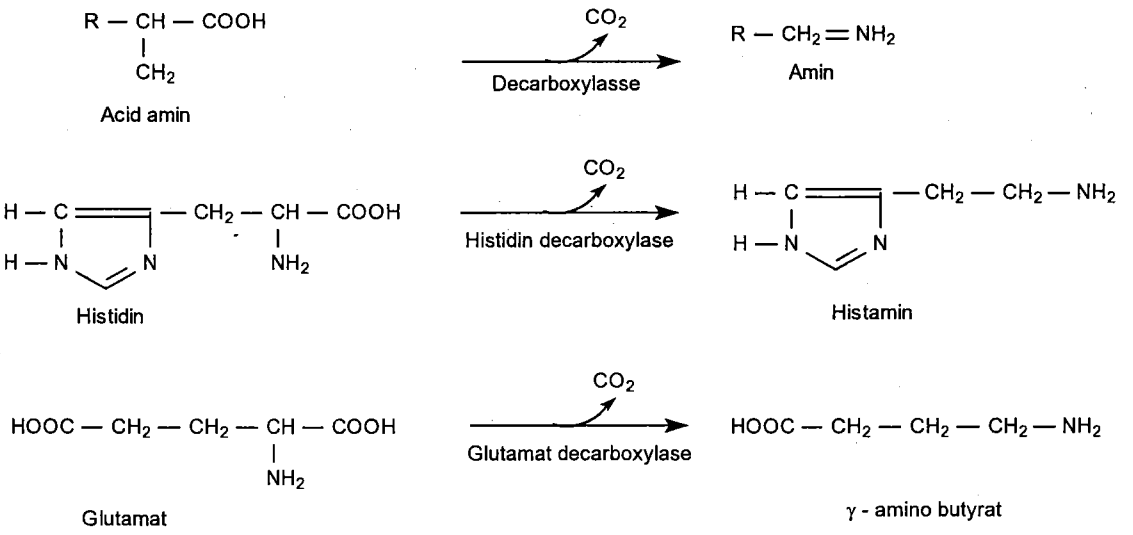
Các enzym này đặc hiệu cho từng acid amin riêng biệt. Ở các mô động vật một số ít acid amin thoái hoá theo cách này.

Một số amin sản phẩm của quá trình khử carboxyl của acid amin có vai trò sinh học đặc biệt.

Ví dụ: dưới tác dụng của histidin decarboxylase (enzym có hầu hết ở mọi tế bào) histidin bị khử carboxyl tạo histadin. Chất này có tác dụng giãn mạch, co cơ trơn và tăng tính thấm của thành mạch. Ở não có một decarboxylase hoạt động mạnh, khử carboxyl của glutamat tạo γ - amino butyrat là chất có tác dụng điều hoà hoạt động thần kinh (một số thí nghiệm cho thấy: có thể có tác dụng ức chế phản xạ thần kinh).

– Tryptamin và serotonin được tạo thành khi loại carboxyl của tryptophan. Serotonin có vai trò điều khiển thần kinh thể dịch: ở người nó gây co mạch mạnh; ở động vật có vú: nó làm rối loạn hoạt động của hệ thần kinh trung ương.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.26. Phản ứng khử carboxyl của acid amin (histidin và glutamat)

– Một số polyamin:

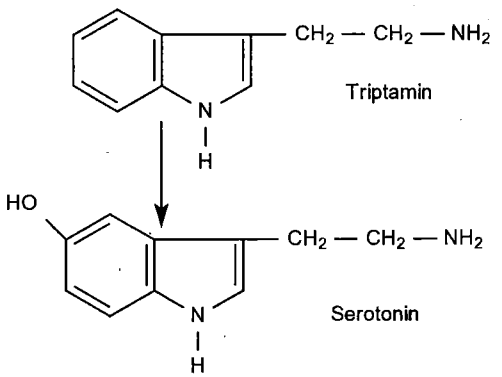
Sự loại carboxyl của lysin, arginin và ornitin sẽ tạo thành cadaverin, agmatin và putretxin, là nguyên liệu để tổng hợp specmidin và specmin:

$H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH_2$

Specmidin

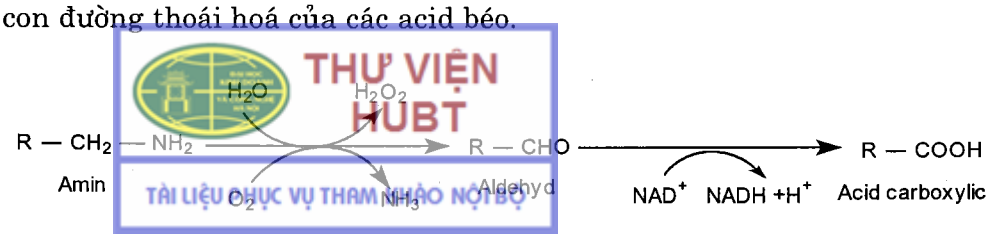
$H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)-NH_2$

Specmin



Các polyamin trên có vai trò bảo đảm đặc điểm cấu trúc và chức năng hoạt động của ribosom trong tế bào.

Các amin tạo thành có thể bị khử amin oxy hoá nhờ enzym monoamin oxydase hoặc diamin oxydase để tạo NH_3 và aldehyd. Các aldehyd tiếp tục oxy hoá tạo aicd carboxylic, chất này có thể tiếp tục thoái hoá để thành CO_2 và H_2O theo con đường thoái hoá của các acid béo.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.27. Thoái hoá amin thành acid carboxylic

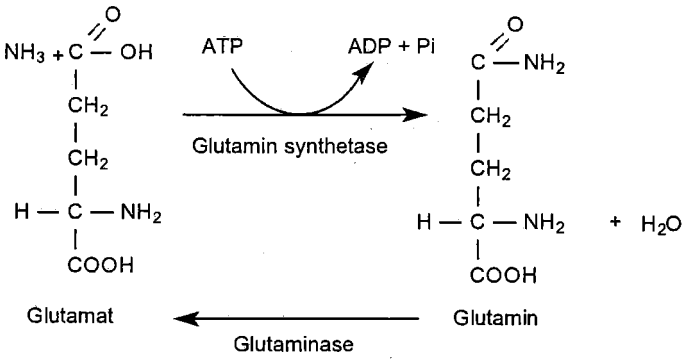
4.1.2. Số phận của NH_3 và quá trình tổng hợp urê

- *Tạo glutamin và sự vận chuyển NH_3:*

NH_3 được tạo thành trong các mô, chủ yếu do quá trình khử amin của các acid amin, ngoài ra còn do sự thoái hoá của các base purin, pyrimidin (xem thoái hoá các base nitơ). NH_3 kết hợp với glutamat bằng liên kết amid của glutamin nhờ glutamin synthetase. Năng lượng cần cho sự tổng hợp này do ATP cung cấp. Do có sự tạo thành glutamin nên hàm lượng NH_3 trong máu rất thấp (0,1-0,2mg/l), trong khi đó hàm lượng của glutamin trong máu cao hơn so với các acid amin khác.

NH_3 tự do là chất độc đối với cơ thể, còn glutamin thì không độc. Đây là quá trình giải độc của cơ thể và glutamin là dạng vận chuyển NH_3 quan trọng ở trong máu (hình 10.28 và 10.29).

Tại gan và thận, glutamin được thuỷ phân, giải phóng NH_3 và glutamat nhờ glutaminase. Hai phản ứng tổng hợp và thuỷ phân glutamin không thuận nghịch và có sự tham gia của 2 enzym khác nhau: glutamin synthetase và glutaminase.



Hình 10.28. Phản ứng tổng hợp và thuỷ phân glutamin

Ở gan người và nhiều động vật có xương sống trên cạn, NH_3 được dùng để tổng hợp urê rồi đào thải. Ở chim và loài bò sát, NH_3 được tổng hợp thành acid uric và đào thải. Ở nhiều loại động vật dưới nước (như cá), NH_3 được đào thải trực tiếp vào môi trường.

Ở tế bào ống thận có quá trình thuỷ phân glutamin tạo ra NH_3. NH_3 kết hợp với ion H^+ để tạo ion NH_4^+ rồi đào thải ra theo nước tiểu, góp phần điều hoà thăng bằng acid base của cơ thể. Nồng độ ion H^+ ở nước tiểu càng cao thì quá trình sản xuất NH_3 và khuếch tán vào nước tiểu càng mạnh. Quá trình sản xuất NH_3 ở thận tăng rất cao trong toan huyết và ngược lại, giảm nhiều trong kiềm huyết.

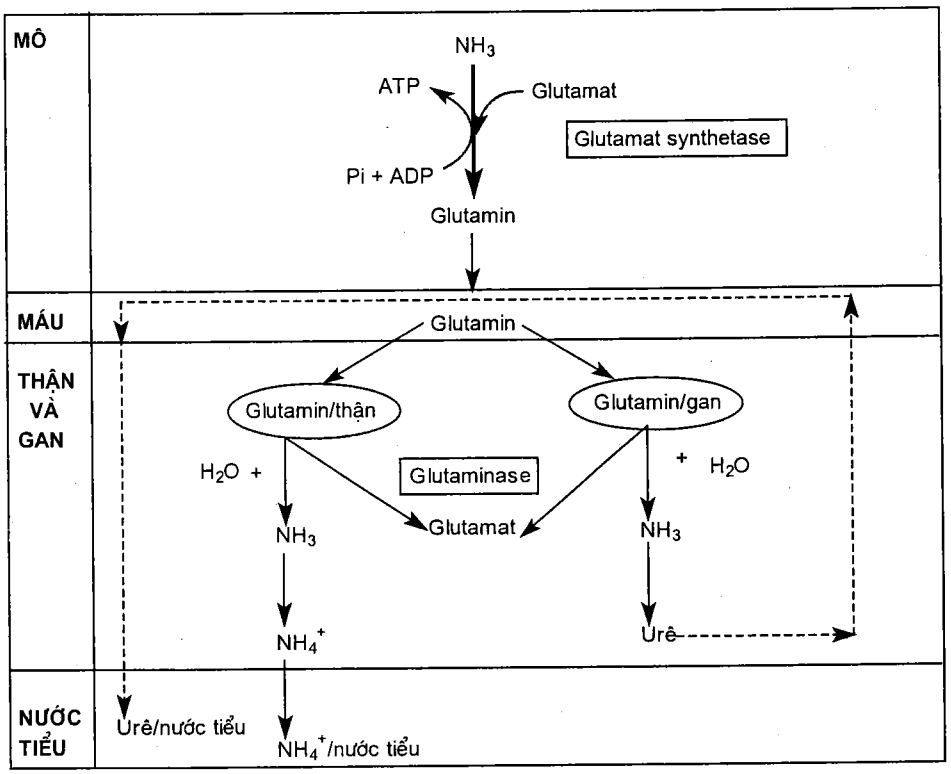
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ở não, sự tạo glutamin là con đường chủ yếu để loại NH_3, tránh nhiễm độc cho não. Não cũng có thể tổng hợp được urê nhưng số lượng không đáng kể so với con đường tạo glutamat nên không có vai trò quan trọng trong việc loại NH_3. Hàm lượng NH_3 trong máu ở não cao nhưng lượng glutamat mà máu cung cấp cho não không đủ để tạo glutamin. Vì vậy não phải tự tổng hợp lại glutamat để đáp ứng

nhu cầu cao của não về acid amin này. Nguyên liệu trực tiếp để tạo glutamat cho mục đích trên chính là α cetoglutarat, một sản phẩm trung gian của chu trình acid citric, phản ứng ngược lại với phản ứng khử amin oxy hoá glutamat.

Ngoài não, NH_3 cũng được nhiều mô khác của cơ thể sử dụng để tạo glutamat, từ đó tạo ra nhiều acid amin khác (xem tổng hợp glutamat).

NH_3 cũng được cơ thể sử dụng để tổng hợp carbamyl phosphat. Chất này ngoài vai trò là tiền chất để tổng hợp urê còn là tiền chất của các nucleotid có base pyrimidin.



Hình 10.29. Quá trình vận chuyển NH_3 trong cơ thể

- *Quá trình sinh tổng hợp urê ở gan:*

Sự tạo thành urê ở gan động vật đã được chứng minh qua một số thí nghiệm sau đây: máu tĩnh mạch tới gan chứa nhiều NH_3 hơn máu ở gan ra, ngược lại nồng độ urê của máu ở gan ra cao hơn ở máu tới gan. Kết quả tương tự đối với gan phân lập khi truyền một dịch chứa NH_3 vào gan, chất lỏng ra không chứa NH_3 mà là urê.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bằng các lát cắt gan chuột, A.Krebs và K.Henseleit đã thành công trong việc thực hiện tổng hợp urê. Xuất phát từ nhận xét: một lượng nhỏ ornitin và arginin thêm vào đã kích thích lát cắt gan sản xuất urê từ NH_3, mà các tác giả trên (1932) đã đề xuất những nét chính về một chu trình urê. Những công trình nghiên cứu tiếp theo của R.Ratner và P.Cohem đã xác định chi tiết các phản ứng enzym của quá trình tổng hợp urê.

– Để tổng hợp một phân tử urê cần sự tham gia của ba chất sau:

+ Một phân tử NH_3 tự do: chủ yếu do sự thoái hoá acid amin cung cấp. NH_3 tự do được giải phóng từ glutamat nhờ phản ứng khử amin oxy hoá hoặc từ phản ứng thuỷ phân glutamin. NH_3 tự do còn do quá trình thoái hoá các base purin và pyrimidin cung cấp.

+ Một phân tử CO_2: do quá trình khử carboxyl của các chất hữu cơ cung cấp.

+ Một nhóm amin do glutamat cung cấp để hình thành aspartat, đó là do quá trình trao đổi amin giữa glutamat và oxaloacetat. Như vậy nhóm amin của aspartat cũng có nguồn gốc từ acid amin khác.

– Ngoài ba chất trên là nguyên liệu cơ bản để tạo nên phân tử urê, còn cần:

+ Ba phân tử ATP để cung cấp năng lượng.

+ Một phân tử ornitin, chất này có nhiệm vụ lần lượt gắn các nguyên liệu cơ bản trên để hình thành phân tử urê.

+ Enzym xúc tác các phản ứng:

Trong chu trình urê có sự hiện diện của 5 acid amin: aspartat, arginin, ornitin, citrulin và arginosuccinat, trong số đó chỉ có aspartat, arginin là những acid amin có trong thành phần cấu tạo của các protein (3 acid amin còn lại không có trong protein, vai trò chủ yếu của chúng ở động vật có vú là tham gia tổng hợp hợp urê).

– Quá trình tổng hợp urê gồm 2 bước (hình 10.30 và 10.31):

Bước 1: Tổng hợp carbamyl phosphat (hoạt hoá NH_3)

Carbamyl phosphat được tạo thành do sự ngưng tụ một phân tử NH_3 và một phân tử CO_2 (được biotin hoạt hoá) với 1 gốc phosphat (ATP cung cấp) nhờ sự xúc tác của carbamyl phosphat synthetase. Enzym này có trong ty thể của gan. Mg^{++} và N-acetyl glutamat tăng cường hoạt tính của enzym này. N-acetyl glutamat có tác dụng như một tác nhân dị lập thể dương. Hai phân tử ATP cung cấp năng lượng để tổng hợp hai liên kết đồng hoá trị của carbamyl phosphat (đó là liên kết amid giữa H_2N^- và CO^-, liên kết anhydrid giữa hai hoá chức của acid carboxylic và acid phosphoric).

Bước 2: Chu trình urê, gồm 3 giai đoạn như sau:

Giai đoạn 1: Tạo citrulin

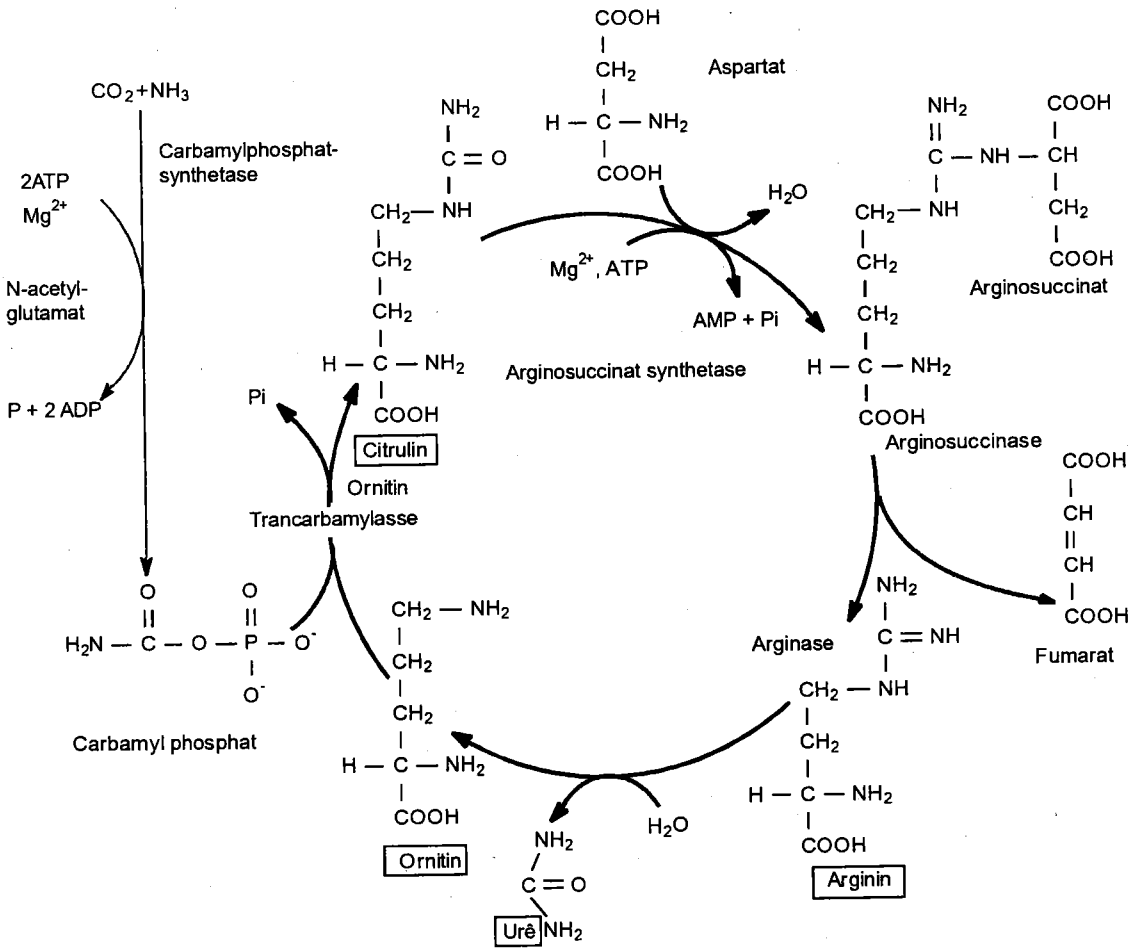
Carbamyl phosphat kết hợp với ortinin loại gốc phosphat tạo citrulin nhờ sự xúc tác của ortinin carbamyl transferase (OCT). Enzym này có trong ty thể gan.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Giai đoạn 2: Tạo arginin

Citrulin rời ty thể ra bào tương, ngưng tụ với aspartat qua nhóm amin của aspartat tạo thành arginosuccinat với xúc tác của argino succinat synthetase. Mg^{++} hoạt hoá enzym, ATP cung cấp năng lượng. Phản ứng này tiêu hao hai liên kết phosphat giàu năng lượng trong ATP, qua sự thuỷ phân ATP thành AMP và pyrophosphat. Pyrophosphat sau đó bị thuỷ phân thành phosphat vô cơ nhờ xúc

tác của pyrophosphatase. Argino succinat bị tách thành arginin và fumarat nhờ xúc tác của arginosuccinase. Fumarat tạo thành có thể chuyển thành malat rồi oxaloacetat. Oxaloacetat lại tạo ra aspartat nhờ phản ứng trao đổi amin với glutamat, với sự xúc tác của GOT. Như vậy aspartat đó đóng vai trò trung gian, vận chuyển amin cho chu trình urê. Sự chuyển hoá từ fumarat qua oxaloacetat đến aspartat đã hình thành mối liên quan giữa chu trình urê với chu trình acid citric. Ngoài ra chu trình acid citric còn cung cấp CO_2 và ATP cho chu trình urê (hình 10.32).



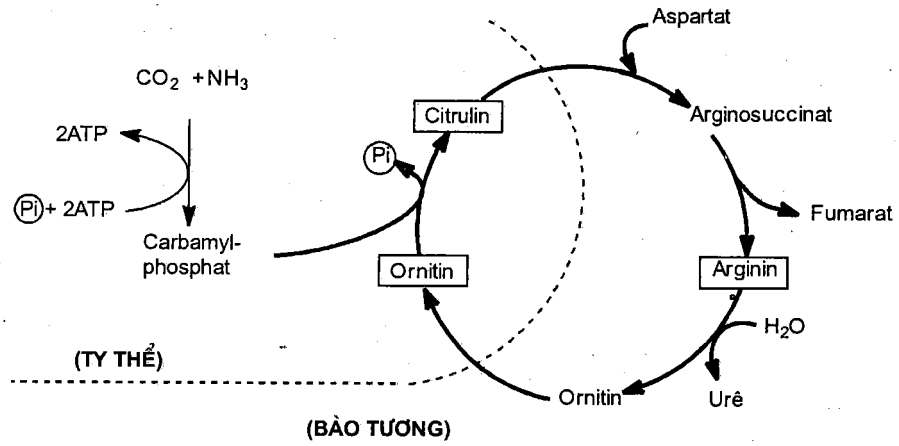
Hình 10.30. Chu trình sinh tổng hợp urê

Giai đoạn 3: Thuỷ phân arginin, tân tạo ornitin, giải phóng urê.

Dưới tác dụng của arginase, arginin bị thuỷ phân, giải phóng urê và ornitin. Arginase có nhiều ở gan động vật bài xuất urê. Enzym này còn có một lượng nhỏ ở thận, não, da, tuyến sữa...

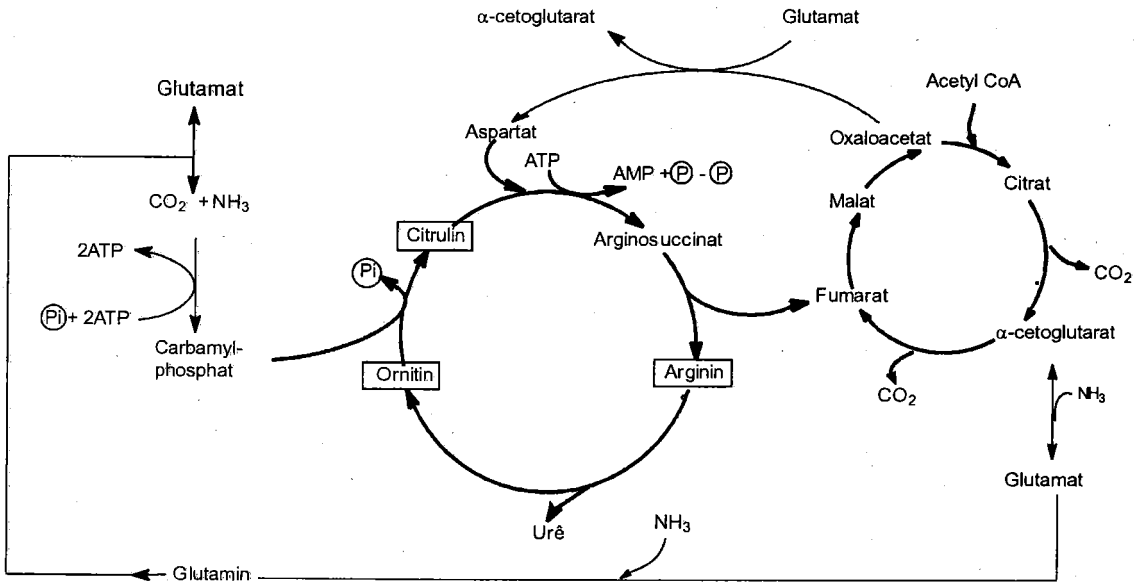
Ornitin vừa tái tạo lại có thể tiếp tục tham gia vào quá trình phản ứng, đưa phân tử carbamyl phosphat mới vào chu trình urê.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.31. Chu trình urê, các giai đoạn ở ty thể vào bào tương

Urê được tạo thành chủ yếu ở gan, được vận chuyển tới thận để đào thải ra ngoài. Lượng urê bài xuất qua nước tiểu hàng ngày phụ thuộc vào lượng protein ăn vào. Bình thường với chế độ ăn có lượng protein vừa phải, lượng urê bài xuất khoảng 15-20g/24 giờ. Càng ăn nhiều protein, lượng urê bài xuất càng cao và ngược lại.



Hình 10.32. Liên quan giữa chu trình urê với chu trình acid citric

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.1.3. Số phận khung carbon của acid amin

Sau khi mất nhóm amin, khung carbon còn lại của các acid amin sẽ chuyển thành các sản phẩm trung gian như pyruvat, oxaloacetat, α-cetoglutarat, succinyl CoA, acetoacetyl CoA và acetyl CoA (hình 10.33).

– Các acid amin tạo oxaloacetat: khung carbon của hai acid amin (aspartat và asparagin) chuyển thành oxaloacetat.

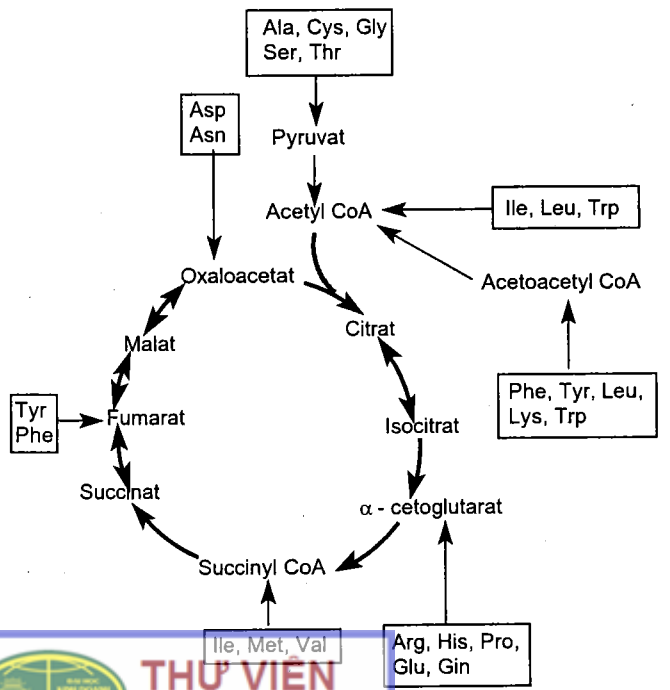
– Các acid amin tạo pyruvat: khung carbon của 5 acid amin (alanin, cystein, threonin, glycin và serin) chuyển thành pyruvat.

– Các acid amin tạo succinyl CoA: khung carbon của 3 acid amin (methionin, isoleucin và valin) tạo succinyl CoA. Riêng isoleucin còn tạo thêm acetyl CoA.

– Các acid amin tạo α cetoglutarat: khung carbon của 5 acid amin (glutamat, glutamin, prolin, arginin và histidin) chuyển thành α-cetoglutarat.

– Các acid amin tạo acetyl CoA: khung carbon của 5 acid amin (tyrosin, tryptophan, lysin, phenylalanin và leucin) tạo acetyl CoA qua acetoacetyl CoA. Ngoài acetyl CoA, phenylalanin và tryrosin tạo thêm fumarat; tryptophan tạo thêm alanin; lysin tạo thêm glutamat và leucin tạo thêm acetyl CoA.

Các chất trung gian trên tiếp tục được chuyển hoá theo các con đường khác nhau, hoặc đi vào chu trình acid citric và bị oxy hoá hoàn toàn, hoặc được sử dụng để tổng hợp glucid, lipid và một số acid amin. Điều này đã được chứng minh nhờ sử dụng các acid amin chứa các nguyên tố ghi dấu (đồng vị).



Hình 10.33. Những con đường đi vào chu trình acid citric từ khung carbon của các acid amin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- *Thoái hoá sau khi vào chu trình acid citric:*

Các sản phẩm trung gian của sự thoái hoá acid amin kể trên như vậy sớm muộn đều có thể chuyển hoá vào chu trình acid citric và bị thoái hoá hoàn toàn để cuối cùng tạo CO_2, H_2O và ATP.

Sự thoái hoá của các acid carboxylic, sản phẩm của quá trình khử carboxyl rồi khử amin oxy hoá của một số acid amin, cũng có thể dẫn đến chu trình acid citric. Như vậy sản phẩm cuối cùng của sự thoái hoá acid amin là CO_2, H_2O và NH_3. Ở người NH_3 chuyển thành urê và NH_4^+ để đào thải ra ngoài như đã trình bày ở trên.

- *Tổng hợp glucid (acid amin tạo đường):*

Khi đưa acid amin vào cơ thể của người bị đái đường tụy, người ta thấy một số acid amin có tác dụng làm tăng bài xuất đường (glucose) trong nước tiểu. Khung carbon của 14 acid amin: alanin, cystein, glycin, serin, threonin, arginin, histidin, prolin, glutamin, glutamat, methionin, valin, asparagin và aspartat dẫn đến sự tạo thành pyruvat, α-cetoglutarat, succinin CoA và oxaloacetat. Các chất pyruvat, α-cetoglutarat và succinyl CoA đều có thể chuyển thành oxaloacetat. Chất này dùng để tân tạo glucid qua chất trung gian phospho enolpyruvat (PEP) theo con đường tổng hợp glucid. Các acid amin trên được gọi là các acid amin cho đường.

- *Tổng hợp acid béo (acid amin tạo ceton):*

Người ta còn thấy rằng có acid amin làm tăng bài xuất thể ceton trong nước tiểu. Khung carbon của leucin khi thoái hoá cho acetyl CoA và acetoacetyl CoA. Hai chất này có thể được sử dụng để tổng hợp acid béo hoặc tạo thể cetonic. Leucin được gọi là acid amin tạo ceton.

Ngoài ra còn có 5 acid amin vừa tạo đường vừa tạo ceton, nghĩa là vừa tạo oxaloacetat và tạo được acetyl CoA. Đó là: phenylalanin, tyrosin, tryptophan, isoleucin và lysin.

- *Tổng hợp một số acid amin:*

Khung carbon của một số acid amin có thể trao đổi amin, amin hoá hoặc bằng cách khác để tạo một số acid amin "acid amin không cần thiết" (xem các phản ứng chuyển amin).

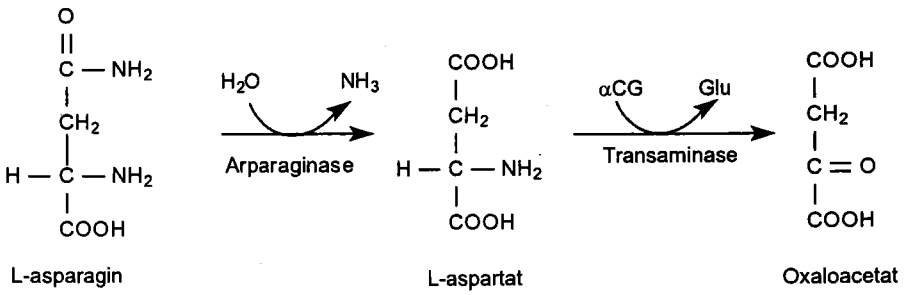
4.1.4. Thoái hoá riêng biệt của các acid amin

Phần này giới thiệu sự thoái hoá của các acid amin để dẫn đến các chất trung gian của chu trình acid citric. Sự chuyển hoá tiếp theo của các chất trung gian này đã trình bày ở trên.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- *Các acid amin tạo oxaloacetat:*

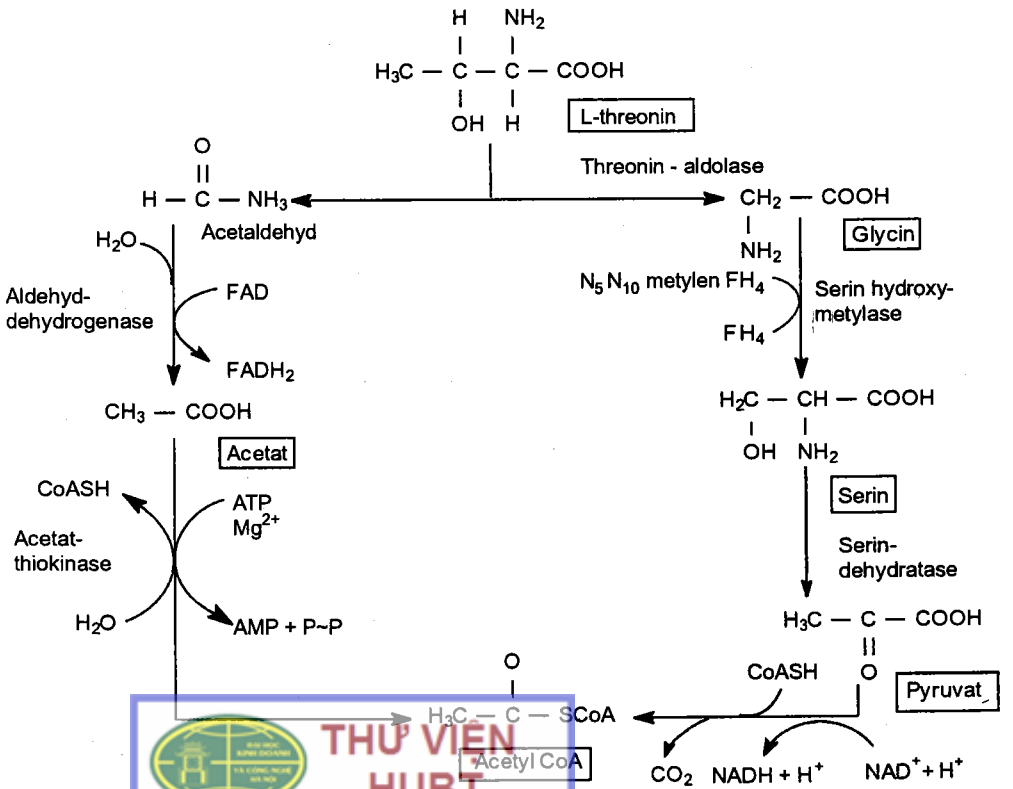
Aspartat và asparagin: tất cả 4 carbon của aspartat và asparagin đều chuyển thành oxaloacetat.



Hình 10.34. Thoái hoá L-asparagin và L-aspartat thành oxaloacetat
(αCG = α-cetoglutarat; Glu=glutamat)

- *Các acid amin tạo pyruvat:*

– Threonin là acid amin có 4 carbon, có thể bị chia đôi phân tử thành glycin và acetaldehyl. Glycin nhận thêm nhóm một carbon từ N^5, N^{10} metylen tetrahydrofolat để thành serin rồi thành pyruvat; còn acetaldehyl tạo acetyl CoA (hình 10.35).



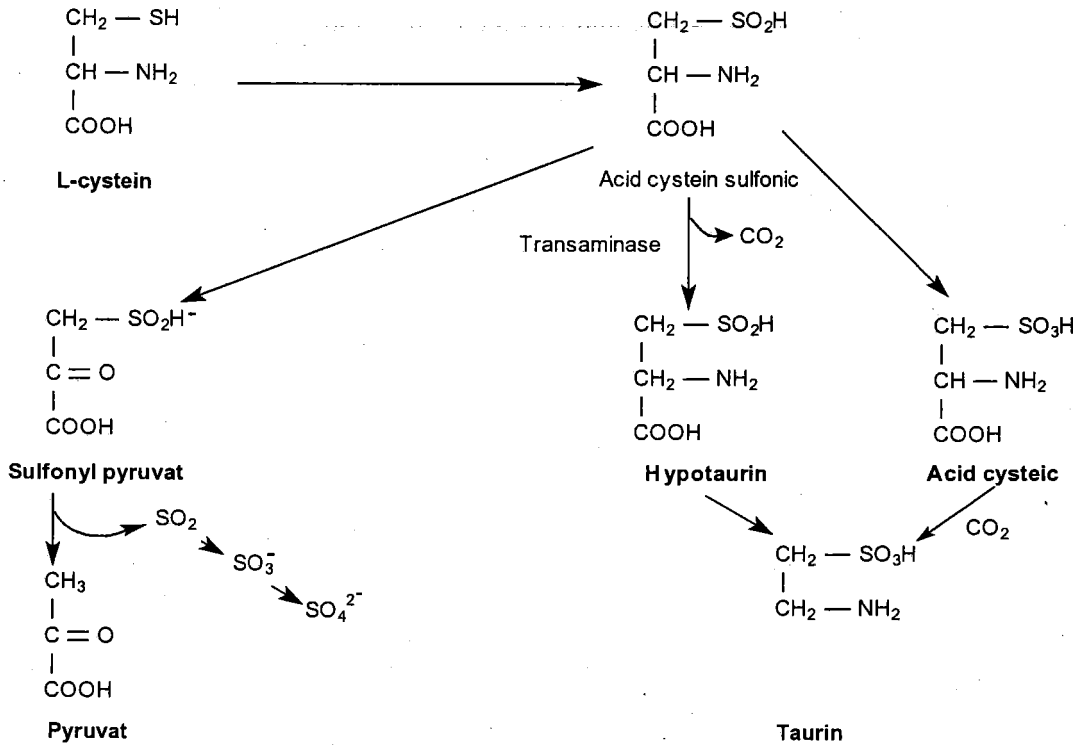
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.35. Thoái hoá threonin, glycin và serin thành pyruvat

– Alanin: bằng phản ứng trao đổi amin với α-cetoglutarat mà alanin chuyển thành pyruvat.

– Cystein: sự thoái hoá của cystein có thể đi theo các con đường khác nhau: con đường thứ nhất tạo taurin; con đường thứ hai tạo pyruvat và SO_2 (hình 10.36).

SO_2 oxy hoá thành SO_4. Các gốc sulfat này tham gia cấu tạo các liên kết este sulfat của nhiều hợp chất quan trọng của cơ thể như các mucopolysaccharid sulfat, các sufatid (lipid tạp). Các gốc sulfat còn tạo các liên hợp sulfat ở gan với các hormon steroid, hoặc với những chất độc như phenol, cresol, indol... đào thải ra theo nước tiểu. Các sulfat nước tiểu có nguồn gốc chủ yếu từ các acid amin chứa lưu huỳnh như methionin và cystein. Hai acid amin này có trong protein, vì vậy lượng sulfat đào thải trong nước tiểu phụ thuộc vào lượng protein ăn vào.



Hình 10.36. Thoái hoá cystein đến pyruvat và taurin

- *Các acid amin tạo succinyl CoA:*

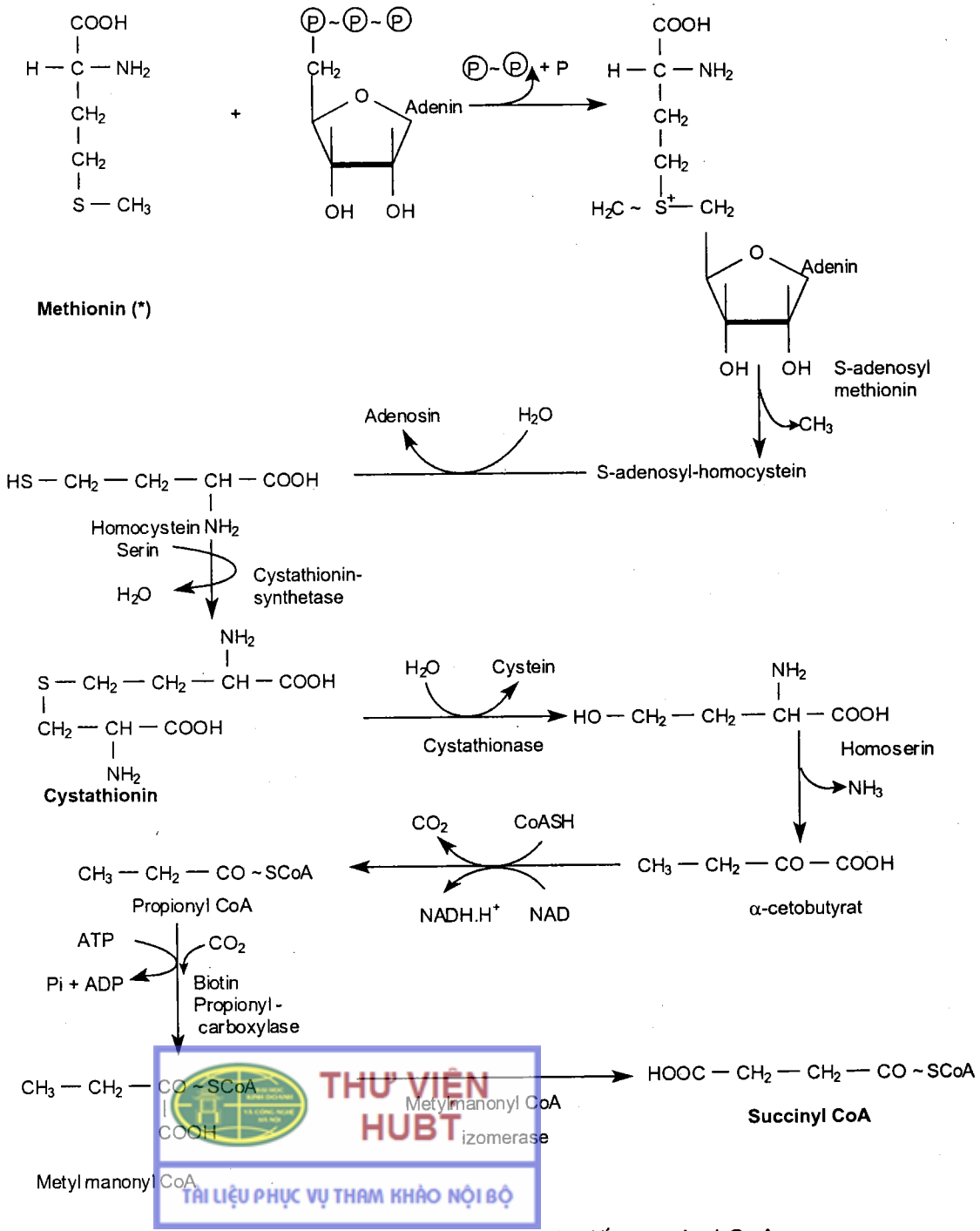
– Methionin: muốn đi vào chuyển hoá, trước hết methionin phải được hoạt hoá thành adenosyl methionin. Chất này sau khi chuyển nhóm methyl cho chất nhận, trở thành adenosyl homocystein rồi bị thuỷ phân thành adenosin và homocystein. Homocystein ngưng tụ với serin tạo cystathionin rồi chất này tiếp tục thoái hoá để giải phóng systein, phần còn lại dẫn đến succinyl CoA.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Quá trình thoái hoá methionin cũng là quá trình tạo cystein trong cơ thể. Thực nhiệm cũng đã chứng minh, khi cho thêm cystein thì nhu cầu về methionin trong khẩu phần giảm.

Trong methionin hoạt hoá, liên kết S methyl là liên kết giàu năng lượng, nhờ đó nó dễ dàng cung cấp nhóm methyl để methyl hoá nhiều hợp chất khác như

chuyển ethanolamid thành cholin, noadrenalin thành adrenalin v.v... Vai trò của methionin trong việc chuyển nhóm methyl là chức năng quan trọng và methionin là chất cung cấp nhóm methyl chủ yếu của cơ thể.

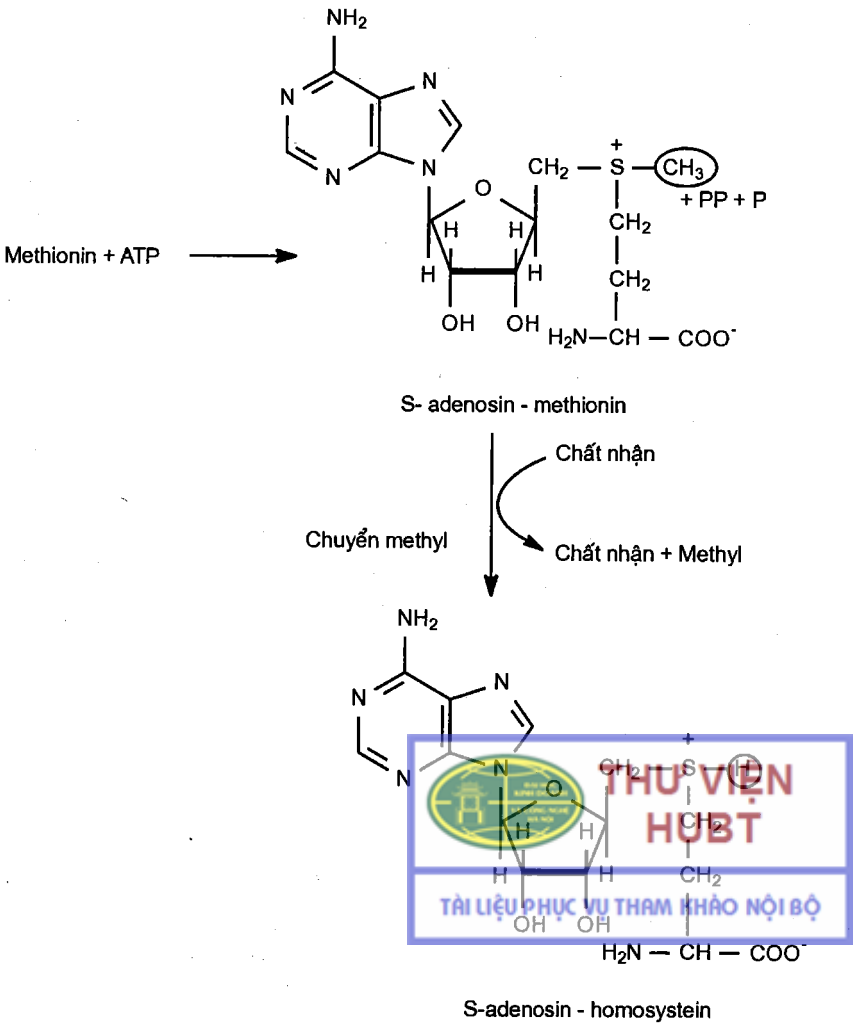


Hình 10.37. Thoái hoá methionin đến succinyl CoA (khi thiếu cystathionin gây bệnh homocystein niệu)

Trong cơ thể, homocystein có thể nhận nhóm methyl hoạt hoá (~CH_3) từ 5-methyl tetrahydrofolat với sự tham gia vận chuyển của coenzym vitamin B_{12} để tạo methionin. Nhưng vì cơ thể không tổng hợp được homocystein nên nguồn methionin bổ sung thường xuyên cho cơ thể là protein của thức ăn.

Trong homocystein niệu (một bệnh di truyền do thiếu enzym cystathionin synthetase), homocystein không chuyển thành cystathionin được và ngăn cản sự tạo cystein. Homocystein bị ứ đọng, hai phân tử homocystein dễ dàng kết hợp với nhau bằng liên kết disulfur tạo homocystin, làm tăng hàm lượng chất này trong máu và xuất hiện bất thường homocystin trong nước tiểu. Trẻ em mắc bệnh này bị đần độn về tinh thần, có thể điều trị sớm bằng vitamin B_6 liều cao và một chế độ ăn tăng cystein mà giảm methionin.

Methionin là chất cho nhóm methyl phổ biến trong các phản ứng chuyển methyl. Trước tiên methionin được hoạt hoá bởi ATP thành S-adenosin methionin, sau đó chuyển nhóm methyl cho chất nhận. Về phần mình, nó trở thành S-adenosin-homosystein.

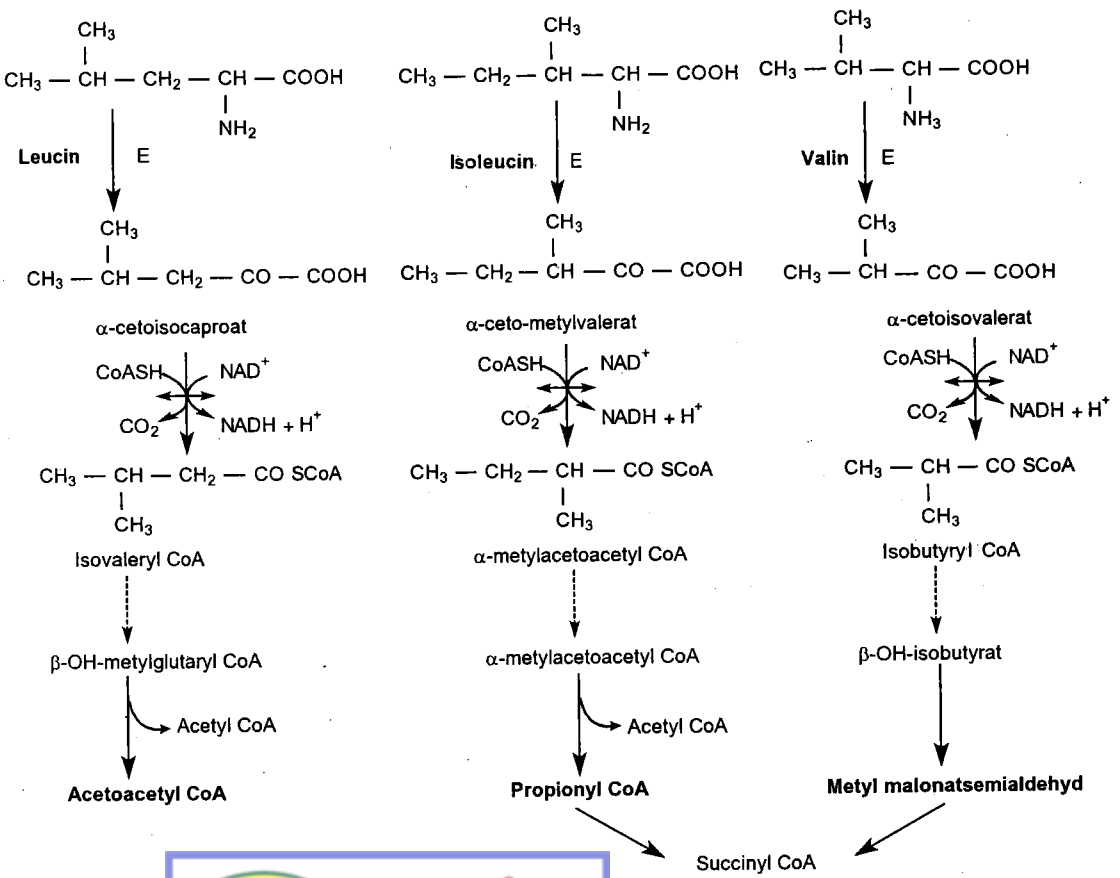


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Acid béo trong thành phần lipid (ở gan) nhận nhóm methyl, trở thành dạng dễ tan trong máu. Nhờ vậy methionin được dùng trong điều trị "to gan" (do ứ đọng lipid và các bệnh khác về gan).

– *Thoái hoá của valin, isoleucin và leucin:*

Ba acid amin có nhánh và cần thiết này có lẽ do cấu trúc tương tự nhau nên trong quá trình thoái hoá ở giai đoạn đầu có những phản ứng giống nhau. Đó là các phản ứng trao đổi amin và khử amin oxy hoá. Phản ứng trao đổi amin đầu tiên của cả ba acid amin trên ở động vật có vú chỉ do transaminase xúc tác. Sản phẩm tạo thành là các acid α-cetonic tương ứng, đó là cetoisovalerat (valin), α-ceto metyl valerat (isoleucin) và α-cetoisocaproat (leucin). Phản ứng thứ hai là khử carboxyl oxy hoá cho cả ba acid amin trên, tương tự phản ứng khử carboxyl oxy hoá pyruvat hoặc α-cetoglutarat (hình 10.38).



Hình 10.38. Thoái hoá valin và isoleucin đến succinyl CoA và thoái hoá leucin đến acetoacetyl-CoA (E=transaminase)

THƯ VIỆN HUBT
TRA CỨU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sau giai đoạn chung này mỗi acid amin thoái hoá theo con đường riêng. Trong ba acid amin trên chỉ có valin và leucin tạo succinyl CoA, còn leucin tạo acetoacetyl CoA và acetyl CoA.

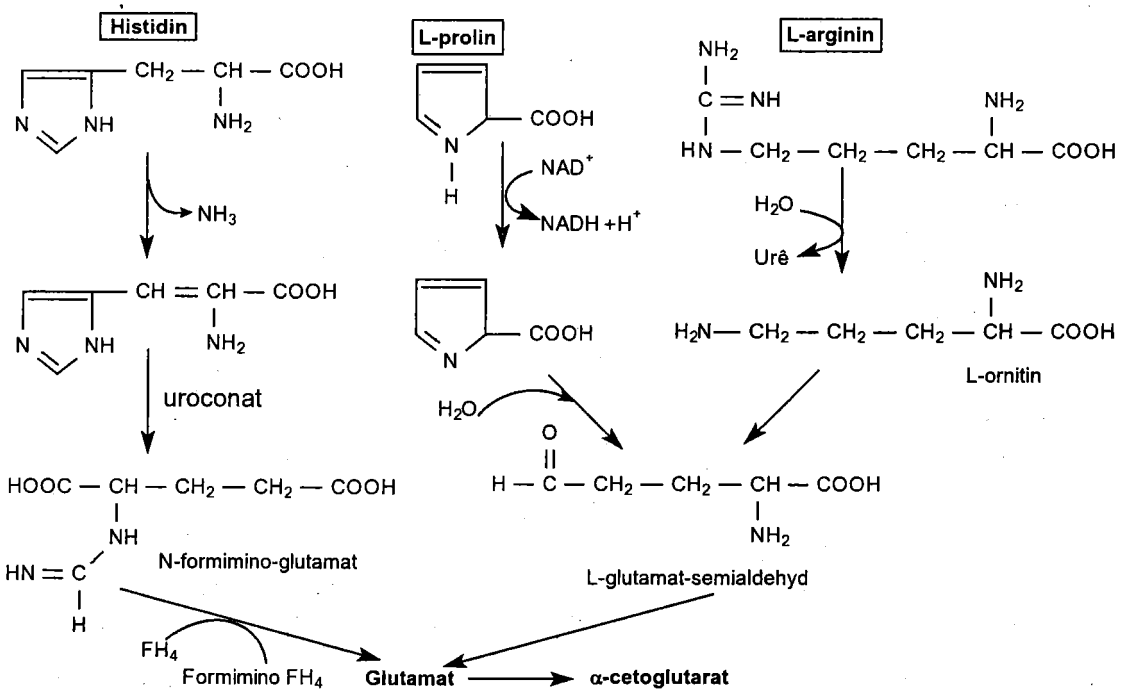
Ở một số trẻ em bị bệnh di truyền do thiếu enzym khử carbonyl oxy hoá ba acid α-cetonic (tương ứng với valin, isoleucin và leucin). Các acid α-cetonic không chuyển hoá được, bị ứ đọng, tăng cao trong máu và đào thải trong nước tiểu. Sự có mặt của các acid α-cetonic trên là nguyên nhân làm cho nước tiểu của các bệnh nhân này có mùi đặc biệt.

- *Các acid amin tạo α-cetoglutarat:*

– Glutamat và glutamin: 5 carbon của glutamat và glutamin chuyển thành α-cetoglutarat. Glutamin bị chuyển thành glutamat. Glutamat chuyển thành α-cetoglutarat theo hai cách: trao đổi amin hoặc khử amin oxy hoá.

– Histidin, prolin và arginin: sự thoái hoá của 3 acid amin này theo các con đường khác nhau, nhưng đều dẫn đến tạo α-cetoglutarat (hình 10.39).

Quá trình thoái hoá histidin cung cấp nhóm formimino (-CH=NH) cho tetrahydrofolat (FH_4) để tạo thành N^5 formimino FH_4. Bằng cách này, histidin đã thành chất cung cấp nhóm 1 carbon hoạt động cho cơ thể.



Hình 10.39. Thoái hoá histidin, prolin và arginin đến α-cetoglutarat

THƯ VIỆN HUBT

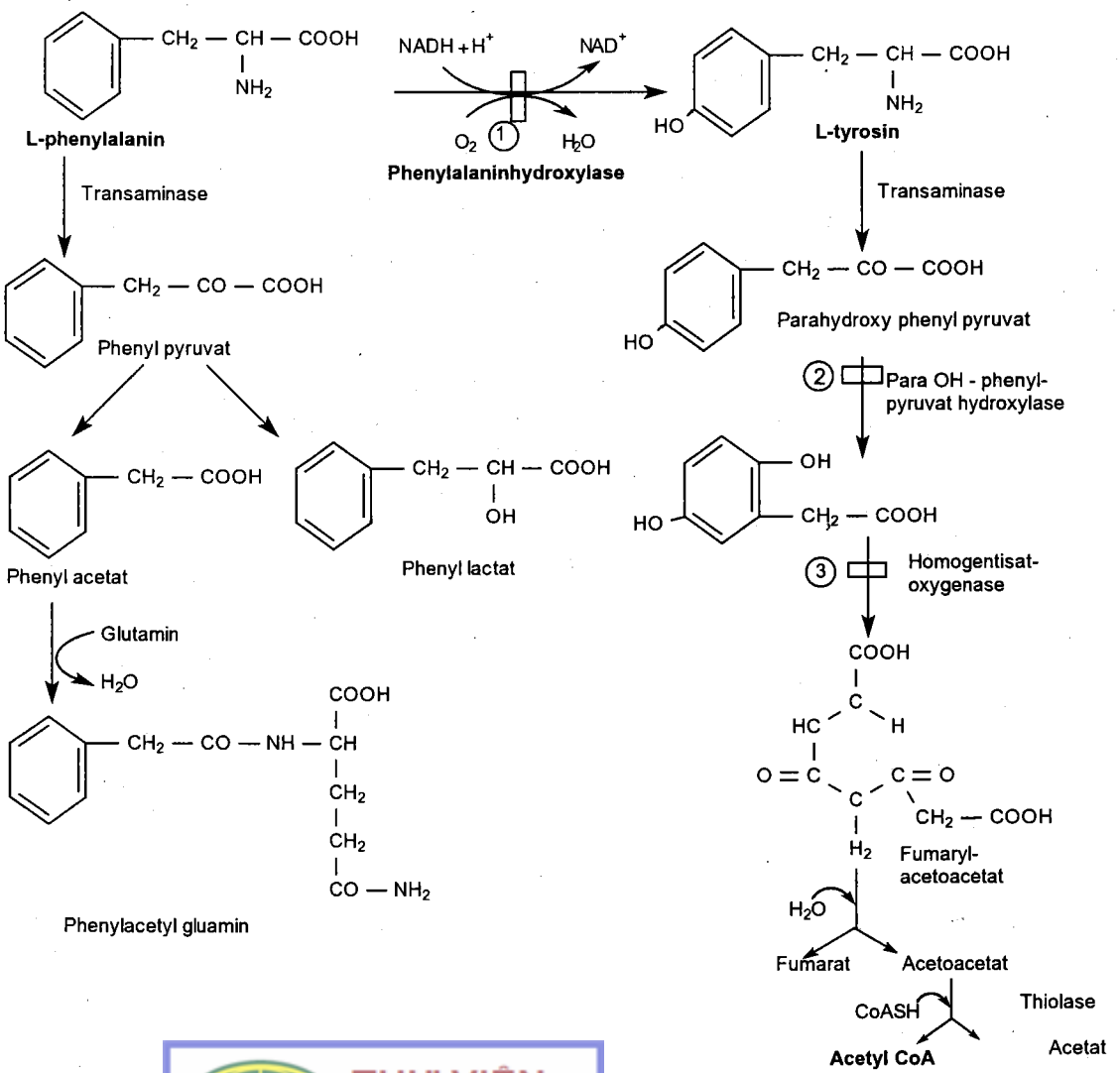
- *Các acid amin tạo acetyl CoA:*

Ngoài 5 acid amin tạo pyruvat kể trên tạo được acetyl CoA, còn có 5 acid amin trực tiếp tạo acetyl CoA không qua pyruvat. Đó là: phenylalanin, tyrosin, tryptophan, lysin và leucin.

– Phenylalanin và tyrosin:

+ Phenylalanin chuyển thành tyrosin nhờ sự xúc tác của phức hợp enzym phenylalanin hydroxylase, có ở gan động vật có vú, không có ở các mô khác.

+ Thoái hoá tyrosin: qua một loạt phản ứng, tryrosin chuyển thành fumarat và acetoacetat. Bằng phản ứng có β-cetothiolase xúc tác, acetoacetat chuyển thành acetyl CoA và acetat (hình 10.40).



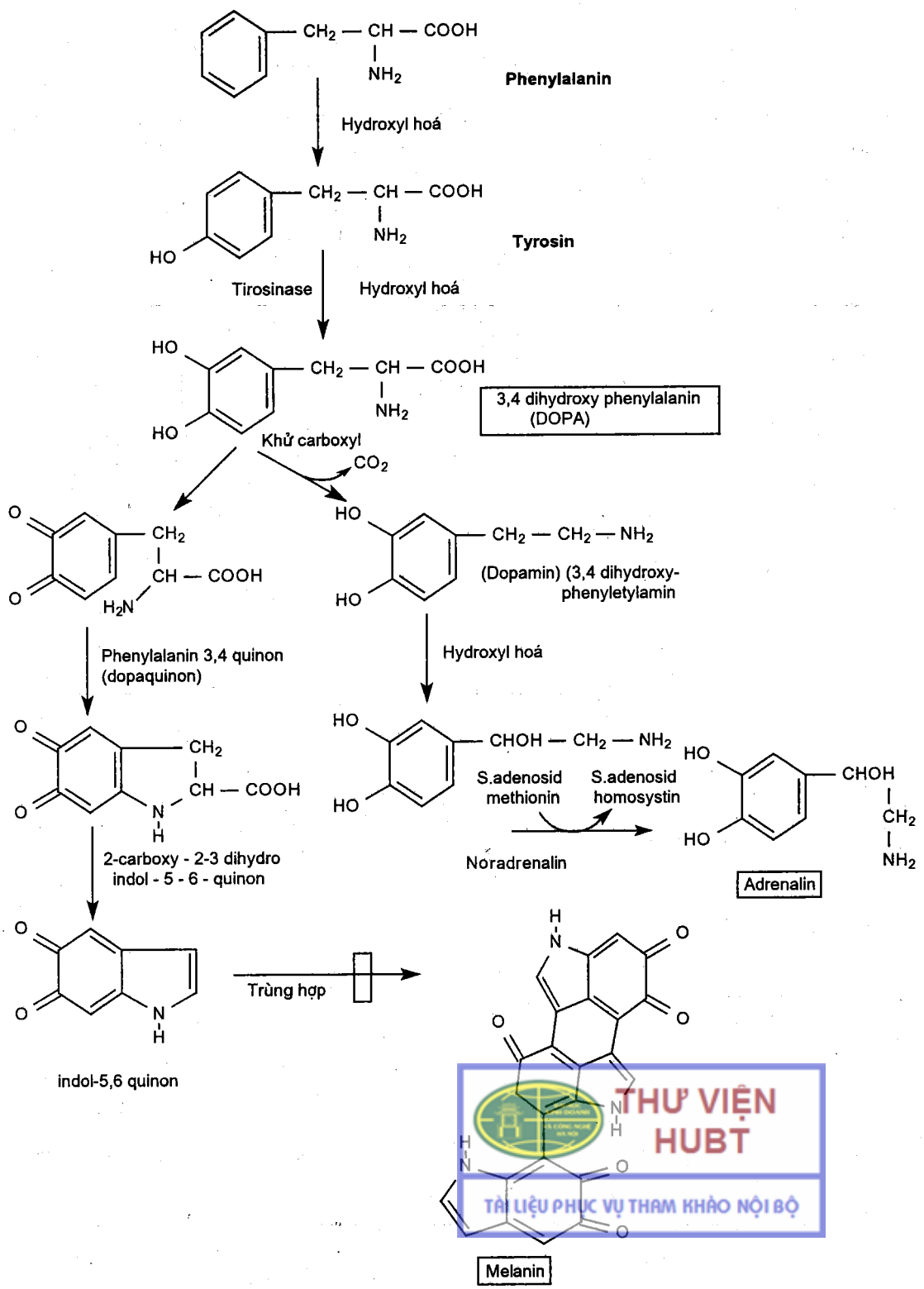
Hình 10.40. Thoái hoá phenylalanin và tyrosin đến acetyl CoA và rối loạn thoái hoá

(1) Thiếu phenylalanin hydroxylase: bệnh phenyl ceton niệu.

(2) Thiếu parahydroxyphenylpyruvat hydroxylase: bệnh tyrosin niệu.

(3) Thiếu homogentisat oxygenase: bệnh alcapton niệu.

THƯ VIỆN HUBT



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.41. Thoái hoá phenylalanin và tyrosin tạo DOPA, adrenalin và sắc tố melanin

Khuyết hụt hoặc đột biến gen tổng hợp enzym ở chuyển hoá tyrosin có thể gây bệnh bạch tạng.

Chứng bạch tạng xảy ra do thiếu sắc tố bình thường của da (melanin) ở trong các melanin bào. Melanin bào là những tế bào có nguồn gốc ngoại bì của gờ thần kinh có những nhánh với những đoạn lồi lên (ở bào thai). Melanin bào có ở trong da (giữa lớp biểu bì và da non), trong các chân lông, trong tế bào thần kinh và trong mắt.

Bạch tạng có thể xảy ra toàn thân hoặc từng vùng. Bạch tạng toàn thân (hoàn toàn không có melanin) thường kèm theo hàng loạt triệu chứng: sợ ánh sáng, giật nhãn cầu, đục tròng mắt, giảm thị giác. Bạch tạng thường gặp ở động vật. Đối với người, tỷ lệ bạch tạng vào khoảng từ 1: 5.000 đến 1: 25.000. Bạch tạng toàn thân thường gặp nhất ở người da đỏ vùng Panama. Bạch tạng từng vùng thường xuất hiện ở da, tóc, nhưng không khi nào lan vào mắt.

Các triệu chứng lâm sàng của bạch tạng toàn thân rất đặc biệt: da không phụ thuộc vào nguồn gốc người da trắng hay người da màu, trở thành một màu trắng sữa, tóc trở thành trắng vàng.

Trong một số trường hợp (nhất là người da đen) còn có sự rối loạn quá trình tạo sắc tố: tóc đỏ, da có màu đồng đỏ. Ánh sáng mặt trời làm cho da người bị bạch tạng sưng lên (ban đỏ), thường xuất hiện tàn nhang.

Ngoài những biến đổi ở da, khi bị bạch tạng toàn thân thì những rối loạn phụ khác cũng xuất hiện, thí dụ như: điếc và câm, động kinh, thừa ngón tay chân, tinh thần thiểu năng. Nhưng trí thông minh ở những bệnh nhân này có thể hoàn toàn bình thường và trong số đó thậm chí có cả các nhà bác học nổi tiếng.

Nguyên nhân bạch tạng chưa rõ là thiếu melanin bào hay do rối loạn chuyển hoá tổng hợp melanin trong cơ thể.

Nghiên cứu bằng kính hiển vi đã phát hiện: trong quá trình diễn biến bệnh, hàm lượng melanin bào vẫn bình thường, thậm chí còn có cả những cấu tạo giống như không bào, ở đó bình thường chứa các hạt melanin. Như vậy còn lại khả năng thứ hai là nghẽn tổng hợp melanin ở những nơi tạo sắc tố (melanofoc).

Nhờ những nghiên cứu sinh hoá người ta đã phát hiện là bản chất của sự thiếu sót chuyển hoá là tyrosinase. Tyrosinase được tổng hợp nhờ các melanofoc bình thường, là một enzym có chứa đồng (cần thiết để chuyển tyrosin thành melanin).

Trên con đường thoái hoá của phenylalanin và tyrosin, sự thiếu hụt một số enzym xúc tác sẽ gây nhiều tình trạng bệnh lý khác (hình 10.40 và 10.41).

+ Thiếu phenylalanin hydroxylase sẽ gây bệnh phenyl ceton niệu. Do thiếu enzym này nên phenylalanin không chuyển thành tyrosin được mà phải đi theo con đường tạo phenyl pyruvat (phenyl ceton).

THƯ VIỆN HUBT
TRUNG TÂM THÔNG TIN THƯ VIỆN

Kết quả là phenylalanin và các chất thoái hoá của nó như phenyl pyruvat, phenyl lactat, phenyl acetat và phenyl glutamin tăng trong máu và nước tiểu. Trẻ mắc bệnh này bị thiểu năng tinh thần. Phát hiện càng sớm càng tốt và điều trị bằng một chế độ ăn giảm phenylalanin có thể ngăn ngừa được sự tiến triển xấu của bệnh.

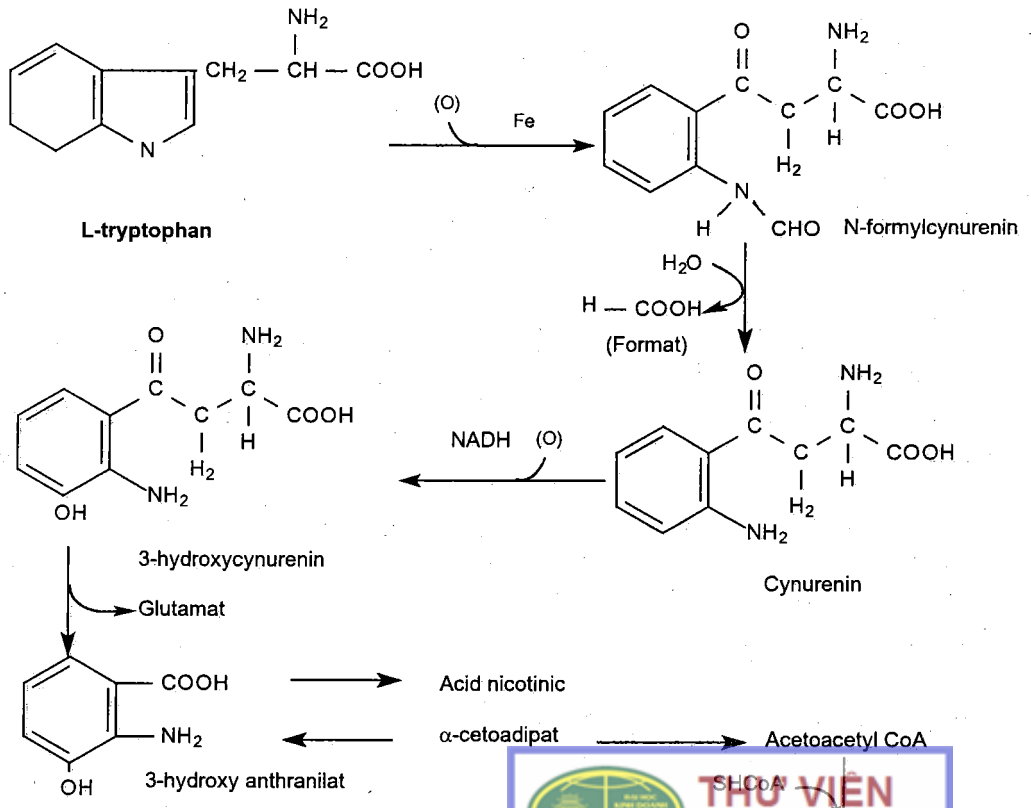
+ Thiếu parahydroxyphenylpyruvat hydroxylase sẽ gây bệnh tyrosin niệu.

Trong bệnh này parahydrophenyl pyruvat và tyrosin không chuyển hoá được bị ứ đọng, tăng trong máu và xuất hiện nhiều trong nước tiểu.

+ Thiếu homogentisat oxygenase sẽ gây bệnh alcapton niệu. Do thiếu enzym này nên homogentisat (tức alcapton) không thoái hoá được, bị ứ đọng và đào thải ra theo nước tiểu. Khi tiếp xúc với không khí, homogentisat bị oxy hoá, biến thành một chất có màu thẫm dễ nhận biết khi nước tiểu chứa nó.

– Tryptophan (hình 10.42):

Quá trình thoái hoá tryptophan (và cả lysin) giải phóng alanin và tạo acetyl CoA. Phản ứng chuyển N-formyl cynurenin thành cynurenin giải phóng format (HCOOH) được FH_4 tiếp nhận, format trở thành nhóm 1 carbon hoạt động của cơ thể.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.42. Thoái hoá tryptophan thành acetyl CoA

4.2. Tổng hợp acid amin

Các acid amin có vai trò chủ chốt trong chuyển hoá của tất cả mọi sinh vật, trước hết vì chúng là thành phần chính của mọi protein của cơ thể. Các sinh vật có khả năng khác nhau trong việc sử dụng các dạng nitơ để tổng hợp các acid amin và cũng có khả năng khác nhau trong việc tổng hợp 20 loại amin có trong thành phần protein.

Cơ thể người và động vật chỉ có thể tổng hợp được một số acid amin nhất định từ các sản phẩm thoái hoá trung gian của glucid, lipid và acid amin. Số acid amin còn lại mà cơ thể không thể tổng hợp được, phải được đưa từ thức ăn vào (gọi là những acid amin "cần thiết"). Vì vậy, hàng ngày phải cung cấp đủ protein cho cơ thể, chủ yếu là đền bù sự mất mát về các acid amin mà cơ thể không thể tổng hợp được.

Thực vật bậc cao có khả năng tổng hợp được tất cả các acid amin cần cho tổng hợp protein, từ nguồn nitơ là NH_3, nitrit hoặc nitrat. Các cây thuộc họ đậu, nhờ các vi khuẩn có trong các nốt sần ở rễ có khả năng tiếp nhận nitơ phân tử của khí quyển tạo thành NH_3, để dùng cho việc tổng hợp các acid amin.

Các vi sinh vật có khả năng khác nhau trong việc tổng hợp các acid amin ví dụ: vi khuẩn *Leuconostic mesenteroid* chỉ có thể phát triển được khi cung cấp cho chúng 16 loại acid amin, trong khi đó E.coli lại có khả năng tổng hợp được tất cả các loại acid amin từ NH_3. Phần lớn vi sinh sử dụng NH_3 làm nguồn nitơ, nhiều vi khuẩn và nấm còn có khả năng sử dụng nitrit hoặc nitrat như thực vật.

Động vật cao cấp không có khả năng tổng hợp tất cả các acid amin thông thường (thí dụ: chuột trắng chỉ có thể tổng hợp được 10 trong số 20 acid amin cần cho tổng hợp protein).

Rose và cộng sự đã làm thí nghiệm để xác định các acid amin cần thiết (tức là những acid amin mà cơ thể người và động vật cao cấp khác không thể tổng hợp được mà phải đưa vào từ thức ăn). Các tác giả đã nuôi chuột trong một chế độ đủ glucid, lipid và muối khoáng cùng với một hỗn hợp acid amin tinh khiết. Nếu loại trừ một acid amin nào trong chế độ ăn đó mà không ảnh hưởng đến sự phát triển bình thường của chuột thì acid amin đó được xếp vào loại acid amin không cần thiết. Ngược lại nếu một acid amin bị loại trừ mà ảnh hưởng đến sự phát triển bình thường của cơ thể thì acid amin đó thuộc loại acid amin cần thiết.

Rose đã xác lập được:

– Tám acid amin cần thiết đối với cơ thể người và chuột trưởng thành bình thường, đó là: lysin, threonin, methionin, valin, leucin, isoleucin, phenylalanin và tryptophan.

– Hai acid amin (arginin và histidin) cơ thể có thể tổng hợp được nhưng tốc độ tổng hợp chậm, không đáp ứng được nhu cầu của cơ thể trong quá trình tăng trưởng. Vì vậy ngoài tám acid amin cần thiết kể trên, arginin và histidin cũng là acid amin cần thiết đối với trẻ em hoặc súc vật non và được gọi là acid amin tương đối cần thiết hoặc bán cần thiết.

THƯ VIỆN HUBT

– Mười acid amin còn lại là những acid amin "không cần thiết", tức là những acid amin mà cơ thể người và động vật cao cấp khác có thể tổng hợp được; đó là: glycin, alanin, serin, aspartat, aspargin, glutamat, glutamin, prolin, tyrosin và cystein.

4.2.1. Tổng hợp các acid amin "không cần thiết"

Động vật cao cấp bao gồm cả người chỉ có thể tổng hợp được một số acid amin và bằng nhiều cách khác nhau: amin hoá, trao đổi amin và bằng những con đường khác. Sau đây là những con đường tổng hợp các acid amin không cần thiết.

– *Glutamat:* được tạo thành bằng cách amin hoá α-cetoglutarat với sự xúc tác của L-glutamat dehydrogenase. Quá trình này ngược lại quá trình khử amin oxy hoá glutamat.

Phản ứng này có tầm quan trọng cơ bản đối với sinh tổng hợp các acid amin của mọi sinh vật, vì nó là phản ứng đầu tiên tạo nhóm α amin trực tiếp từ NH_3. Sau đó phản ứng trao đổi amin giữa glutamat với các acid α-cetonic khác là con đường chủ yếu đưa nhóm α-amin của glutamat vào nhiều acid amin khác. Bằng cách đó nitơ vô cơ dưới dạng NH_3 đã thông qua glutamat vào các acid amin để rồi có mặt trong các phân tử protein và trong nhiều chất có vai trò sinh học quan trọng của cơ thể.

Pyruvat là chất trực tiếp cung cấp acetyl CoA đưa vào chu trình acid citric để tạo α-cetoglutarat cho phản ứng trên. Điều này giải thích lý do tại sao thực vật và vi sinh có thể tổng hợp một lượng acid amin từ glucose và NH_3.

– *Glutamin:* được tạo thành do sự kết hợp giữa glutamat và NH_3 bằng liên kết amin nhờ sự xúc tác của glutamin synthetase.

Phản ứng này cũng là một cách đưa nitơ vô cơ vào phân tử hữu cơ của sinh vật. Vì nitơ amin của glutamin sau đó cũng được cơ thể sử dụng để tổng hợp nhiều hợp chất hữu cơ quan trọng khác của cơ thể như tổng hợp nhân purin, pyrimidin, glucosamin... hoặc chuyển cho α-cetoglutarat để thành L-glutamat.

– *Prolin:* tiền chất cho sinh tổng hợp prolin là glutamat. Quá trình tổng hợp prolin ngược lại với quá trình thoái hoá của nó.

4-hydroxyprolin có trong colagen, được tạo thành từ các gốc prolin có trong các protein dưới tác dụng của prolin 4-monooxygenase. Enzym xúc tác cho phản ứng hydroxy hoá này chỉ có tác dụng trên các gốc prolin trong các chuỗi polypeptid.

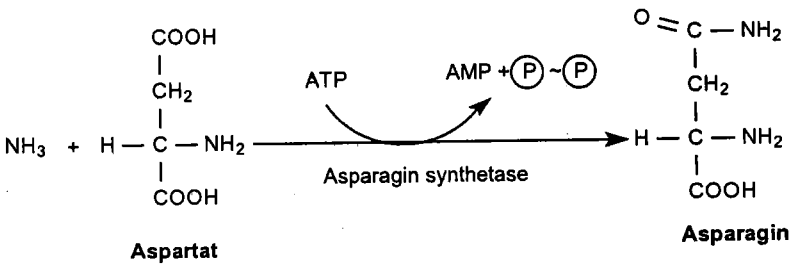
– *Alanin:* được tạo thành nhờ quá trình trao đổi amin giữa glutamat và pyruvat nhờ GPT xúc tác. Phản ứng thuận nghịch.

– *Aspartat:* sự trao đổi amin giữa glutamat và oxaloacetat tạo aspartat. Enzym xúc tác là GOT và phản ứng thuận nghịch.

Ở vi khuẩn và thực vật, aspartat là tiền chất cho sinh tổng hợp threonin, isoleucin, methinin và lysin. Bốn acid amin này cần thiết đối với người.

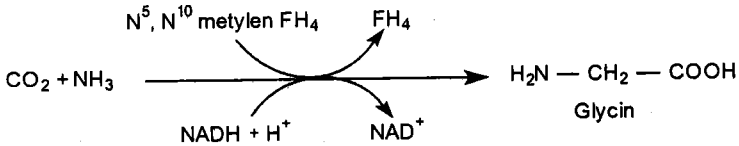
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Asparagin:* được tạo thành do sự kết hợp giữa aspartat và NH_3. Asparagin là chất dự trữ NH_3 quan trọng của thực vật.



– *Glycin:* được tổng hợp trong các mô động vật bằng nhiều con đường.

+ Từ CO_2 và NH_3 với sự tham gia của N^5, N^{10} methylen FH_4 và NADH. Enzym xúc tác là glycin synthetase có coenzym là pyridoxal phosphat. Phản ứng xảy ra ở tế bào gan.



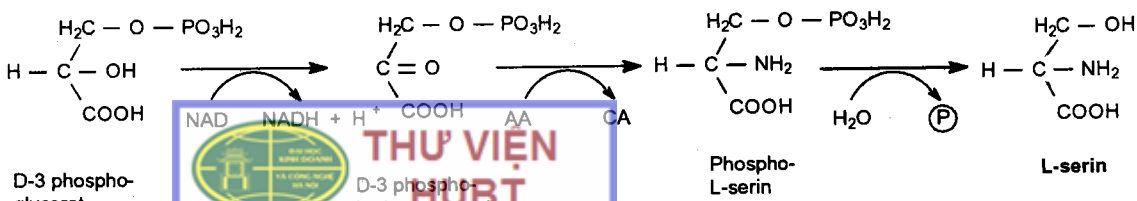
+ Từ serin: glycin cũng có thể được tạo thành từ serin nhờ tác dụng của enzym serin hydroxymethyl transferase. Enzym này xúc tác sự chuyển nhóm hydroxymethyl (-CH_2 OH) của serin đến FH_4. Nhận nhóm một carbon này FH_4 chuyển thành N^5, N^{10} methylen FH_4. Bằng cách này serin trở thành chất cung cấp nhóm một carbon quan trọng của cơ thể.

+ Ngoài ra, glycin còn được tạo thành từ cholin hoặc theo con đường khác.

– *Serin:* được tạo thành như sau:

+ Từ glycin: theo phản ứng thuận nghịch trên.

+ Từ 3 phosphoglycerat, chất trung gian của con đường Đường phân (hình 10.43).



THƯ VIỆN
HVBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.43. Tổng hợp serin từ 3 phosphoglycerat

(AA = acid amin; CA = acid αcetonic)

– *Tyrosin:* được tạo thành từ phenylalanin nhờ phản ứng hydroxyl hoá với sự xúc tác của phenylalanin hydroxylase. Phản ứng này không thuận nghịch nên tyrosin không thể thay thế được nhu cầu về phenylalanin trong dinh dưỡng.

– *Cystein:* được tạo thành từ quá trình thoái hoá của methionin.

4.2.2. Tổng hợp các acid amin cần thiết và bán cần thiết

– Những con đường tổng hợp các acid amin cần thiết chủ yếu được xây dựng từ các công trình nghiên cứu về hoá sinh và di truyền ở các vi khuẩn. Nói chung các con đường tổng hợp các acid amin này tương tự nhau trong phần lớn các loài vi khuẩn và thực vật thượng đẳng.

– Đối với hai acid amin bán cần thiết, quá trình tổng hợp xảy ra như sau:

+ *Arginin:* được tạo thành từ ornitin theo các phản ứng của chu trình urê. Nhưng động vật có vú lại không có khả năng tổng hợp được ornitin từ glutamat như ở vi sinh. Một phần ornitin được tạo thành ở gan động vật có vú nhờ các phản ứng thuận nghịch của thoái hoá ornitin. Nhưng con đường tổng hợp này không đáp ứng đủ nhu cầu arginin đối với cơ thể đang phát triển của trẻ em và các động vật đang lớn.

+ *Histidin:* với người trưởng thành hoặc chuột trưởng thành thiếu histidin ở thức ăn trong một thời gian ngắn, cân bằng nitơ vẫn được duy trì và không thấy rối loạn đối với cơ thể. Với động vật đang tăng trưởng, histidin lại là acid amin cần thiết. Cơ chế sinh tổng hợp histidin trong cơ thể động vật vẫn còn chưa rõ, nhưng người ta đã biết sự tổng hợp histidin ở vi sinh.

4.3. Acid amin là tiền chất của nhiều hợp chất khác

Ngoài nhiệm vụ cơ bản là nguyên liệu cho tổng hợp protein, các acid amin còn là tiền chất cho sinh tổng hợp nhiều chất có chức năng sinh học quan trọng khác trong cơ thể. Sau đây là một số cơ chất quan trọng được tạo thành từ acid amin:

– *Tổng hợp porphyrin:*

Glycin cùng với succinyl CoA là những nguyên liệu cần thiết cho sự tổng hợp porphyrin. Trong phân tử porphyrin có 4 nguyên tử nitơ và 8 nguyên tử carbon của glycin tham gia (xem tổng hợp hemoglobin).

Từ porphyrin tạo hem, hem có trong thành phần của hemoglobin, myoglobin, các cytocrom, catalase...

– *Tổng hợp purin và pyrimidin:*

Glycin, aspartat, glutamin và có thể cả serin là các acid amin cần cho tổng hợp purin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Aspartat cũng cần cho tổng hợp base pyrimidin (xem tổng hợp acid nucleic).

Các base purin và pyrimidin là thành phần cấu tạo của acid nucleic, các nucleosid phosphat (ATP, UTP...), các coenzym nucleotid (NAD, FAD...).

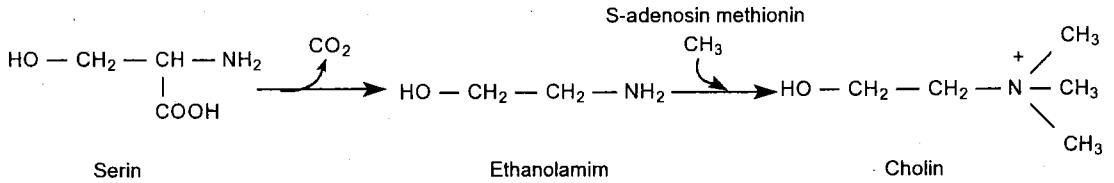
– *Tổng hợp acid nicotinic:*

Cơ thể người và động vật có thể tổng hợp được acid nicotinic (vitamin PP) từ tryptophan. Người ta đã thấy, với chế độ ăn thiếu các protein giàu tryptophan cũng có thể gây ra hiện tượng giống như thiếu vitamin PP. Chính tryptophan đã góp phần cung cấp acid nicotinic cho cơ thể.

Amid của acid nicotinic là nicotinamid. Chất này là cấu tử của coenzym ADN và NADP.

– *Tạo ethanolamin và cholin:*

Serin bị khử carboxyl thành ethanolamin. Chất này lần lượt thêm ba gốc methyl thành cholin. Thực nghiệm với gan chuột (Wilson 1960) cho thấy methionin dưới dạng hoạt hoá S-adenosin methionin là chất trực tiếp cung cấp các nhóm methyl hoạt hoá (CH_3) để tạo cholin.



Hình 10.44. Tạo cholin từ serin với sự tham gia của methionin

Serin, ethanolanin và cholin có trong thành phần cấu tạo của các phospholipid (xem chương lipid).

Các phospholipid là thành phần quan trọng của lipoprotein tế bào, ngoài ra chúng còn là thành phần cấu tạo của các lipoprotein huyết tương. Các lipoprotein huyết tương có vai trò quan trọng trong việc vận chuyển mỡ từ gan đến các mô, tránh ứ đọng mỡ ở gan. Thiếu cholin là một trong các nguyên nhân gây thoái hoá mỡ gan. Các chế độ ăn nghèo protein (trong đó có methionin) hoặc ít lecithin (trong đó có cholin) sẽ dễ dàng dẫn đến thoái hoá mỡ ở gan.

– *Tổng hợp creatin:*

Bằng kỹ thuật đồng vị, người ta thấy có 3 acid amin: arginin, glycin và methionin tham gia vào sự tổng hợp creatin. Methionin dưới dạng S-adenosin methionin là chất cung cấp nhóm methyl cho quá trình tạo creatin (hình 10.45).

Trong cơ, não và máu, creatin tồn tại 2 dạng: creatin tự do và creatin phosphat. Creatin phosphat là dạng dự trữ năng lượng của cơ thể ở trong cơ.

– *Tổng hợp glutathion:*

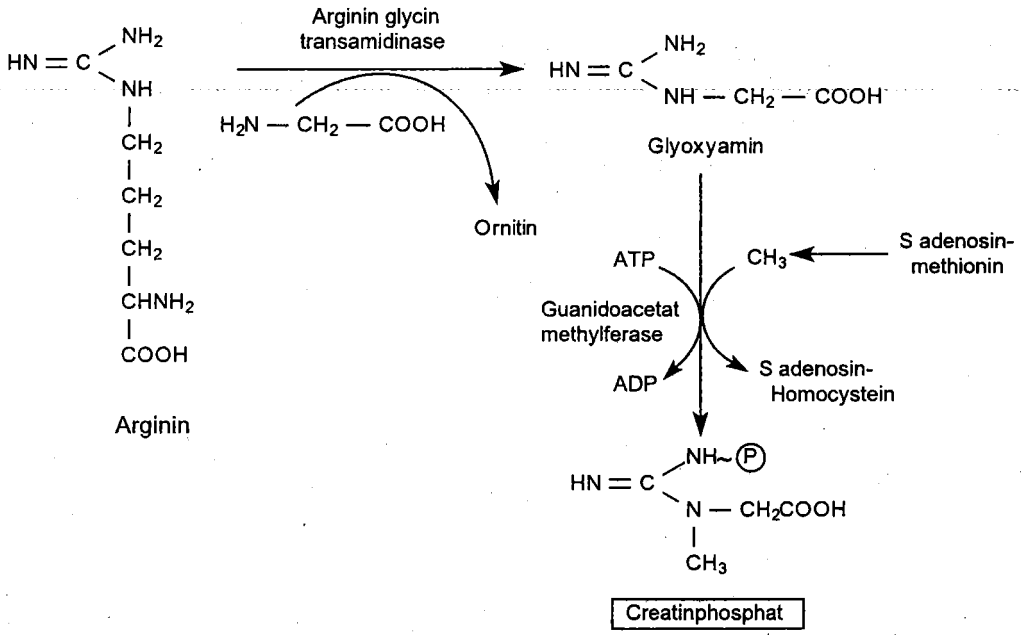
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Glutathion là một tripeptid, được tạo thành trong cơ thể từ 3 acid amin: glutamat, cystein và glycin. Glutation tồn tại trong cơ thể dưới dạng oxy hoá và khử. Nhờ nhóm -SH của gốc cystein, nó có khả năng nhường và nhận hydro (xem chương hoá học protein).

Nhiều enzym, nhất là enzym oxy hoá khử (dehydrogenase) chỉ hoạt động khi các nhóm -SH của nó ở dạng khử.

Các tác nhân oxy hoá biến chúng thành dạng oxy hoá, mất hydro và hình thành cầu disunfur làm enzym mất hoạt tính.

Nhờ khả năng oxy hoá khử thuận nghịch của mình mà glutathion có khả năng trả lại nhóm -SH tự do cho các enzym này và đưa chúng trở về dạng hoạt động. Ngoài ra các glutathion còn có tác dụng bảo vệ lipid, chống hiện tượng tự oxy hoá của lipid.



Hình 10.45. Tổng hợp creatin

– *Tạo taurin:*

Taurin là sản phẩm thoái hoá của cystein. Tại gan, các acid mật liên hợp với taurin hoặc glycin để tạo các acid mật liên hợp. Trong mật, các acid mật liên hợp được trung hoà bởi Na^+ hoặc K^+ để tạo các muối mật. Các muối mật giúp nhũ tương hoá lipid tạo điều kiện cho lipase của ống tiêu hoá hoạt động được dễ dàng (xem chương lipid).

5. Sinh tổng hợp protein đặc hiệu

Sinh tổng hợp protein là một vấn đề cơ bản trong sinh học phân tử vì protein cùng với acid nucleic là chất liệu cơ bản của sự sống. Chức năng protein vô cùng quan trọng và phong phú. Chức năng hàng đầu là sự xúc tác các phản ứng hoá học trong cơ thể sống vì enzym bản chất là protein. Protein còn tham gia vào cấu trúc của tế bào và mô. Ví dụ, ở E. coli có tới hơn 3.000 loại protein khác nhau. Các protein này làm nhiệm vụ xây dựng tế bào và xúc tác hàng ngàn phản ứng hoá học khác nhau. Việc nghiên cứu sinh tổng hợp protein trong nhiều năm gần đây đã đạt được những thành tựu to lớn.

THƯ VIỆN HUBT

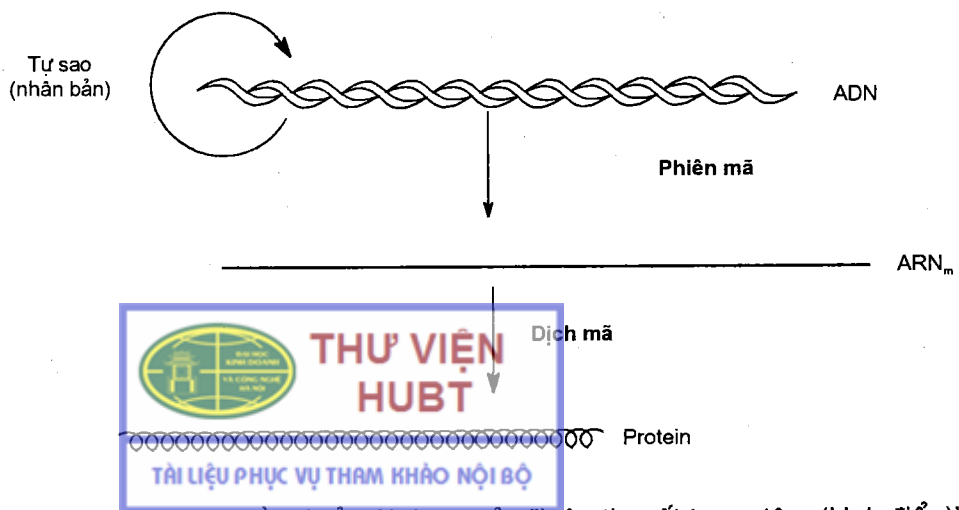
5.1. Tính đặc hiệu của protein

Người ta khẳng định rằng: mỗi phân tử protein có thành phần, tỷ lệ và trình tự sắp xếp của các acid amin khác nhau, làm cho không những protein của các loài khác nhau mà ngay cả các loại protein ở trong cùng một cơ thể cũng có những tính chất và chức năng khác nhau không thể thay thế cho nhau được, gọi là tính chất đặc hiệu của protein.

Mọi nguyên nhân của tính đặc hiệu đó chính là ở trình tự và tỷ lệ giữa các acid amin trong phân tử protein. Một vấn đề lớn đặt ra khi nghiên cứu sự sinh tổng hợp protein đó là: bằng cách nào cơ thể sống đã "xâu" lại trong các chuỗi polypeptid chứa hàng tăng "hạt" acid amin theo một trật tự đã cho mà không hề sai sót? Nói cách khác, bằng cách nào một dãy liên tục các nucleotit trong phân tử acid nucleic lại được phản ánh chính xác trong một dãy liên tục các acid amin của phân tử protein? Muốn trả lời câu hỏi trên cần phải biết quá trình tạo ra được cấu trúc bậc nhất của phân tử protein. Về phần mình cấu trúc bậc nhất của protein vốn đã được chương trình hoá trong phân tử acid nucleic.

5.2. Luận thuyết trung tâm

Như đã biết, ADN nằm trong nhiễm sắc thể ở trong nhân. Quá trình sinh tổng hợp protein lại diễn ra ở tế bào chất. Nếu thông tin được mã hoá trong ADN dùng để chỉ huy tổng hợp protein ở ribosom thì thông tin đó phải được chuyển từ nhân đến ribosom nhờ một chất chuyền trung gian. Thực nghiệm đã cho thấy: hàm lượng ARN tăng cao khi trong tế bào đang diễn ra quá trình sinh tổng hợp protein. Ngày nay người ta đã biết rằng thông tin di truyền chứa trong ADN được chuyển lại cho ARN thông tin (ARN_m). Chính ARN_m là chất truyền trung gian (được coi là phiên bản của ADN, nên nay còn gọi là quá trình phiên mã) đã trực tiếp chỉ huy gắn các acid amin theo một trật tự nhất định, cho phép tổng hợp protein đặc thù (gọi là sự dịch mã). Như vậy từ ADN đến protein có hai quá trình nối tiếp là: phiên mã và dịch mã.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

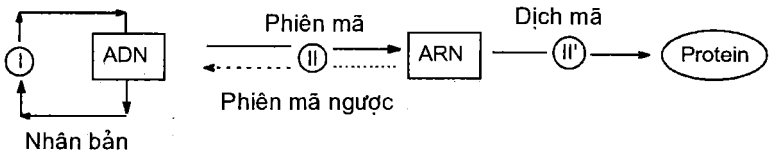
Hình 10.46. Sơ đồ mô tả nội dung của "luận thuyết trung tâm (kinh điển)"

Vấn đề trên được Crik nêu lên trong "luận thuyết trung tâm" của sinh học phân tử, công bố vào năm 1958. Nội dung chủ yếu của luận thuyết là:

Thông tin được giữ trong acid nucleic (ADN hoặc ở một số virus là ARN) có thể truyền theo hướng acid nucleic → protein. Nhưng thông tin không thể truyền theo hướng ngược lại từ protein đến acid nucleic.

Thông tin được sao trên ARN_m chỉ có thể "dùng để dịch" ra protein mà không thể quay trở lại dùng để tổng hợp gen được (hình 10.46).

Nhưng đến nay người ta đã khám phá ra quá trình sao mã ngược ở virus. Kết quả thực nghiệm thấy rằng: khi xâm nhập vào tế bào chủ, gen của virus gồm một chuỗi ARN được dùng làm khuôn để tổng hợp ADN hai chuỗi hoặc tái tạo lại ARN bằng chính nguyên liệu và các enzym của tế bào chủ. Mặc dù sản phẩm của sự sao mã ngược, cũng như tái tạo ARN của virus không được tế bào sử dụng nhưng điều đó cũng chỉ ra rằng: nếu có những enzym thích hợp, hoàn toàn có thể truyền hoặc tái tạo lại thông tin giữa các dạng acid nucleic khác nhau và giống nhau. Cũng bởi những phát hiện trên, năm 1970 Crik đã phải bổ sung thêm cho "luận thuyết trung tâm" như sau (hình 10.47):



Hình 10.47. Luận thuyết trung tâm bổ sung

Theo "luận thuyết trung tâm" của sinh học phân tử, thông tin của gen chứa trong acid nucleic có thể truyền cho hàng loạt thế hệ. Phổ biến cho hầu hết tế bào là thông tin truyền theo hướng: ADN → ADN; ADN → ARN → protein. Còn khả năng: ARN → ARN; ARN → ADN chỉ đặc trưng cho gen của virus (xảy ra trong điều kiện đặc biệt khi tế bào bị nhiễm virus).

Thông tin di truyền được lưu giữ và truyền lại theo kênh thời gian cho thế hệ sau theo cơ chế tái tạo (nhân bản) ADN (kênh I); và theo kênh không gian (từ genotip thành phenotip) theo cơ chế phiên mã và dịch mã (kênh II, II').

5.3. Các yếu tố tham gia quá trình sinh tổng hợp protein

Có nhiều phương pháp và kỹ thuật được sử dụng trong việc nghiên cứu sinh tổng hợp protein đặc hiệu. Người ta dùng đối tượng nghiên cứu là cơ thể toàn vẹn, lát cắt mô, tế bào, v.v.... nhưng phương pháp nghiên cứu có hiệu quả nhất là phương pháp dùng hệ thống vô bào. P.C.Zamecnik và cộng sự là những người đầu tiên phát triển việc nghiên cứu sinh tổng hợp protein ở hệ thống vô bào, đã xác định được các hạt ribnucleoprotein (ribosom) là nơi sinh tổng hợp protein và đã phát hiện ra ARN hoà tan (ARN_s). Đến nay người ta đã phát hiện được rất nhiều yếu tố tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein, đã xác định được những điểm cơ bản về diễn biến và cơ chế cũng như vai trò của các yếu tố tham gia quá trình đó như sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA CỨU NỘI BỘ

Yếu tố thứ nhất: acid deoxyribonucleic (ADN) với vai trò quyết định về thông tin di truyền.

ADN được phát hiện từ lâu trong nhân tế bào (do F.Miescher, 1868) nhưng mãi đến năm 1944 nó mới được xác định là chất liệu thông tin di truyền nhờ thí nghiệm của O.T.Avery, C.M.Mac Leod và M.Me.Carty trên phế cầu khuẩn. Chiết xuất ADN từ những tế bào chủng phế cầu khuẩn bằng nhiệt (chủng cho khuẩn lạc S) rồi trộn ADN đó với chủng phế cầu không độc (chủng cho khuẩn lạc R) và nuôi cấy thì thấy chủng không độc R biến thành chủng độc S. Sự chuyển dạng này có đặc tính di truyền. Các thế hệ sau của chúng đều là các phế cầu khuẩn S độc, có khả năng gây bệnh. Krauss quan sát thấy rằng đưa ADN chiết xuất từ hồng cầu non (hồng cầu lưới) của người bình thường vào tuỷ xương của người bệnh thiếu máu hình liềm (có hemoglobin S không bình thường) thì hồng cầu non trong tuỷ xương người bệnh tổng hợp được hemoglobin A bình thường. Các quan sát trên cho thấy: ADN là cơ sở vật chất của di truyền và ADN quyết định cấu trúc đặc hiệu của protein được tổng hợp. Thông tin sinh học (mã di truyền) thể hiện ở thành phần, tỷ lệ và trình tự sắp xếp của các cặp nucleotid trong phân tử chất liệu di truyền (ADN).

Yếu tố thứ hai: ARN thông tin (ARN_m)

Ở các tế bào có nhân hầu hết ADN tập trung ở nhân tế bào, nhưng sự tổng hợp protein lại xảy ra ở bào tương. ADN quyết định cấu trúc đặc hiệu của protein, vậy thì chất trung gian giữa ADN và protein phải được tổng hợp ở nhân của tế bào, rồi chuyển ra bào tương. Chất trung gian đó là chất gì? Năm 1950 Brachet và Caperson, bằng phương pháp hoá học tế bào, đã chứng minh rằng sự tổng hợp protein trong bào tương cũng xảy ra mạnh mẽ cùng với sự tổng hợp ARN. Như vậy có thể có sự liên quan giữa ARN và sự tổng hợp protein. Một thời gian khá dài người ta cho rằng chất trung gian là ARN ribosom (ARN_r). Nhưng ARN_r về cấu trúc chỉ có vài dạng chính không thể mang thông tin để tổng hợp các phân tử protein vô cùng đa dạng được. Mặt khác ARN_r tồn tại khá lâu qua nhiều thế hệ, trong khi đó sự tổng hợp protein xảy ra nhanh chóng mạnh mẽ. Năm 1961 Jacob và Monod nêu vấn đề là có một loại ARN có đặc điểm tiến hoá nhanh chóng và có cấu tạo tương đồng với những đoạn ADN, sau này gọi là ARN thông tin (ARN_m). Người ta cũng xác định được ARN_m ở vi khuẩn và ở các cơ thể khác, xác định được vai trò của ARN_m bằng thực nghiệm: khi ủ ARN_m chiết xuất từ gan chuột với dịch tế bào của động vật khác thì thấy có sự tạo thành protein đặc hiệu của gan chuột. Như vậy, chính ARN_m của gan chuột đã thông tin về cấu trúc protein gan chuột và trực tiếp tham gia quá trình tổng hợp protein. ARN_m chính là chất trung gian truyền thông tin từ ADN sang chuỗi polypeptid. ARN_m có một số đặc tính:

– Quá trình tổng hợp cũng như phân huỷ ARN_m xảy ra nhanh chóng.

– ARN_m có đặc tính không thuần nhất, trọng lượng phân tử rất khác nhau.

– ARN_m có thành phần các mononucleotid phù hợp (tương đồng) với ADN (theo quy luận bổ sung).

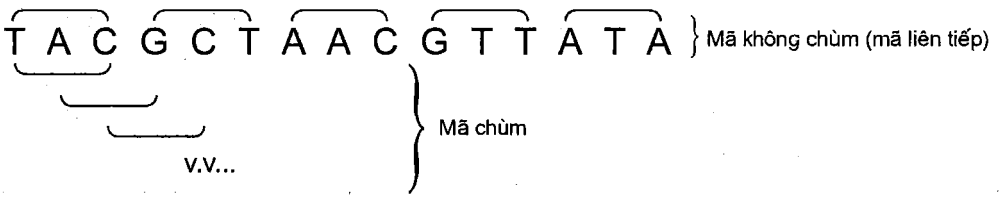
– ARN_m có khả năng tái tạo lại với AND: người ta đã chứng minh rằng ARN_m thuộc loại một sợi đơn và bổ sung với một trong hai chuỗi polynucleotid của ADN. Người ta còn chứng minh in vivo rằng: sự tổng hợp ARN_m đi trước sự tổng hợp một protein đặc hiệu tương ứng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– ARN_m chứa mật mã di truyền là phiên bản mật mã của ADN. Mỗi mã được gọi là một "Codon".

+ Bộ ba mật mã:

ADN tập trung chủ yếu trong nhân tế bào và là thành phần cơ bản của nhiễm sắc thể. Thí nghiệm với hệ thống vô bào, không có nhân tế bào hoặc không có ADN thì thấy quá trình sinh tổng hợp protein vẫn xảy ra. Như vậy ADN không tham gia trực tiếp vào quá trình tổng hợp protein. Vậy thì phải có sự liên quan giữa cấu trúc của ADN và cấu trúc của protein thông qua một yếu tố trung gian. ADN là một polynucleotid bao gồm nhiều mononucleotid sắp xếp theo một thứ tự nhất định. Protein là những chuỗi polypeptid gồm những acid amin nối với nhau theo thứ tự nhất định. Vậy thì phải có sự tương ứng giữa sự sắp xếp của các acid amin trên phân tử protein, sự tương ứng này gọi là sự mã hoá. Phân tử ADN chứa 4 loại mononucleotid ứng với 4 base A, G, C, T; trong khi đó protein chứa 20 loại acid amin. Giả thiết một tổ hợp gồm 2 mononucleotid khác nhau chỉ tạo nên 4^2 = 16 mã đôi. Nếu công nhận các tổ hợp gồm 3 mononucleotid tạo thành mã 3, ta sẽ có 4^3 = 64 mã ba, thừa đủ để mã hoá 20 acid amin. Có nhiều giả thiết về sự sắp xếp các bộ ba mật mã như sau:



Bộ ba mật mã có thể là mã không chùm (mã liên tiếp) hoặc mã chùm. Nếu là mã chùm thì một mononucleotid sẽ tham gia vào hai hoặc ba bộ mật mã. Sự thay đổi một mononucleotid của ADN sẽ làm thay đổi hai hoặc ba bộ ba mật mã và dẫn đến thay đổi hai hoặc ba acid amin liền nhau trên chuỗi polypeptid. Giả thiết mã chùm không phù hợp với thực tế sau đây: hemoglobin S trong hồng cầu người bệnh thiếu máu hình liềm, trong 574 acid amin trong phân tử chỉ có một acid amin khác với hemoglobin A bình thường. Từ thực tế này cùng kết quả nhiều nghiên cứu thực nghiệm sau này người ta đã thừa nhận giả thiết mã ba không chùm. Việc nghiên cứu bộ ba mật mã được nghiên cứu công phu trên phân tử ARN_m và đã giải mã đủ cho 20 acid amin thông thường.

Bằng thực nghiệm, người ta đã xác định được thứ tự chính xác của các mononucleotid trên bộ mật mã. Năm 1961 Nirenberg và Matthaei dùng ARN_m tổng hợp, gồm hoàn toàn các uridinmonophosphat (poly U). Đưa poly U, vào hệ thống vô bào chiết từ E. coli thấy có sự tổng hợp chuỗi polypeptid gồm hoàn toàn các phenylalamin. Điều đó đưa đến kết luận bộ ba UUU mã hoá phenylalamin. Cũng với phương pháp như vậy, ông và Ochoa đã xác định được các mã AAA với lysin, CCC với prolin. Trên chuỗi poly U gắn thêm một mononucleotid khác rồi cũng đưa vào hệ thống vô bào của E. coli theo dõi acid amin cuối cùng của chuỗi polypeptid để xác định bộ ba mật mã. Bằng nhiều phương pháp khác nữa, năm 1965 hai phòng thí nghiệm của các ông Nirenberg, Khorona và Ochoa đã xác định được toàn bộ các bộ ba mật mã cho 20 acid amin (bảng 10.1).

THƯ VIỆN HUBT

Bảng 10.1. *Bảng từ điển về các mã bộ ba (codon)*

Nucleotid thứ nhất	Nucleotid thứ hai				Nucleotid thứ ba
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	*	*	A
	Leu	Ser	*	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Agr	U
	Leu	Pro	His	Agr	C
	Leu	Pro	Gln	Agr	A
	Leu	Pro	Gln	Agr	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Agr	A
	Met	Thr	Lys	Agr	G
G	Val	Ala	Asn	Gly	U
	Val	Ala	Asn	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Theo bản trên, điểm đọc mã mở đầu là điểm cần thiết cho sự bắt đầu tổng hợp protein ở trên ARN_m, rồi lần lượt từng bộ ba từ mã này sang mã kia, từ đầu 5' đến đầu 3'. Điểm mở đầu chính là mã mở đầu AUG cho tất cả các loại tế bào. Trong mỗi bộ ba mật mã có ba chữ (tức ba mononucleotid), chữ thứ ba kém đặc hiệu hơn. Thí dụ alanin được mã hoá bởi 4 bộ ba mật mã GCG, GCU, GCA, GCC: hai chữ đầu GC chung cho 4 mã, chữ thứ ba là bất kỳ base nào. Có ba bộ ba không mã hoá một acid amin nào, đó là UAG, UAA và UGA. Những mã này gọi là mã kết thúc (mã đen, mã vô nghĩa).

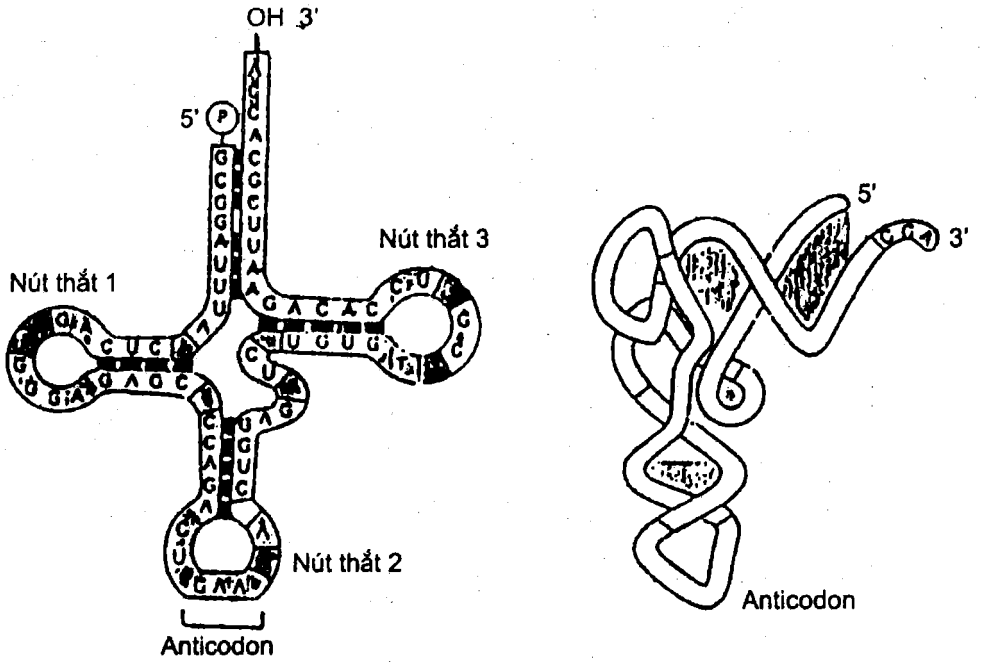
Yếu tố thứ ba: ARN vận chuyển (ARN_t)

ARN vận chuyển còn được gọi là ARN hoà tan (ARN_s) vì nó hoà tan trong dịch bào. Năm 1957 M.S.Hoagland và cộng sự đã làm thí nghiệm tổng hợp protein với hệ thống vô bào gồm: ribosom, acid amin ghi dấu, ARN hoà tan, ATP, $MgCl_2$ thì thấy các acdi amin, trước khi được sử dụng để tổng hợp protein, kết hợp với ARN hoà tan. Do chức năng vận chuyển acid amin này của ARN hoà tan, nên ARN này còn được gọi là ARN vận chuyển (ARN_t).

ARN_t được tổng hợp dựa trên khuôn là đoạn ADN nằm ngoài phạm vi hạch nhân của sợi ADN ở tế bào eukaryot theo quy luật đôi base bổ sung. ARN_t gắn đặc hiệu với acid amin nhất định. Người ta đã tìm được hơn 60 ARN_t khác nhau, trong đó hơn 50 ARN_t đã được xác định đầy đủ chuỗi polynucleotid, cấu dạng và các vùng đặc hiệu chức năng trên phân tử ARN_t.

THƯ VIỆN HUBT
TRUNG TÂM HỌC VỤ THÔNG TIN KHOA HỌC

Phân tử ARN_t là một chuỗi polynucleotid mà đầu 5' thường là gốc GMP, đầu kia bao giờ cũng là bộ ba ba nucleotid: CMP, CMP, AMP (đầu tận 3'). Đầu 3' là nơi gắn acid amin mà ARN_t vận chuyển. Chuỗi polynucleotid của ARN có nhiều chỗ cuộn xoắn lại ở dạng xoắn kép tạo nên cấu dạng 3 chiều đặc hiệu (hình lá chẽ ba) (hình 10.48).



Hình 10.48. Cấu dạng ba chiều của ARN_t, có hình "lá chẽ ba"

Cấu trúc chung của ARN_t gồm 4 "tay" (một số ARN_t có mạch dài hơn có thêm tay thứ năm) và ở các tay có các base cặp đôi (theo quy luật bổ sung "đôi base") ở các "chỗ gấp khúc" thì các base không cặp đôi.

– "Tay acid amin" có khoảng 7 đôi base, đầu 5' thường là GMP, đầu 3' là nucleotid trực tiếp gắn với acid amin đặc hiệu khi chúng vận chuyển.

– "Tay đối mã" và cuộn đối mã: tay đối mã có 5 đôi base bổ sung, cuộn đối mã có 7 nucleotid, trong đó có bộ ba đối mã "anticodon" đặc hiệu cho acid amin mà ARN_t mang theo. Anticodon liên kết được với codon tương ứng ở ARN_m trong quá trình tổng hợp protein (theo quy luật bổ sung đôi base nitơ).

Người ta đã xác định được tất cả 6 vị trí chức năng của ARN_t:

– Vị trí gắn với acid amin (hình 10.49).

– Vị trí nhận biết enzym, ở đó ARN_t gắn với enzym tương ứng là enzym aminoacyl - ARN_t - synthetase.

– Vị trí đối mã (còn gọi là bộ ba đối mã nằm trên "tay đối mã"), sẽ liên kết bổ sung theo quy luật đôi base với mã tương ứng ở ARN_m trong quá trình tổng hợp protein (hình 10.50).

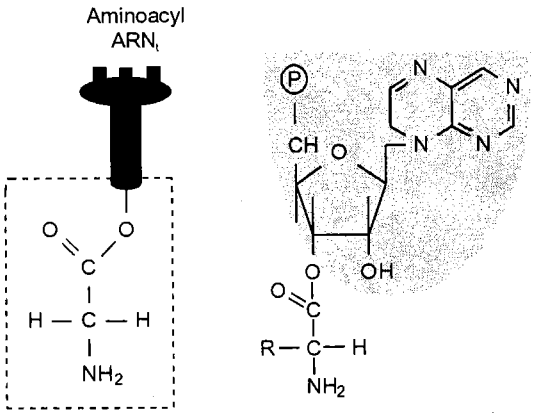
– Vị trí gắn với ribosom.

– Vị trí nhận biết các yếu tố tham gia vận chuyển aminoacyl - ARN_t trên ribosom.

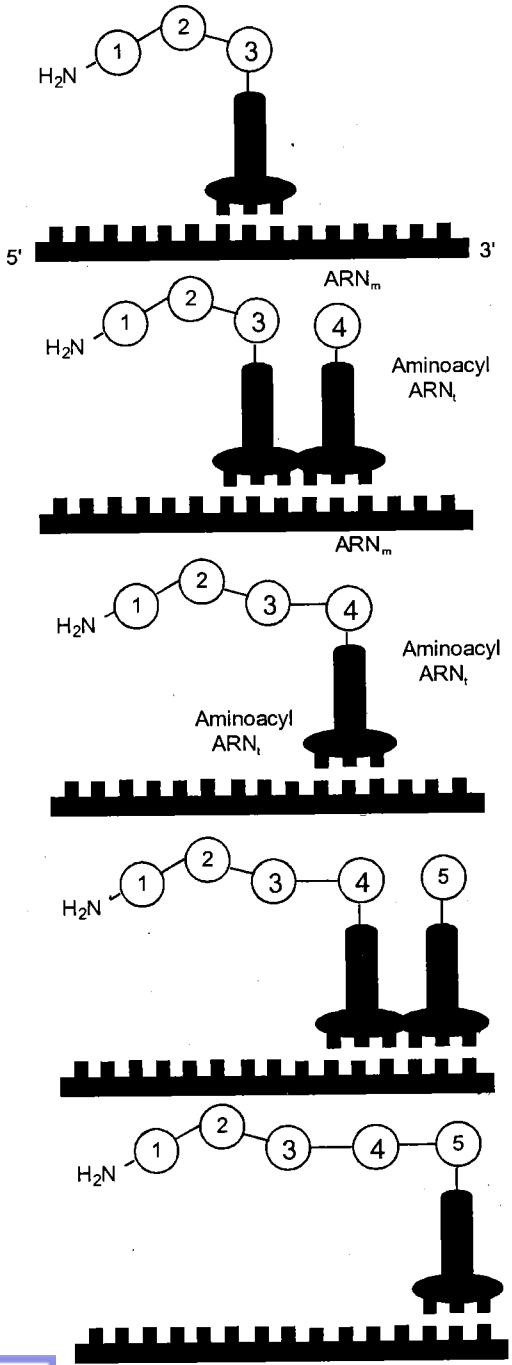
– Vị trí nhận biết các yếu tố kéo dài (EF.G) trong quá trình chuyển vị.

Chức năng của ARN_t là vận chuyển acid amin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.49: Đầu tận cùng 3' của ARN$_t$ là AMP nơi gắn với acid amin trong quá trình vận chuyển. Phần anticodon sẽ "tìm gặp" codon tương ứng trên phân tử ARN$_m$ để liên kết theo quy luật bổ sung (xem hình 10.50)

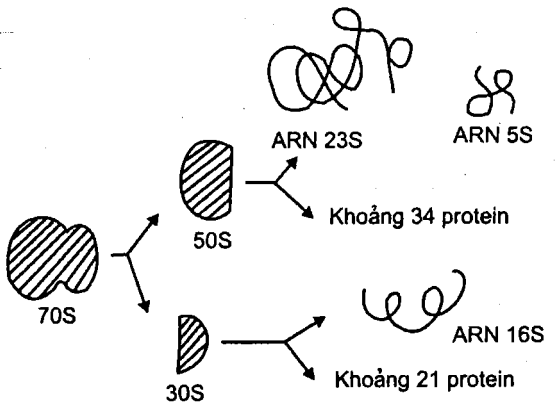


Hình 10.50. Các acid amin được đưa đến và sắp xếp theo một trật tự xác định, đã mã hoá bởi trình tự của các codon của phân tử ARN$_m$ (vốn là phiên bản của ADN)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

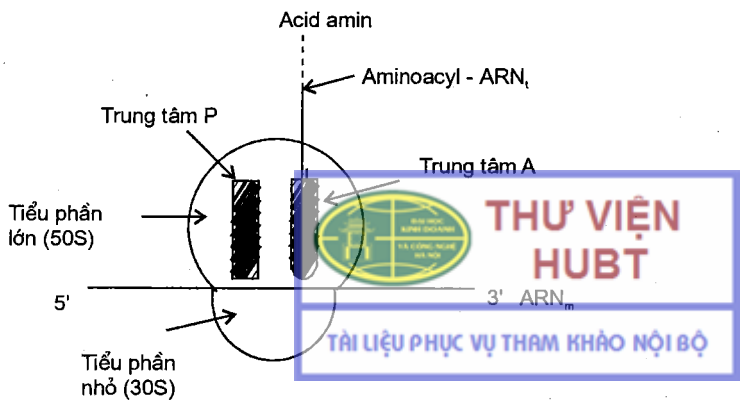
Yếu tố thứ 4: ARN ribosom (ARN_r) và ribosom

Ribosom là các hạt ribonucleoprotein có trong tất cả các loại tế bào, ribosom ở bào tương của các tế bào eukaryot lớn hơn ribosom ở tế bào prokaryot. Phần lớn ribosom ở bào tương ở dạng tự do hoặc gắn với lưới nội bào. Ribosom còn có trong nhân tế bào, ty thể và hạt diệp lục (chloroplaste). Ribosom của mọi tế bào đều có hai tiểu phần, ribosom 70S ở E.coli gồm hai tiểu phần: 50S và 30S. Tiểu phần 50S chứa một phân tử ARN_r 23S và một phân tử ARN_r 5S và 34 protein khác nhau. Tiểu phần 30S chứa một phân tử ARN_r 16S và 21 protein khác nhau. Tế bào eukaryot có ribosom 80S, gồm hai tiểu phần: 60S và 40S (hình 10.51).



Hình 10.51. Ribosom tạo thành bởi 55 protein và 3 phân tử ARN

Các phân tử ARN_r và protein của ribosom được sắp xếp theo cấu trúc không gian đặc biệt để đảm bảo những chức năng phức tạp của ribosom như gắn ARN_m, qua đó gắn với aminoacyl-ARN_t tạo liên kết với protein. Ribosom có tính đàn hồi tốt, thích ứng cho việc chuyển vị trên sợi ARN_m... Giữa hai tiểu phần lớn và nhỏ của ribosom có một rãnh tiếp nhận và là nơi gắn ARN_m. Ở tiểu phần lớn 50S có hai vị trí trung tâm còn gọi là trung tâm (A): tiếp nhận aminoacyl - ARN_t và trung tâm (P): ở đó mạch peptid lớn dần lên (hình 10.52).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.52. Sơ đồ cấu trúc của ribosom với ha vị trí P - A (còn gọi là trung tâm P và trung tâm A) và ARN_m

Trong quá trình tổng hợp protein thường có nhiều ribosom gắn trên phân tử ARN_m tạo nên polyribosom hay polysom.

Mỗi chuỗi polypeptid được tạo thành ở một ribosom. Một phân tử ARN_m gắn nhiều ribosom. Việc tạo thành polysom là một hình thức tăng hiệu suất của ARN_m. Nhiều chuỗi polypeptid giống nhau có thể được tạo thành liên tiếp từ một chuỗi ARN_m bởi các ribosom của polyribosom.

Yếu tố thứ 5: Các enzym

Hai enzym quan trọng trong quá trình tổng hợp protein là:

– *Aminoacyl - ARN_t synthetase* xúc tác sự tạo thành phức hợp aminoacyl - ARN_t (aa-ARN_t). Enzym này có tính đặc hiệu kép với cả acid amin lẫn ARN_t tương ứng. Nhưng đặc hiệu với ARN_t cao hơn với các acid amin, ứng với 20 acid amin có ít nhất 20 enzym loại này. Hầu hết các aminoacyl-ARN_t synthetase đã thu được dưới dạng tinh khiết.

– *Peptidyl transferase (peptidyl synthetase)* có ở tiểu phần lớn của ribosom, xúc tác phản ứng tạo thành liên kết peptid trong quá trình tổng hợp protein (gắn hai acid amin cạnh nhau với nhau).

Yếu tố thứ 6: Năng lượng và các ion:

– ATP cung cấp năng lượng cho quá trình hoạt hoá acid amin, tạo phức hợp aminoacyl - ARN_t.

– GTP cung cấp năng lượng và tạo phức hợp, giúp cho sự gắn fMet-ARN_t (fomylmethionin-ARN_t) và các aminocyl ARN_t khác vào ribosom, cung cấp năng lượng cho sự chuyển vị trí của ribosom.

– Mg^{2+} cần cho sự hoạt động của aminocyl - ARN_t synthetase, cần cho sự gắn fMet-ARN_t, aminocyl ARN_t và ARN_m vào ribosom.

– NH_4 hoặc K^+ giúp cho sự gắn aminoacyl ARN_t vào ribosom.

Yếu tố thứ 7: Nguyên liệu để tổng hợp protein.

Nguyên liệu để tổng hợp protein là 20 loại acid amin thông thường, dãy L.

Yếu tố thứ 8: Các yếu tố điều hoà sinh tổng hợp protein.

Bản chất các yếu tố điều hoà sinh tổng hợp protein cũng là những protein.

– *Yếu tố mở đầu IF (initation factor):*

Ở E. coli và các tế bào prokaryot có 3 yếu tố IF_1, IF_2 và IF_3 hay F_1, F2, F_3. Ở tế bào eukaryot cũng có ba yếu tố ký hiệu IFM_1, IFM_2, IFM_3 hay M_1, M_2, M_3. Các yếu tố này không phải là thành phần thường xuyên của ribosom, chúng cần cho sự tạo thành phức hợp mở đầu.

THƯ VIỆN HUBT

– *Yếu tố kéo dài EF (elongation factor):*

Ở tế bào prokaryot có 2 yếu tố EF.T và EF.G. Yếu tố EF.T có hai loại EF. Tu và EF.Ts (không bền với nhiệt). Cả hai đều có hoạt tính GTPase (thuỷ phân GTP giải phóng năng lượng cho sự vận chuyển acid amin - ARN_t đến ribosom). EF.G. cần cho sự chuyển vị.

Ở tế bào eukaryot có 2 yếu tố kéo dài ký hiệu là EF_1 và EF_2.

– *Yếu tố kết thúc hay yếu tố giải phóng RF (release fator) hay R*, cần cho sự kết thúc của sự tạo thành chuỗi polypeptid.

Ở tế bào prokaryot có 3 yếu tố kết thúc là RF_1, RF_2, RF_3 hay R_1, R_2, R_3.

5.4. Quá trình sinh tổng hợp protein ở bào tương (thực chất đây là quá trình dịch mã)

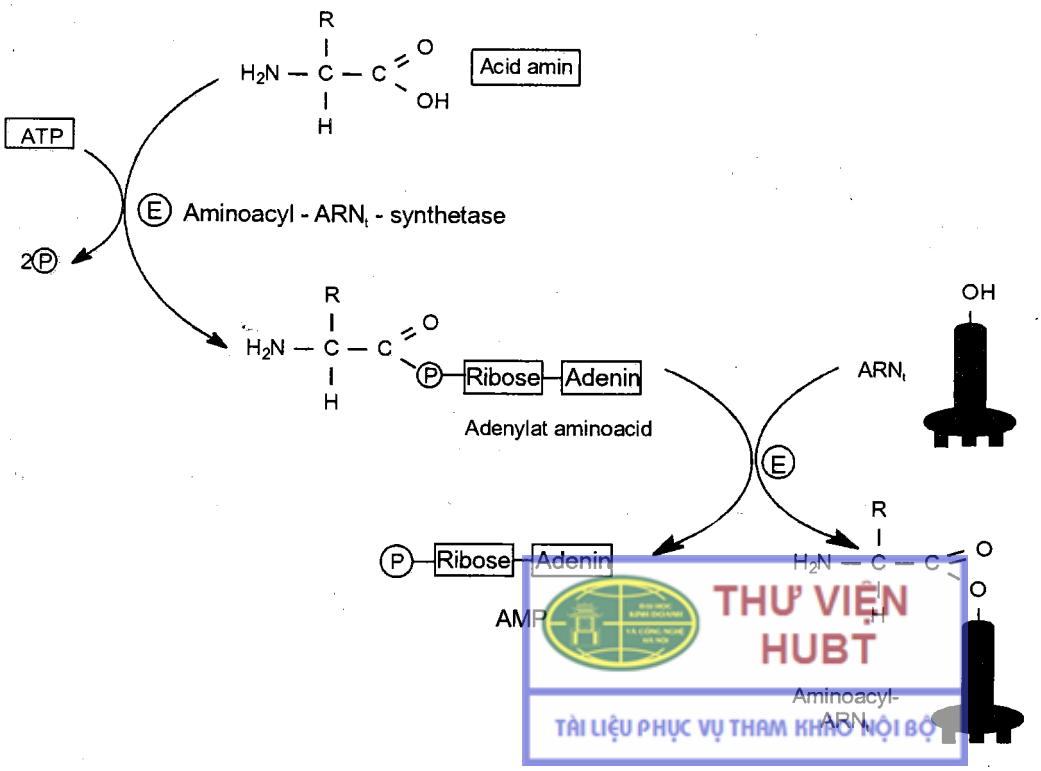
Sinh tổng hợp protein nói chung có thể mô tả qua hai quá trình: một là phiên mã và hai là dịch mã.

Phiên mã: là sự tổng hợp ARN_m trên khuôn ADN nhờ enzym ARN polymerase (xem phần chuyển hoá acid nucleic).

ARN_m được tổng hợp trên khuôn ADN theo quy luật bổ sung đôi base, xảy ra ở trong nhân tế bào vốn có phần intron và extron, sau khi hoạt hoá sẽ ra ngoài nhân mang theo các mã di truyền từ ADN.

Dịch mã: được hiểu là quá trình sinh tổng hợp protein (với nghĩa hẹp). Quá trình này còn gọi là sự giải mã, gồm 2 bước:

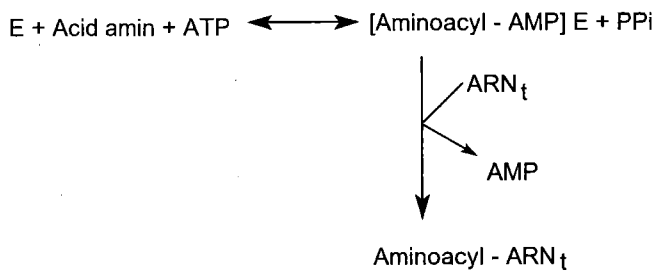
- *Bước 1. Hoạt hoá acid amin:* sự hoạt hoá acid amin xảy ra ở bào tương dưới tác dụng của enzym aminoacyl -ARN_t synthetase.



Hình 10.53. Sự gắn acid amin vào ARN_t (qua trung gian tạo aminoacyl - adenilat E)

Trước hết phản ứng tạo ra chất trung gian là aminoacyl adenylat gắn với trung tâm hoạt động của enzym (hoạt hoá acid amin). Sau đó tạo phức hợp aminoacyl-ARN_t. Aminoacyl-ARN_t synthetase đặc hiệu với acid amin không cao lắm nên ở bước thứ nhất có thể hoạt hoá đối với những acid amin tương tự nhau. Nhưng những acid amin được hoạt hoá "nhầm" này không chuyển sang ARN_t tương ứng. Điều này chứng tỏ aminoacyl - ARN_t synthetase đặc hiệu với ARN_t cao hơn. Có thể tóm tắt các giai đoạn hoạt hoá acid amin như hình 10.53.

Phản ứng có thể tóm tắt như sau:

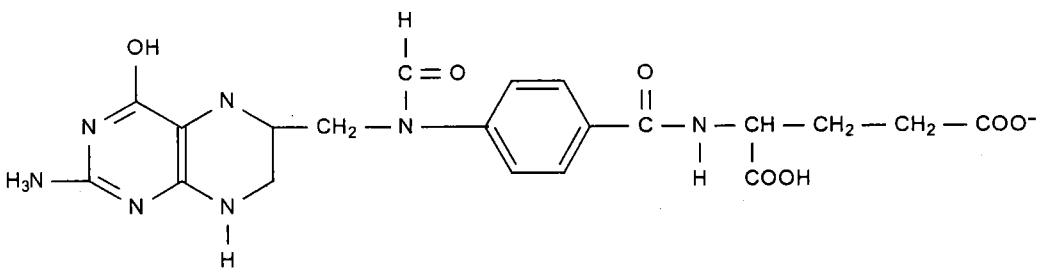


- *Bước 2. Gồm ba giai đoạn:*

– Giai đoạn mở đầu:

Ở E.coli và các tế bào prokaryot khác, sự tổng hợp protein đều bắt đầu bằng methionin, mã hoá bởi bộ ba AUG *(mã mở đầu)* nằm trên ARN_m. Methionin tham gia ở đầu chuỗi polypeptid dưới dạng formyl Methionyl -ARN_t (fMet-ARN_t).

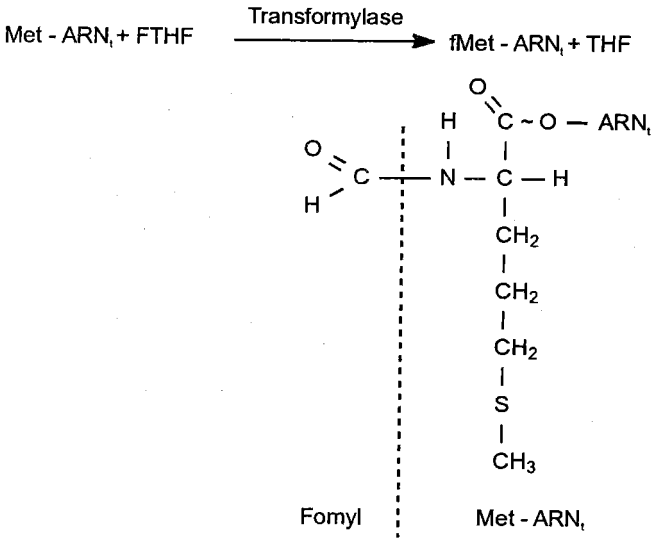
Met-ARN_t được gắn thêm nhóm formyl từ N^{10} - formyl tetrahydrofolat (FTHF) dưới tác dụng của transformylase (hình 10.54).



Hình 10.54: Công thức N^{10} formyl tetrahydrofolat (FTHF)

M.Normura và cộng sự thấy rằng ribosom phân ly thành hai tiểu phần 50S và 30S (đối với ribosom 70S) trước khi sự tổng hợp chuỗi polypeptid bắt đầu. Mặc dù có một số chi tiết chưa rõ nhưng người ta biết được trình tự các phản ứng dẫn đến sự hình thành ribosom 70S hoạt động. Đầu tiên tiểu phần 30S gắn với IF_3 và phức hợp này gắn với ARN_m, rồi với IF_1. Sau đó fMet - ARN_t và GTP gắn vào nhờ IF_2. Phức hợp fMet-ARN_t-GTP-IF_2 gắn với phức hợp 30S-IF_3-ARN_m-IF_1 để tạo nên phức hợp mở đầu. Phức hợp mở đầu kết hợp với tiểu phần 50S, trong quá trình này các yếu tố mở đầu IF_1, IF_2, IF_3 được giải phóng, tạo nên ribosom 70S hoạt động. GTP thuỷ phân thành GDP và P. Có tác giả cho rằng mới đầu fMet-ARN_t ở vị trí A của ribosom, sau đó được chuyển sang vị trí P nhờ năng lượng do GTP thuỷ phân. Như vậy kết quả của giai đoạn mở đầu là fMet-ARN_t gắn vào vị trí P của ribosom ứng với mã mở đầu AUG của ARN_m (hình 10.56).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.55. Sự tạo thành formyl methionyl - ARN_t

– Giai đoạn hai: kéo dài chuỗi polypeptid

Đây là quá trình "lắp ráp" các acid amin theo một trình tự nhất định đã được mã hoá ở ARN_m để tạo thành chuỗi polypeptid đặc hiệu. Quá trình này còn là quá trình giải mã hay dịch mã, tức là chuyển các thông tin ở ARN_m (dưới dạng các mã) sang chuỗi polypeptid theo chiều từ 5' đến 3'.

Giai đoạn kéo dài chuỗi polypeptid này có thể chia thành 3 chặng ("3 động thái"):

+ Chặng đầu: gắn aminoacyl - ARN_t vào vị trí A của ribosom:

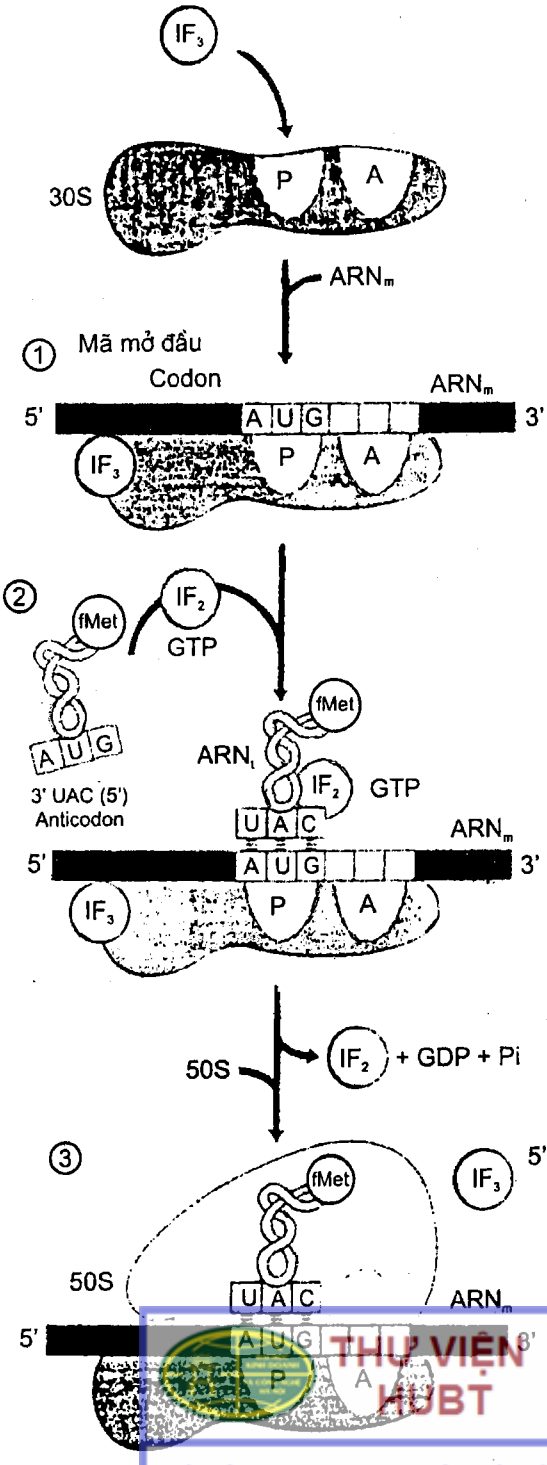
Ví dụ: ở vị trí A của ribosom có chứa bộ ba GCU (mã hoá với alanin) nằm trên ARN_m thì alanin sẽ được chuyển tới. Alanyl - ARN_t (Ala-ARN_t) gắn với yếu tố kéo dài EF.Tu. Quá trình như sau:

GTP kết hợp với EF.Tu tạo thành phức hợp EF.Tu - GTP. Phức hợp EF-Tu - GTP kết hợp với Ala - ARN_t tạo thành phức bộ ba EF.Tu - GTP - Ala - ARN_t. Phức hợp này gắn vào vị trí A sao cho đối mã của Ala - ARN_t bổ sung với mã GCU trên ARN_m bằng liên kết hydro theo quy luật đôi base. Lúc này GTP bị thuỷ phân thành P và GDP (năng lượng do GTP bị thuỷ phân để Ala-ARN_t gắn vào vị trí A), GDP vẫn gắn với EF.Tu và tách khỏi ribosom. Phức hợp EF.Tu - GDP tách khỏi ribosom gắn với EF.Ts tạo thành GDP - EF.Ts , sau đó phức hợp này kết hợp với GTP và Tu, giải phóng GDP và Ts, tái tạo trở lại phức hợp GTP - EF.Tu (hình 10.57).

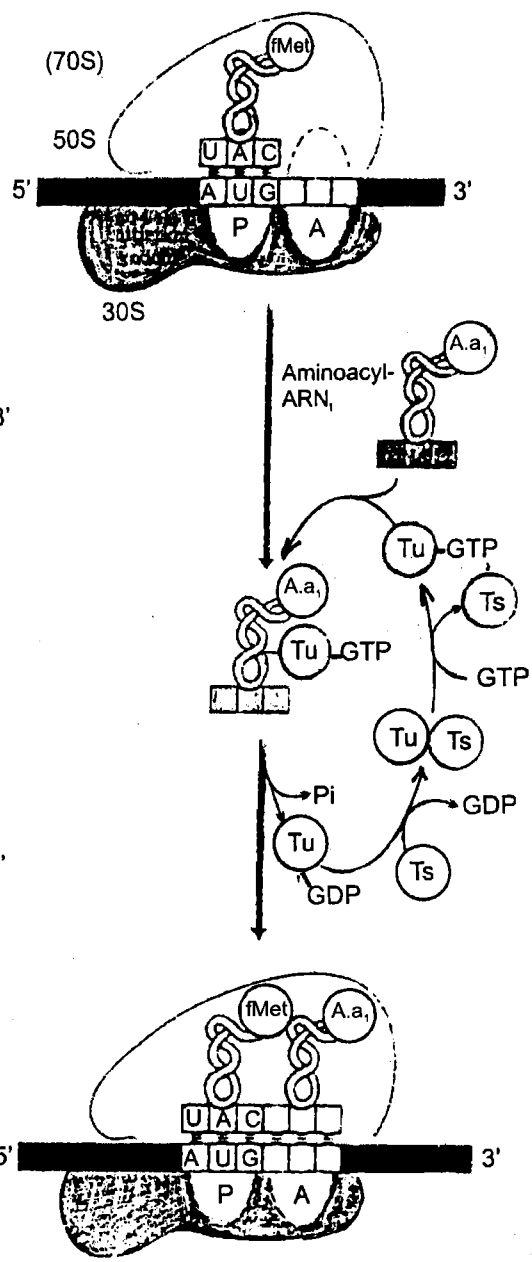
+ Chặng hai: tạo thành liên kết peptid:

Trên ribosom đã có fMet - ARN_t (ở vị trí P bổ sung với mã AUG) và Ala - ARN_t (ở vị trí A bổ sung với mã GCU trên ARN_m). Với sự xúc tác của peptidyltransferase (có ở tiểu phần 50S của ribosom) liên kết peptid được tạo thành giữa nhóm amin của Ala - ARN_t với nhóm carboxyl este hoá của fMet-ARN_t tạo thành peptidyl - ARN_t (fMet-Ala-ARN_t) vẫn gắn vào vị trí A và ARN_t tự do vẫn ở vị trí P. Phản ứng tạo liên kết peptid này không cần cung cấp năng lượng mà lấy từ năng lượng giải phóng do cắt liên kết este giữa fMet và ARN_t (hình 10.58).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 10.56. Giai đoạn mở đầu STH protein tạo thành phức 70S hoạt động

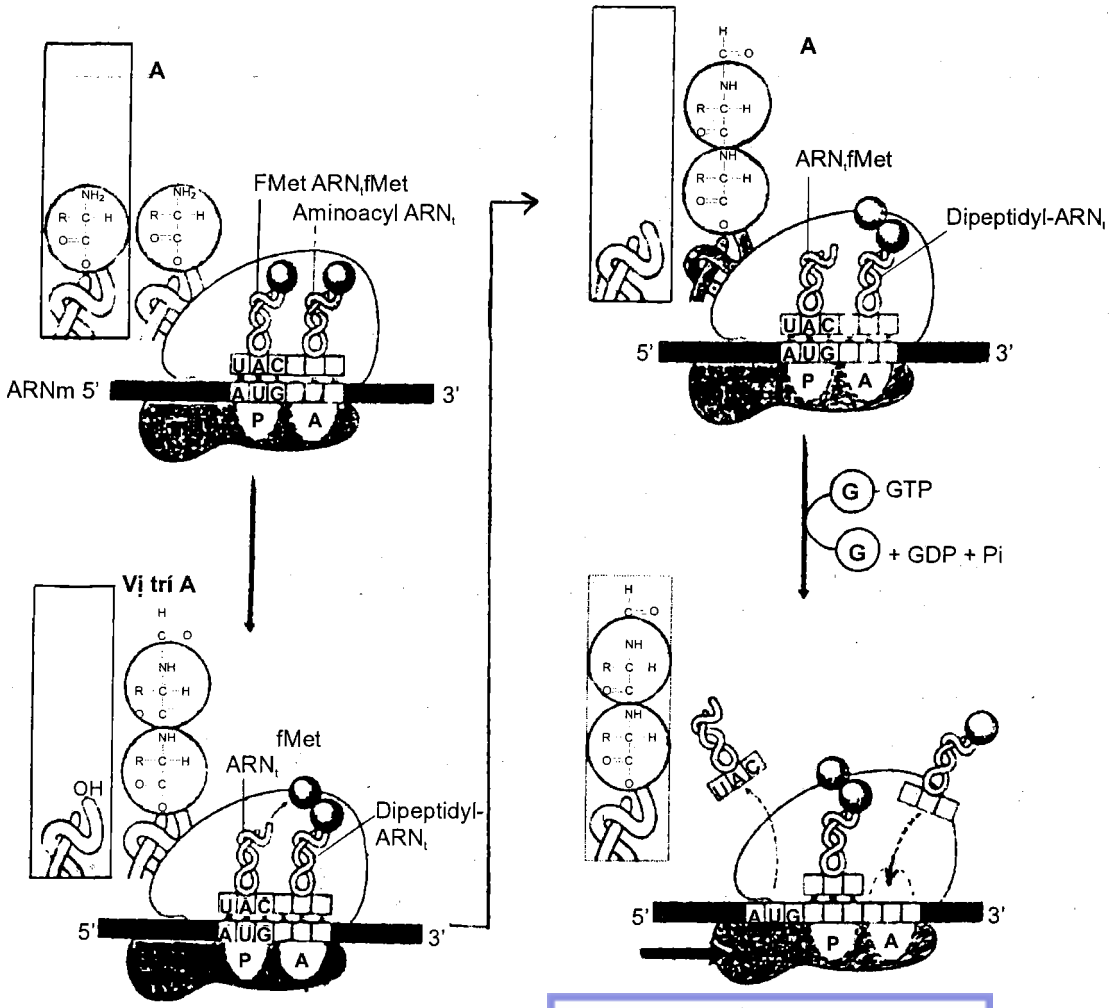


Hình 10.57. Chu trình phản ứng của yếu tố Tu (Tu-GTP) ở đầu giai đoạn kéo dài

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Chặng ba: chuyển vị

Sau khi liên kết peptid đã được tạo thành dipeptidyl - ARN_t ở vị trí A, ribosom "trượt" một khoảng tương đương với một bộ ba mã, do đó dipeptidyl - ARN_t chuyển từ vị trí A sang vị trí P. ARN vận chuyển fMet, EF.G tách khỏi ribosom, khi đó vị trí A "mở" (bỏ trống). Ví dụ ở vị trí A lúc này có bộ ba GUU trên ARN_m chẳng hạn (bộ ba GUU mã hoá với valin) sẽ sẵn sàng tiếp nhận valin - ARN_t và bắt đầu một chu kỳ mới (gồm 3 chặng như trên).



Hình 10.58. Giai đoạn kéo dài chuỗi polypeptid

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

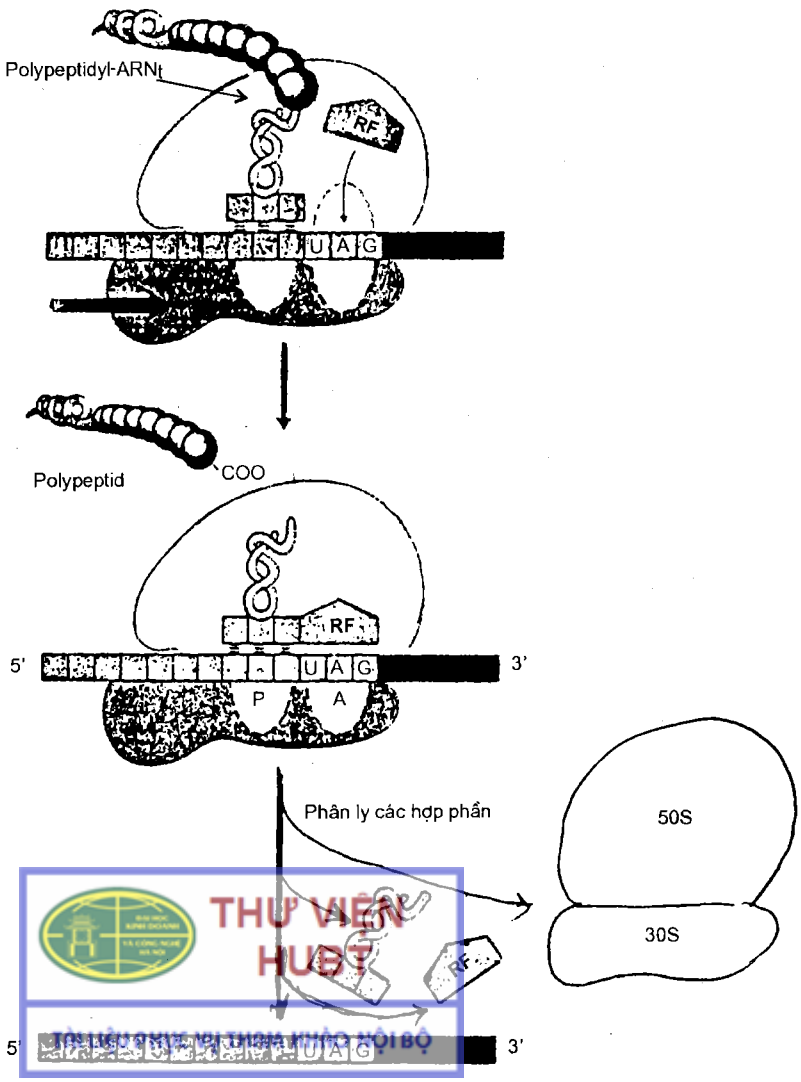
– Giai đoạn ba: kết thúc

Người ta chưa biết rõ một cách đầy đủ về việc hoàn thành và tách khỏi ribosom của mỗi polypetid, tuy nhiên cũng đã biết được những nét cơ bản. Sự kết thúc chuỗi polypetid được báo hiệu bởi một trong ba mã kết thúc UAG, UAA, hoặc UGA. Bắt đầu giai đoạn này, chuỗi peptidyl - ARN_t ở vị trí A. Các yếu tố R_1, R_2, R_3 gắn vào ribosom và tạo ra sự chuyển peptidyl - ARN_t sang vị trí P, mã kết thúc

ứng với vị trí A vẫn để "mở" nhưng sẽ không có aminoacyl - ARN_t nào vào vị trí A được nữa. Các yếu tố RF giúp cho chuỗi polypeptid được giải phóng, ARN_t cuối và ARN_m tách khỏi ribosom. Ribosom 70S tự do trở về trạng thái ban đầu (hình 10.59).

Với sự tham gia của các yếu tố mở đầu, ribosom 70S sẽ lặp lại quá trình mới qua những giai đoạn trên.

Chuỗi polypeptid sau khi tách khỏi ribosom có acid amin (ở đầu amin tận) là formylmethionin. Dưới tác dụng của deformylase, nhóm formyl tách khỏi chuỗi polypeptid và chuỗi polypeptid có đầu amin tận là methionin, thậm chí hầu hết các trường hợp methionin cũng bị tách ra khỏi chuỗi polypeptid nhờ methionyl aminopeptidase.



Hình 10.59. Giai đoạn kết thúc chuỗi polypeptid

Trên thực tế một phân tử ARN_m có thể được gắn đồng thời với nhiều tổ hợp ribosom "70S hoạt động" gọi là polysom (hình 10.60).

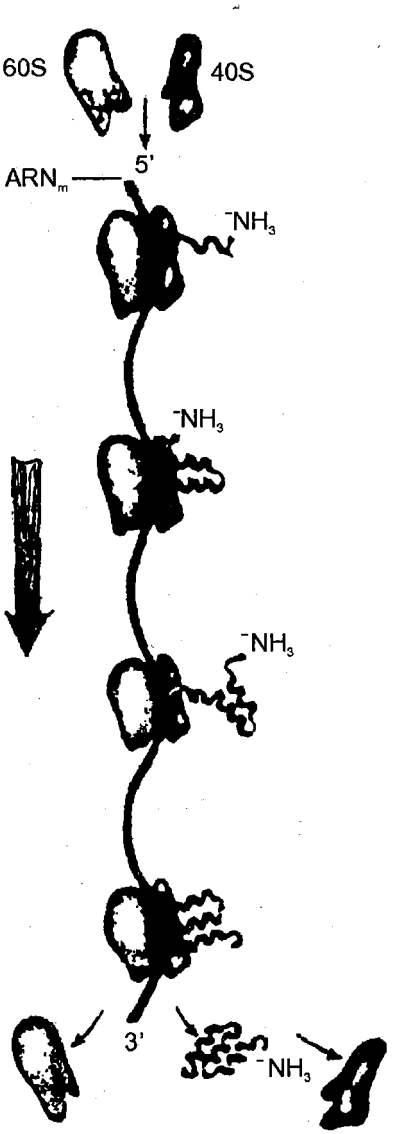
5.5. Một số chất ức chế quá trình tổng hợp protein

Một số kháng sinh có tác dụng ức chế tổng hợp protein, trong đó một số có hiệu quả chủ yếu trên vi khuẩn, số khác lại ức chế sự tổng hợp protein ở tế bào động vật (bảng 10.2).

– Chloramphenicol gắn vào tiểu phần lớn của ribosom, ức chế sự tổng hợp protein ở ribosom 70S của tế bào prokaryot (và cả ở ty thể của tế bào eukaryot) bằng cách ngăn cản sự liên kết ARN_m với ribosom và phong bế sự chuyển vị.

Chloramphenicol không ức chế sự tổng hợp protein trên ribosom 80S ở bào tương của tế bào eukaryot. Chloramphenicol được dùng để điều trị một số bệnh nhiễm khuẩn ở người, nhưng tương đối độc vì nó ức chế sự tổng hợp protein ở ty thể.

– Cycloheximid, tetracyclin gắn vào tiểu phần lớn của ribosom (ức chế sự tổng hợp protein ở ribosom 80S của tế bào eukaryot, không ức chế sự tổng hợp protein ở ribosom 70S của tế bào prokaryot), ức chế sự vận chuyển aminoacyl - ARN_t tới nơi tổng hợp, phong bế sự tạo thành liên kết petid.



Hình 10.61. Polysom. 4 tổ hợp ribosom trên một phân tử ARN_m

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Streptomycin, neomycin, kanamycin gắn vào tiểu phần nhỏ của ribosom ở tế bào prokaryot gây sự biến dạng ribosom khiến cho aminoacyl - ARN_t khó khăn trong việc gắn chặt vào bộ ba mã (trên ARN_m) ức chế sự tổng hợp protein và có thể làm đọc mã sai.

– Emetin ức chế sự gắn của aminoacyl - ARN_t, ảnh hưởng tới tiểu phần 40S, làm cho tiểu phần 40S không gắn với ARN_m.

– Độc tố bạch hầu (protein do vi khuẩn bạch hầu tạo ra) là enzym xúc tác phản ứng giữa ADP và yếu tố kéo dài EF_2 tạo nên phức hợp không hoạt động ADP - ribose - EF_2, do đó ức chế sự chuyển vị.

– Abrin và lysin (các protein thực vật) ức chế sự tổng hợp protein ở ribosom của tế bào eukaryot bằng cách làm bất hoạt tiểu phần 60S.

– Puromycin làm ngừng việc liên kết giữa acid amin với polypeptid đang hình thành.

– Actomycin D liên kết với ADN ngăn cản quá trình phiên mã để tạo thành ARN_m.

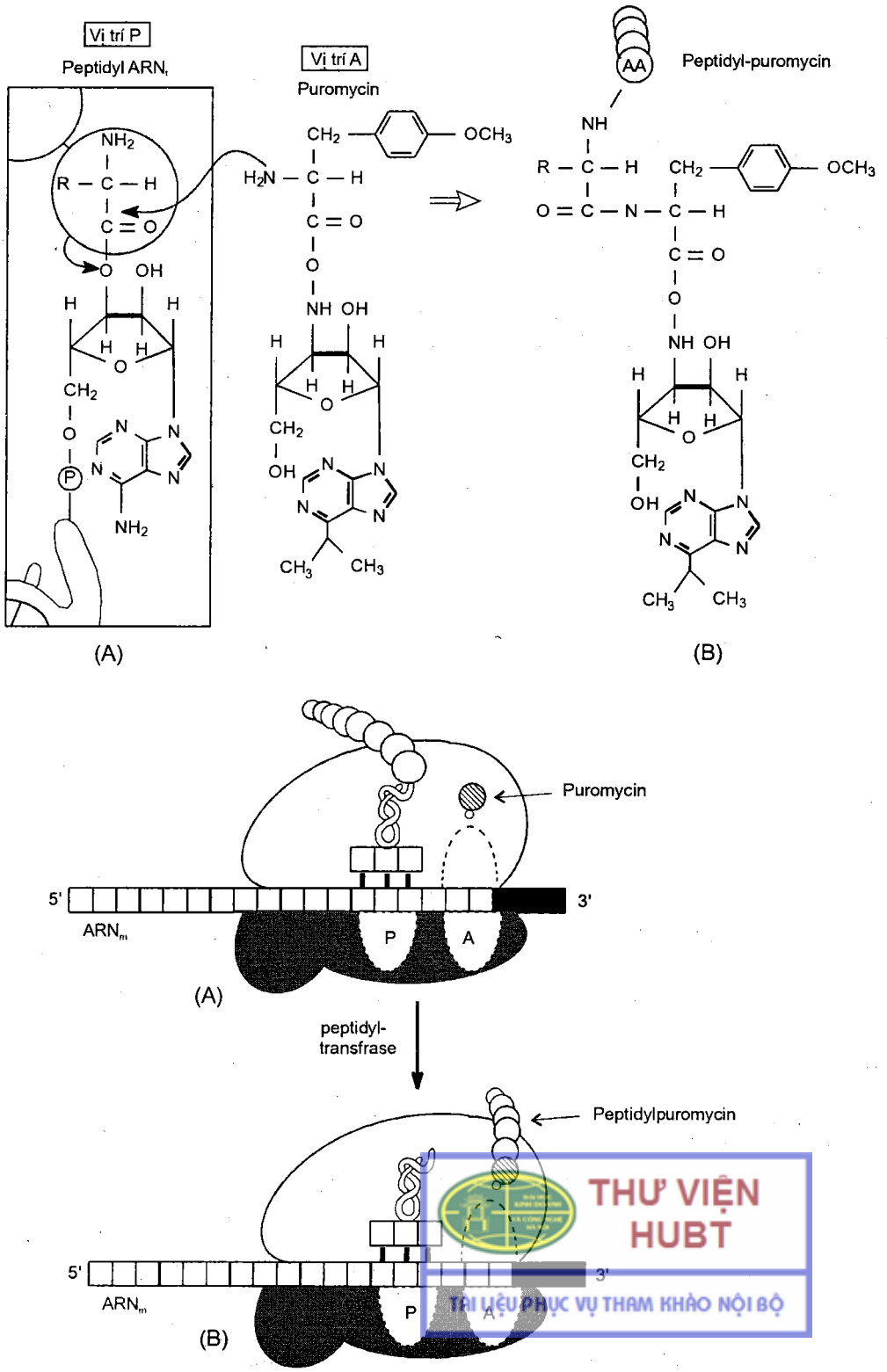
– Cloroquin, novobiocin ức chế enzym ADN polymerase.

***Bảng 10.2.** Cơ chế hoạt động của một số chất ức chế quá trình sinh tổng hợp protein.*

Chất ức chế	Cơ chế tác dụng
Chloramphenicol	Ngăn cản sự liên kết ARN_m với ribosom Phong bế sự chuyển vị
Streptomycin Neomycin Kanamycin	Thay đổi cấu dạng ribosom, gây ra sự đọc nhầm mã
Cycloheximid Tetracyclin	Ức chế sự vận chuyển a.a - ARN_t Phong bế sự tạo thành liên kết peptid Ảnh hưởng đến tiểu phần 40S làm cho 40S không gắn với ARN_m
Abrin, lysin	Làm bất hoạt tiểu phần 60S
Puromycin	Ngăn cản tạo liên kết peptid bằng cơ chế cạnh tranh cơ chất
Actomycin D	Liên kết với ADN, ngăn cản sự tổng hợp ARN_m
Cloroquin Novobiocin	Ức chế ADN polymerase

THƯ VIỆN HUBT

Puromycin có cấu tạo tương tự aminoacyl - ARN_t. Bởi vậy nó đã thay thế aminoacyl - ARN_t trong phản ứng, tạo thành peptidyl - puromycin và tách rời khỏi ribosom. Như vậy, chất kháng sinh đã làm ngừng sự kéo dài chuỗi peptid bình thường, tạo ra chuỗi peptid không hoàn chỉnh có đầu carboxyl tận là puromycin và ra khỏi ribosom (hình 10.61).



Hình 10.61. Cấu trúc của một peptidyl - ARN$_m$ (A) và một peptidyl - puromycin(B)

5.6. Điều hoà sinh tổng hợp protein

Quá trình điều hoà sinh tổng hợp protein rất phức tạp, bao gồm hai cơ chế có tính nguyên lý chủ yếu là: cảm ứng và ức chế, được kiểm tra bằng các phân tử nhỏ và hệ thống kiểm tra của operon (chương 11). Người ta đã xác định có tới hàng trăm yếu tố tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein trong tế bào.

Về mặt năng lượng, quá trình sinh tổng hợp protein là một quá trình thu năng lượng. Để đưa một acid amin vào chuỗi polypeptid cần chi phí 3 liên kết giàu năng lượng:

- 1 ATP cho hoạt hoá acid amin ở giai đoạn đầu.
- 1 GTP để đưa aminoacyl - ARN_t vào "trung tâm A" của ribosom.
- 1 GTP cần để ribosom di chuyển trên ARN_m (chuyển vị).

Do giai đoạn khởi đầu còn cần 1 GTP tham gia, nên để tổng hợp liên kết peptid đầu tiên phải sử dụng tới 4 liên kết giàu năng lượng.

Như vậy phân tử GTP tham gia vào quá trình này có hai chức năng:

- Một là tạo phức hợp cần thiết cho sự tương tác tiếp theo.
- Hai là bảo đảm năng lượng để ribosom di chuyển trên ARN_m.

Về mặt tốc độ, quá trình tổng hợp protein xảy ra rất nhanh và phụ thuộc vào nhiệt độ. Đối với vi khuẩn ở 37°C trong một giây chuỗi polypeptid tăng từ 12 đến 17 acid amin. Bởi vậy, để tổng hợp 1 phân tử protein, trung bình có độ lớn 300 acid amin thì mất khoảng 20 giây. Trong các tế bào eukaryot, tốc độ tổng hợp chậm hơn, ví dụ trong tế bào hồng cầu lưới 37°C, là 2 acid amin trong 1 giây. So với tốc độ giai đoạn kéo dài thì giai đoạn khởi đầu và kết thúc xảy ra chậm hơn.

6. Chuyển hoá hemoglobin (Hb)

6.1. Tổng hợp hemoglobin

Để có được một phân tử hemoglobin hoàn chỉnh (gồm 4 tiểu đơn vị tương ứng với 4 phân tử myoglobin), cần hai quá trình đồng thời sau:

- Tổng hợp phần nhóm ngoại là hem.
- Tổng hợp phần protein đặc hiệu là globin.

6.1.1. Tổng hợp hem

Hem gồm protoporphyrin kết hợp với Fe^{2+}. Cơ chế của quá trình tổng hợp porphyrin ở các mô động vật đã được biết nhờ sử dụng các chất đồng vị phóng xạ (Đavid Shemin).

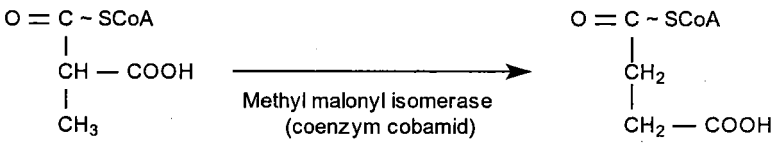
THƯ VIỆN HUBT

Sinh tổng hợp porphyrin có vai trò quan trọng trong cơ thể động vật vì nhân porphyrin là thành phần cấu tạo quan trọng của hemoglobin, myoglobin và nhiều enzym chứa porphyrin như các cytocrom, catalase, peroxydase... Nhân porphyrin cũng còn là thành phần cấu tạo quan trọng của chlorophyl ở thực vật. Cả hem và chlorophyl đều được tổng hợp trong các tế bào bởi một con đường chung. Quá trình tổng hợp hem qua các giai đoạn sau:

– Tạo acid δ - aminolevulinic: hai nguyên liệu khởi đầu cho quá trình tổng hợp porphyrin, để rồi từ đó tạo hem, là succinyl CoA và glycin. Succinyl CoA là một chất trung gian của chu trình acid citric. Glycin là một acid amin, trước tiên, succinyl CoA kết hợp với glycin, loại coenzym A, tạo acid α -amino β-cetoadipic. Chất này nhanh chóng bị khử carboxyl để thành acid δ-aminolevulinic (ALA). Giai đoạn này có sự xúc tác của enzym ALA synthetase. Pyridoxal phosphat cần cho phản ứng này để hoạt hoá glycin. Pyridoxal phản ứng với glycin để tạo ra một base schiff, nhờ đó carbon α của glycin có thể kết hợp được với nhóm carbonyl của succinat. Pyridoxal phosphat cũng còn cần cho phản ứng khử.

Sự tổng hợp ALA xảy ra ở ty thể, nơi mà succinyl CoA được tạo thành trong các phản ứng của chu trình acid citric.

Thực nghiệm cho thấy nếu thiếu acid pentothenic và thiếu vitamin B_6 sẽ ngăn cản ngay bước đầu tiên của quá trình tổng hợp hem, vì acid pantothentic có trong thành phần của coenzym A, còn pyridoxal phosphat (vitamin B_6) là coenzym của enzym ALA syntetase. Bệnh thiếu máu do thiếu vitamin B_6 hoặc thiếu acid pantothenic ở một số loài động vật thực nghiệm có thể giải thích bằng cơ sở hoá sinh trên. Ngoài ra, vitamin B_{12} cũng cần cho quá trình tạo succinyl CoA theo một con đường khác ngoài chu trình acid citric. Đó là phản ứng chuyển methylmalonyl CoA thành succinyl CoA, do enzym methyl malonylisomerase có coenzym cobamid (citamin B_{12}) xúc tác.



L-methyl malonyl CoA **Succinyl CoA**

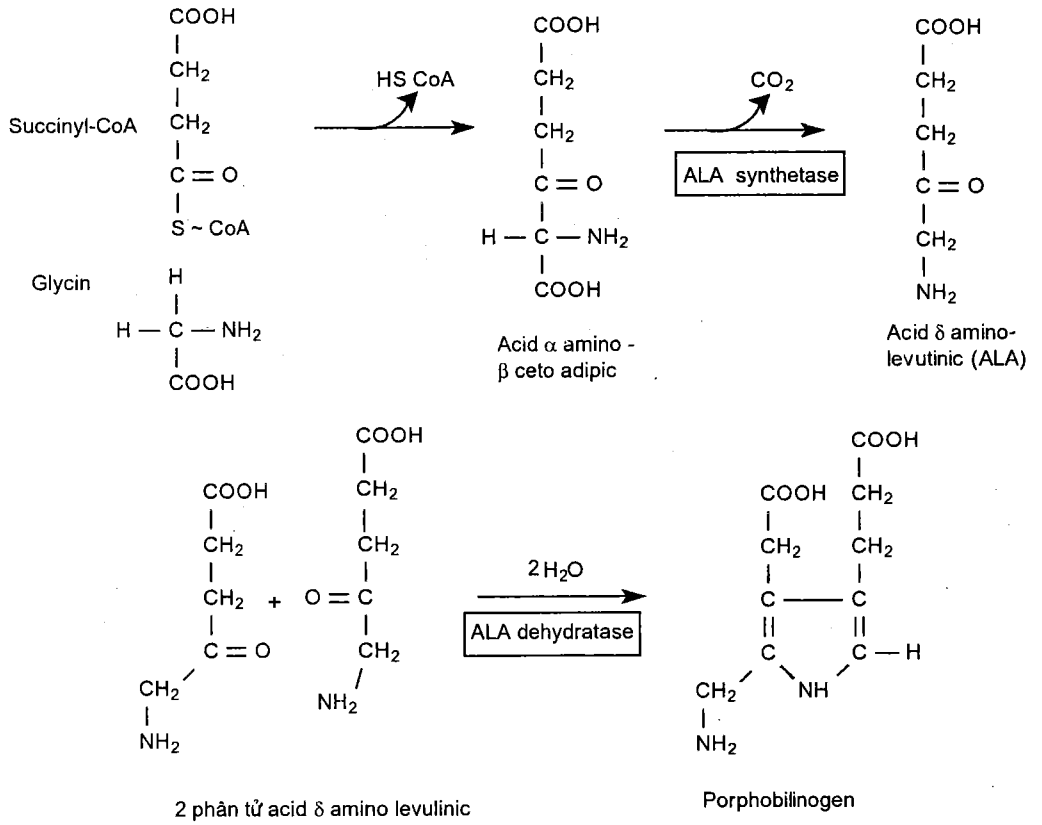
– Tạo porphobilinogen: hai phân tử ALA ngưng tụ với nhau loại nước, đóng vòng pyrol tạo porphobilinogen, với sự xúc tác của enzym ALA dehydrogenase. Porphobilinogen là tiền chất trực tiếp của các porphyrin (hình 10.62).

– Tạo urophorphyrinogen:

Bốn phân tử porphobilinogen (monopyrol) kết hợp với nhau tạo một tetrapyrol mạch thẳng. Mỗi NH_3 loại ra là có một cầu nối -CH_2 - được hình thành. Tetrapyrol thẳng này lại loại NH_3, tạo thành vòng tetrapyrol khép kín và uroporphyrinogen được tạo thành. Quá trình này cần sự tham gia của hai enzym: uroporphyrinogen synthetase và uroporphyrinogen cosynthetase. Một mình synthetase chỉ tạo được uroporphyrinogen I, nếu có cosynthetase tham gia thì enzym này có tác dụng đồng phân hoá một vòng pyrol tạo uroporphyrinogen III. Hai chất uroporphyrinogen I và III chỉ khác nhau ở vị trí hai nhóm thay thế acetat (A) và propionat (P) thuộc vòng pyrol IV.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong tự nhiên, có lẽ các đồng phân thuộc typ III của porphyrin có nhiều hơn typ I (các porphyrin có vai trò sinh học quan trọng như hem và các cytocrom là các đồng phân của typ III).



Hình 10.62. Sinh tổng hợp porphobilinogen

– Tạo coproporphyrinogen III:

Uroporphyrinogen III chuyển thành coprorphyrinogen III nhờ phản ứng khử carboxyl vào tất cả các gốc acetat (A) ở mạch nhánh để chuyển chúng thành các gốc methyl (M). Enzym xúc tác là uroporphyrinogen decarboxylase.

– Tạo protoporphyrin IX:

Coproporphyrinogen III từ bào tương vào ty thể, ở đây nó bị khử carboxyl và oxy hoá chuyển 2 gốc propionat (-CH_2 - CH_2 - COOH) ở mạch nhánh thành ethyl rồi thành vinyl (-CH_2 = CH_2) để tạo protoporphyrinogen nhờ coproporphyrinogen oxydase xúc tác.

Protoporphyrinogen tiếp tục oxy hoá để các cầu nối -CH_2 - giữa các vòng pyrol thành các cầu nối methylen -CH=, dẫn đến sự hình thành protoporphyrin IX nhờ protoporphyrin oxydase xúc tác. Gọi protoporphyrin IX, có nghĩa là thuộc nhóm đồng phân thứ 9 của porphyrin do Hans Ficher (người đầu tiên nghiên cứu về lĩnh vực hoá học của porphyrin) phân lập được. Có lúc nó còn được gọi là protoporphyrin III, với nghĩa là có các nhóm methyl ở cùng vị trí thay thế như các nhóm methyl của coporphyrinogen III.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Tạo hem:

Protoporphyrin IX kết hợp với Fe^{2+} tạo hem, nhờ sự xúc tác của hem syntetase (ferrochetase). Transferin của huyết tương (β. globulin kết hợp với Fe^{3+}) làm nhiệm vụ vận chuyển sắt đến các cơ quan tạo huyết. Trong quá trình tổng hợp hem chỉ có giai đoạn đầu tạo acid α- amino levulinic và giai đoạn cuối tạo protoporphyrin và tạo hem là xảy ra ở trong ty thể, còn các giai đoạn khác (từ sự hình thành porphobilinogen và các phản ứng tiếp theo đến coproporphyrinogen III) đều xảy ra ở bào tương.

6.1.2. Tổng hợp globin và sự kết hợp giữa hem và globin

Quá trình tổng hợp globin cũng theo một cơ chế chung của quá trình sinh tổng hợp protein. Nguyên liệu là các acid amin cùng sự tham gia của nhiều yếu tố khác như acid nucleic (ADN và các ARN), các vitamin (acid folic, vitamin B_{12}..., các chất cung cấp năng lượng (ATP, GTP...), các yếu tố mở đầu, kéo dài và kết thúc... (xem tổng hợp protein).

Các chuỗi α và β của globin được tổng hợp trên các polysom ở bào tương. Khi sự tổng hợp chuỗi α kết thúc, chuỗi α được giải phóng liền kết hợp với chuỗi β đang gắn trên polysom để rồi tách ra khỏi polysom, tạo ra một dime. Hai dime này lại kết hợp với nhau tạo ra globin $\alpha_2\beta_2$.

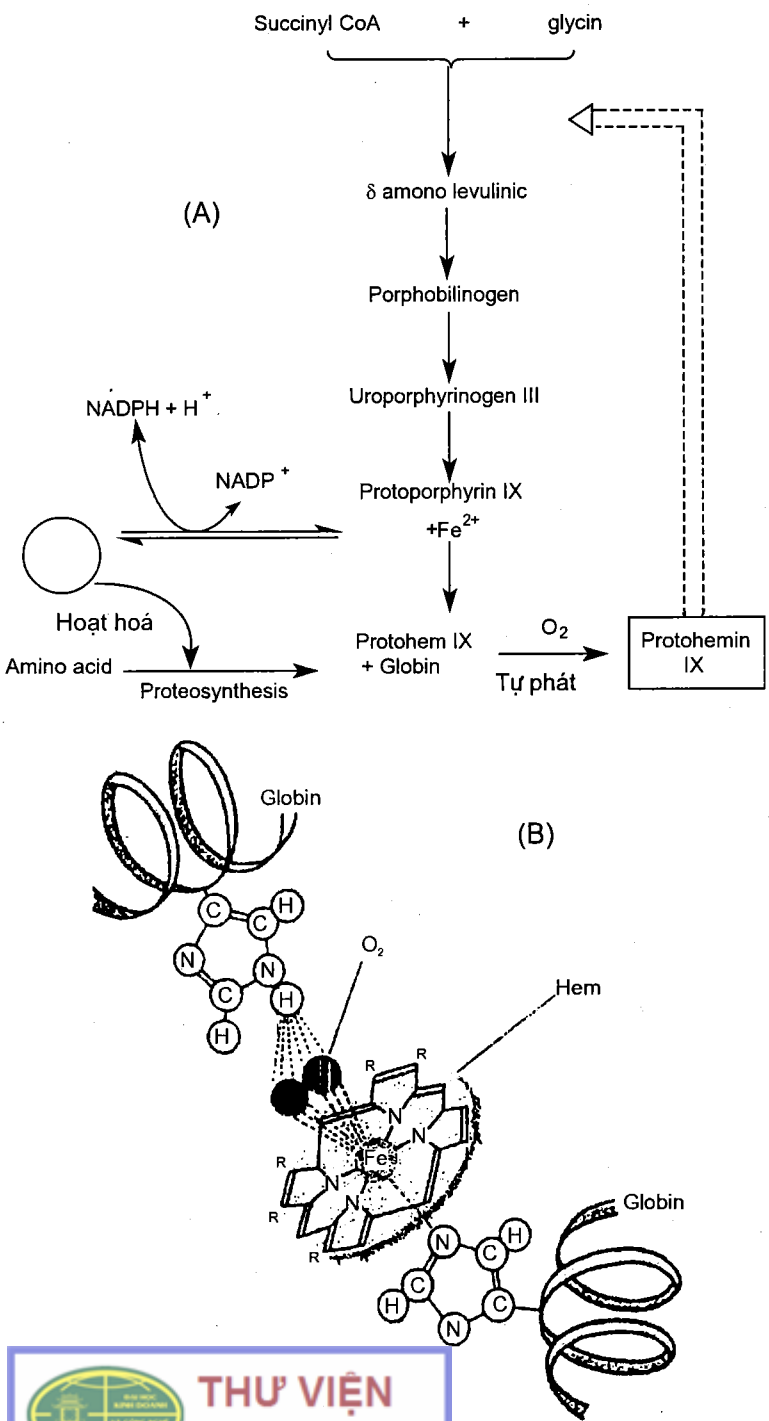
Sau khi được tổng hợp xong, hem rời ty thể ra bào tương để kết hợp với globin. Sự kết hợp giữa hem và globin được thực hiện qua liên kết phối giữa Fe của hem với nitơ của imidazol (histidin) của globin. Sự kết hợp này xảy ra ở giai đoạn nào chưa rõ. Một số tác giả cho rằng sự kết hợp với hem xảy ra trước khi chuỗi α và β kết hợp với nhau tạo $\alpha_2\beta_2$. Một số tác giả khác lại nghĩ rằng có lẽ sự kết hợp này xảy ra sau khi sự tổng hợp globin đã hoàn thành (hình 10.63 A và B).

Quá trình tổng hợp hemoglobin xảy ra chủ yếu ở cơ quan tạo huyết như tuỷ xương và các hồng cầu non. Các hồng cầu non chứa các enzym cần thiết cho tổng hợp hoàn chỉnh phân tử hemoglobin.

6.2. Thoái hoá hemoglobin và sự hình thành sắc tố mật

Đời sống trung bình của hồng cầu người khoảng 120 ngày, trong thời gian này hemoglobin không biến đổi. Khi hồng cầu "chết" thì hemoglobin được giải phóng và thoái hoá. Globin và Fe có thể được cơ thể sử dụng trở lại, đó là điều khác với nhiều chất chuyển hoá khác của cơ thể. Sự thoái hoá của hem dẫn đến sự tạo sắc tố mật: bilivedin và bilirubin. Sự thoái hoá này xảy ra chủ yếu ở những tế bào thuộc hệ thống võng nội mô như gan, lách, tuỷ xương.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.63. Tóm tắt quá trình tạo hem (A) và globin để tạo hemoglobin (B) (trong đó protohemin có tác dụng điều hoà STH hem theo cơ chế liên hệ âm ngược. Oxy liên kết tạm thời với hemoglobin trong quá trình vận chuyển trong cơ thể)

Quá trình thoái hoá hemoglobin xảy ra như sau:

6.2.1. Tạo vecdoglobin

– Bước đầu tiên của sự thoái hoá hemoglobin là mở vòng porphyrin của hem. Vòng này bị cắt ở vị trí α giữa gốc pyrol I và II, bằng cách oxy hoá và loại carbon ở đầu nối metyl α dưới dạng carbon monoxyd (CO) tạo vecdohemoglobin. Chất này là một tetrapyrol có gắn với Fe và globin.

$$\text{Hemoglobin} \xrightarrow[\text{(Mở vòng tại vị trí α)}]{-\ CO_2} \text{Vecdohemoglobin}$$

– Tách Fe và globin ra khỏi vecdohemoglobin, tạo bilivecdin (chất này có mầu xanh ve).

Fe được cơ thể sử dụng trở lại, còn globin có thể bị thuỷ phân thành các acid amin bởi hệ enzym cathepsin. Các acid amin này hoặc được cơ thể sử dụng để tổng hợp protein (kể cả globin) và một số chất có tác dụng sinh học khác, hoặc được thoái hoá theo các con đường thoái hoá chung của acid amin tạo CO_2, H_2O và NH_3.

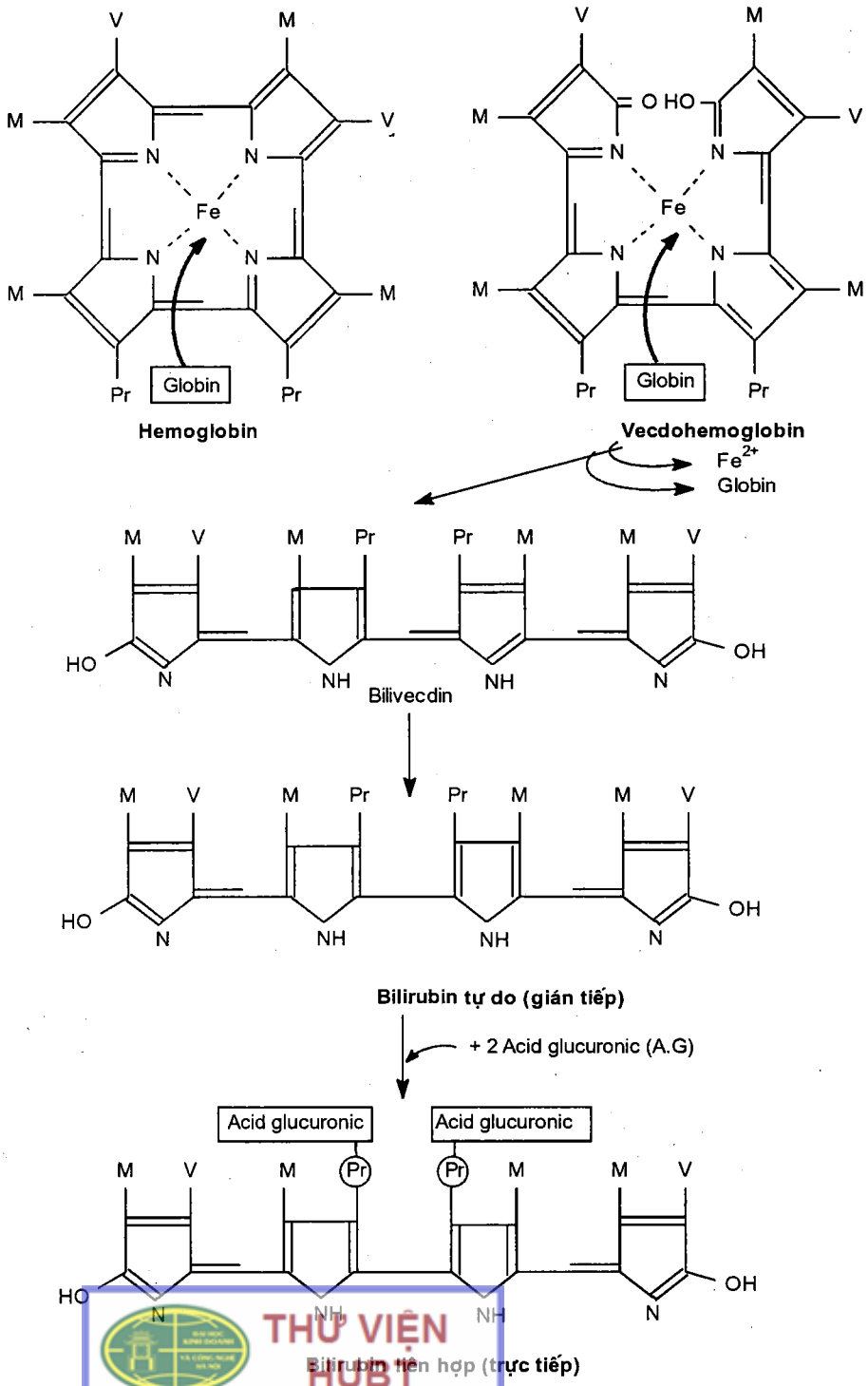
6.2.2. Tạo bilirubin (hình 10.64 và 10.65)

Bilivecdin bị khử ở cầu nối metylen γ tạo bilirubin (màu vàng xanh, xanh ve). Enzym xúc tác là bilivecdin reductase với NADPH để cung cấp hydro. Một phần bilirubin sau khi được tạo thành ở hệ thống võng nội mô được truyền vào máu. Bilirubin này gọi là bilirubin tự do, không tan trong nước, cho phản ứng diazo chậm nên còn gọi là bilirubin gián tiếp. Trong máu bilirubin tự do kết hợp với albumin của huyết thanh và được vận chuyển về gan. Một phần bilirubin cũng được hình thành ngay ở gan.

Tại gan bilirubin tự do liên hợp với hai phân tử acid glucuronic để tạo bilirubin diglucuronat. Phản ứng xảy ra giữa hai nhóm carboxyl (-COOH) thuộc gốc propionat (Pr) ở mạch nhánh của bilirubin với 2 nhóm OH bán acetal của hai phân tử acid glucuronic (dưới dạng hoạt hoá uridindiphosphat glucuronat), với sự xúc tác của glucuronyl transfease. Có một ít bilirubin liên hợp dưới dạng monoglucuronat. Bilirubin liên hợp tan trong nước, cho phản ứng diazo nhanh nên còn gọi là bilirubin trực tiếp. Bilirubin được gan bài tiết vào mật. Bilirubin là sắc tố chủ yếu của dịch mật. Bình thường bilivecdin có trong mật người với một lượng rất ít (ở dạng vết), nhưng màu của nó đậm hơn nhiều so với màu của bilirubin (cùng một lượng tương đương). Ở người các sắc tố mật chiếm khoảng 15-20% trọng lượng khô của mật.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bilirubin liên hợp theo ống dẫn mật đổ vào ruột. Ở ruột bilirubin liên hợp bị thuỷ phân giải phóng bilirubin. Tới đại tràng dưới tác dụng của các enzym của vi khuẩn yếm khí, bilirubin lần lượt bị khử oxy, bão hoà các liên kết đôi để tạo urobilinogen và stercobilinogen, là những hợp chất không màu. Stercobilinogen là sản phẩm cuối cùng của thoái hoá bilirubin ở đại tràng.

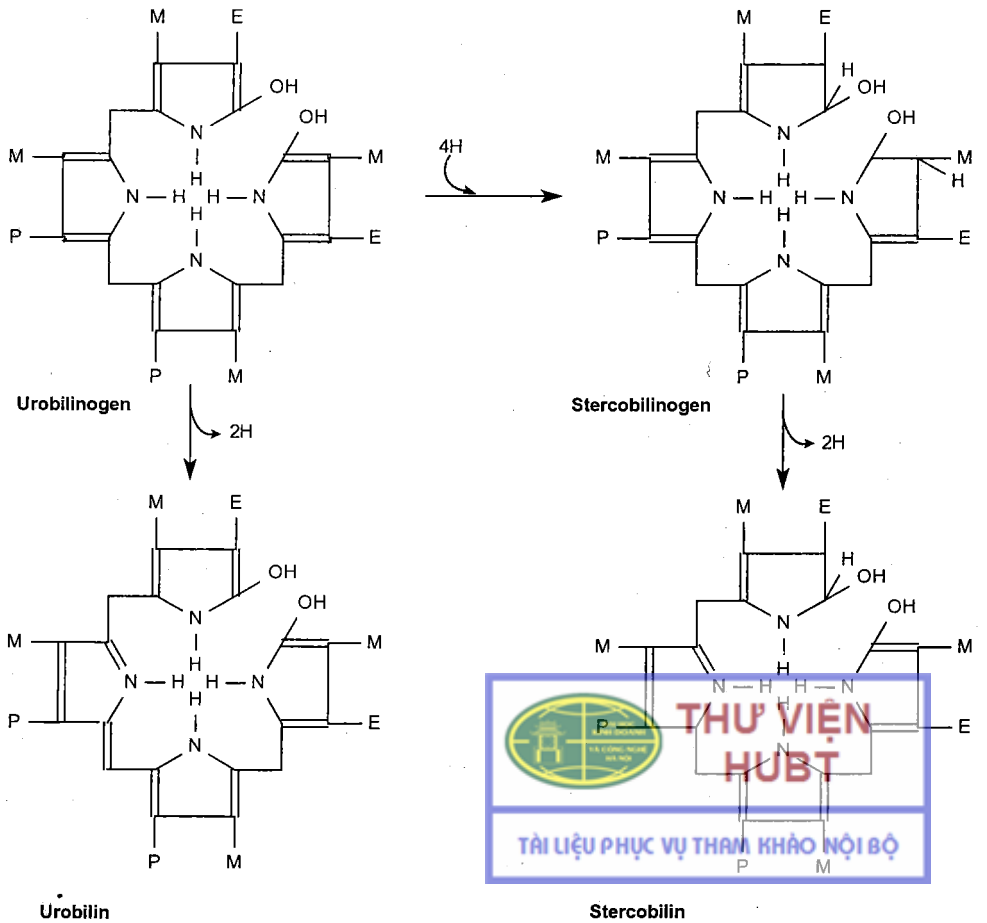


Hình 10.64. Quá trình thoái hoá hemoglobin tạo thành sắc tố mật: bilirubin tự do (gián tiếp) và bilirubin liên hợp (bilirubin diglucuronic, bilirubin trực tiếp)
M-gốc methyl; V-gốc vinyl; Pr-gốc acid propionic

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Một phần các sản phẩm khử này của bilirubin (urobilinogen và stercobilinogen) được tái hấp thụ vào máu theo tĩnh mạch cửa về gan. Ở gan chúng nó thể một phần được oxy hoá trở lại, tái tạo bilirubin rồi lại đổ vào ruột (chu trình ruột gan), một phần nhỏ theo máu về thận và thải ra ngoài theo nước tiểu. Phần còn lại của urobilinogen và stercobilinogen ở ruột không được tái hấp thụ, được đào thải ra ngoài theo phân. Ở phân và nước tiểu urobilinogen và stercobilinogen tự biến đổi thành urobilin và stercobilin. Các sản phẩm này có màu vàng da cam làm cho bình thường phân có màu vàng da cam. Bình thường nước tiểu chứa rất ít urobilinogen và urobilin (1-4mg/ngày) còn stercobilinogen trong phân có khoảng 40-280mg/ngày (hình 10.65).

Trong trường hợp vi khuẩn bị giảm sút (chẳng hạn do uống kháng sinh), bilirubin không bị khử triệt để, được đào thải nguyên vẹn ra theo phân, khi tiếp xúc với không khí, bilirubin tự oxy hoá để thành bilivecdin, vì vậy trong các trường hợp này phân có màu xanh. Cũng có kết quả tương tự ở trẻ sơ sinh trong những tuần đầu sau khi đẻ do thiếu enzym vi khuẩn, bilirubin không bị khử ở ruột mà tự oxy hoá thành bilivecdin làm cho phân có màu xanh (bảng 10.3).

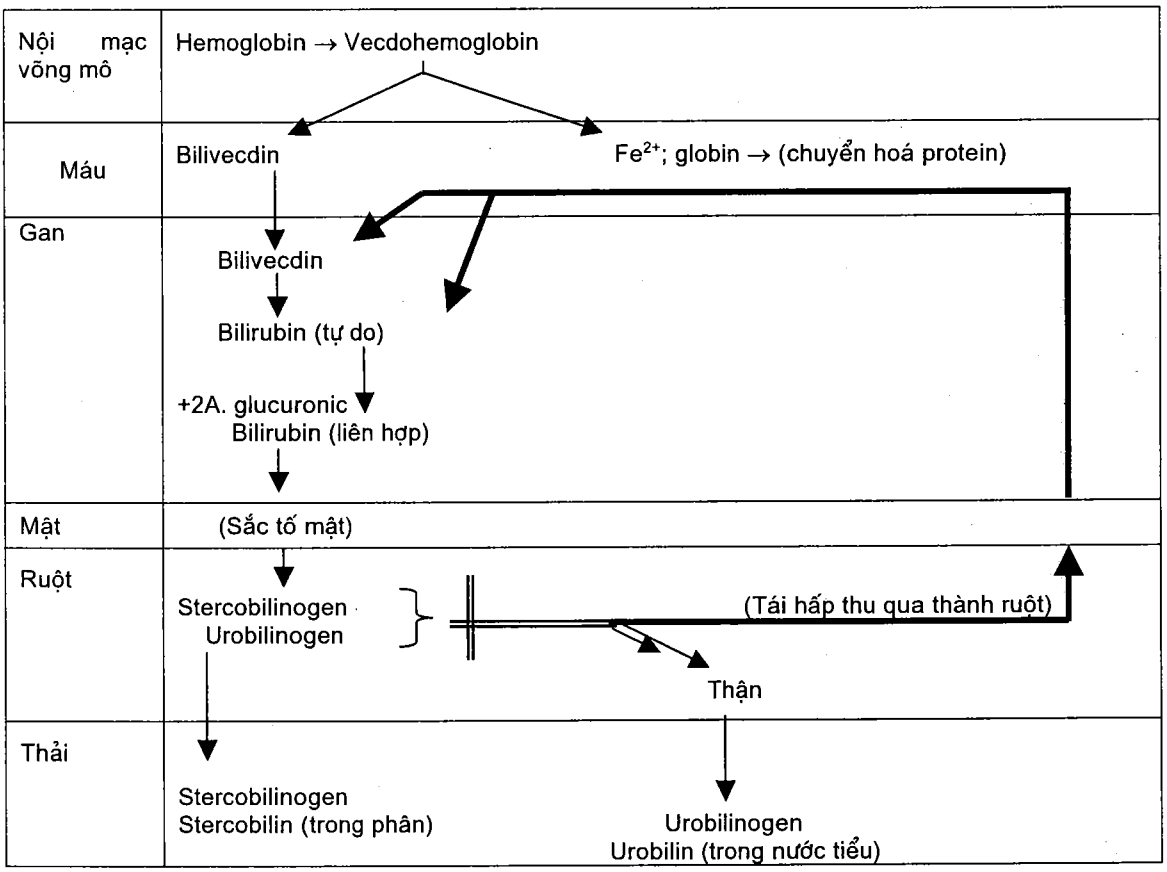


THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 10.65. Thoái hoá bilirubin đến urobilin và stercobilin
(E-ethyl; M-methyl; P-propionic)

Ở đây cần chú ý đến thuật ngữ: khi gọi tên các porphyrin và các dẫn xuất của chúng, người ta dùng đuôi - ogen (protoporphyrinogen, stercobilinogen, v.v...) để chỉ các chất có các cầu nối giữa các vòng pyrol là các nhóm -CH_2-, các chất này không màu. Còn đuôi - in (protoporphyrin, stercobilin v.v...) dùng để chỉ các chất có một số cầu nối giữa các vòng pyrol bị mất hydro thành các nhóm methylen (-CH=), các chất này đều có màu.

Bảng 10.3. *Sự vận chuyển và đào thải sản phẩm thoái hoá của hemoglobin "chu trình ruột - gan"*



6.2.3. Một số rối loạn trong quá trình thoái hoá hemoglobin

Bình thường bilirubin huyết thanh khoảng dưới 1mg/100ml (0,2-0,8mg) chủ yếu dưới dạng tự do, bilirubin liên hợp chỉ có ở dạng vết. Bilirubin được vận chuyển trong máu dưới dạng kết hợp với protein (chủ yếu là albumin). Trong một số trường hợp bệnh lý, bilirubin trong máu tăng cao (có trường hợp lên đến 20mg/100ml) vượt quá khả năng kết hợp của albumin huyết thanh. Phần bilirubin còn lại sẽ tách khỏi dung dịch, khuếch tán vào các mô, làm cho các mô có màu vàng, gây vàng da. Vàng da được xếp theo ba nhóm chính:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– *Vàng da do tan huyết:* mọi trường hợp tăng vỡ hồng cầu dẫn đến tăng sắc tố mật (bilirubin). Trong trường hợp hồng cầu bị phá huỷ nhiều, bilirubin tự do

(không được gan liên hợp hết) tăng trong máu, thường chiếm tỷ lệ 80% bilirubin toàn phần. Trong trường hợp này không có bilirubin trong nước tiểu vì bilirubin tự do không tan trong nước nên không qua được thận. Sự tạo thành một lượng lớn sắc tố mật cũng dẫn đến sự bài xuất nhiều urobilinogen và stercobilinogen trong nước tiểu và phân. Vì vậy nếu thấy nước tiểu có urobilinogen tăng nhưng không có bilirubin, ở phân có nhiều stercobilin thì cần nghĩ đến vàng da do tan huyết.

– *Vàng da do tắc mật:* trong trường hợp đường dẫn mật bị tắc do sỏi mật, u đầu tụy thì bilirubin liên hợp (trực tiếp) bị ứ lại ở gan, tràn vào máu và tăng lên rất cao, chiếm tỷ lệ trên 80% bilirubin toàn phần. Bilirubin liên hợp do tan trong nước nên qua được cầu thận và ra theo nước tiểu (có sắc tố mật trong nước tiểu). Vì bilirubin không xuống ruột được nên không có urobilinogen và stercobilinogen trong nước tiểu và phân. Nếu thấy nước tiểu có bilirubin, nhưng không có urobilinogen và phân không có stercobilin (phân trắng), nghĩ đến vàng da do tắc mật.

– *Vàng da do viêm gan:* trong viêm gan, do có tổn thương tế bào nhu mô gan, làm giảm khả năng tạo urobilinogen và stercobilinogen liên hợp nên bilirubin tự do trong máu tăng. Bilirubin liên hợp cũng không được bài xuất bình thường qua ruột nên xuất hiện bilirubin trong nước tiểu và giảm stercobilin trong phân. Urobilinogen cũng có thể tăng trong nước tiểu vì tổn thương gan làm chất này bị ứ đọng ở lại gan nên urobilinogen tràn vào máu ra theo nước tiểu.

– Nhiều trường hợp ngộ độc: hồng cầu bị vỡ nhiều, trong máu và nước tiểu các sản phẩm thoái hoá kể trên cũng tăng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 11

LIÊN QUAN CHUYỂN HOÁ VÀ ĐIỀU HOÀ

MỤC TIÊU

1. *Giải thích được sự liên quan chuyển hoá các chất trong cơ thể.*
2. *Trình bày được vai trò điều hoà của gen.*
3. *Trình bày được quá trình điều hoà tổng hợp enzym.*
4. *Trình bày quá trình điều hoà enzym bằng hoạt hoá và ức chế.*

1. Sự liên quan giữa các quá trình chuyển hoá trong cơ thể

Nhìn tổng quát toàn bộ quá trình chuyển hoá trong cơ thể, chúng ta nhận thấy về thực chất các quá trình chuyển hóa có sự liên quan và thống nhất với nhau. Mỗi một phản ứng dù đồng hoá hay dị hoá của từng chất ở tế bào đều có liên quan gắn bó một cách chặt chẽ, nhịp nhàng trong một hệ thống điều hoà, phối hợp khá phức tạp nhưng hoàn toàn thống nhất. Trong cơ thể, quá trình chuyển hoá không tách rời nhau mà chỉ có một chuyển hoá duy nhất huy động rất nhiều cơ chất khác nhau và đều được đốt cháy trong giai đoạn cuối cùng trong chu trình Krebs. Trong quá trình đốt cháy chúng này, phân tử oxy không tác động trực tiếp lên từng cơ chất mà chính các hydro của cơ chất trải qua nhiều chặng đường trung gian mới tới kết hợp với oxy để tạo thành nước. Vì vậy có thể nói nguyên liệu thống nhất trong cơ thể sống là hydro.

Các quá trình liên quan chuyển hoá với nhau có thể thấy ở 5 khía cạnh như sau:

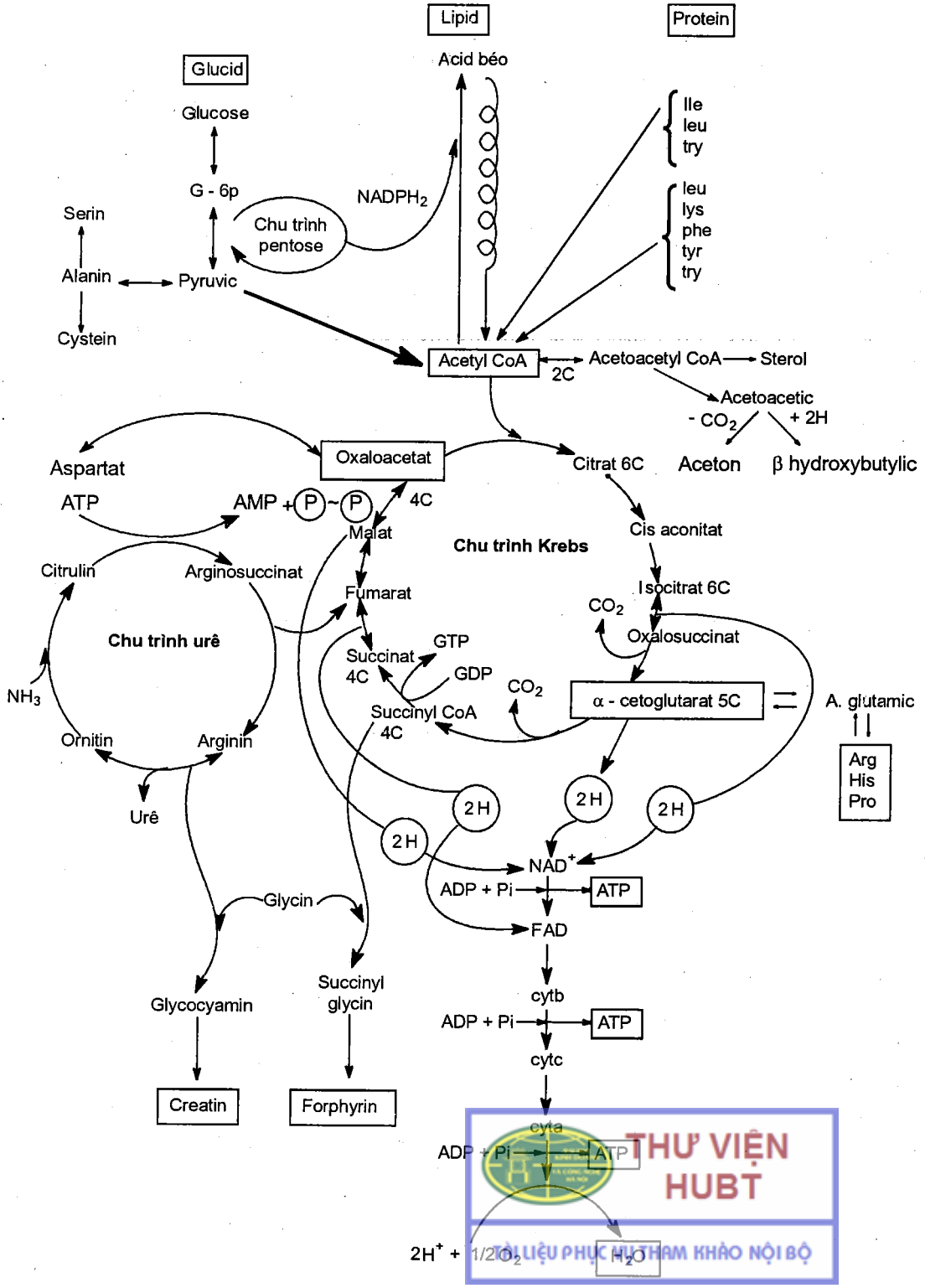
- Liên quan về chất chuyển hoá trung gian.
- Liên quan giữa các quá trình chuyển hoá.
- Liên quan quá trình tổng hợp chất này qua chất khác.
- Liên quan về mặt năng lượng.
- Liên quan giữa các chất với nhau trong chuyển hoá.

Tất cả những quá trình liên quan được hệ thống như ở hình 11.1.

1.1. Liên quan chất chuyển hoá trung gian

Chất chuyển hoá trung gian quan trọng nhất trong các quá trình chuyển hoá là acetyl CoA, được hình thành trong quá trình thoái hoá glucid, protein và lipid. Tuỳ theo nhu cầu của cơ thể, acetyl CoA có thể đi vào chu trình Krebs để tạo năng lượng duy trì hoạt động của cơ thể. Khi cơ thể không đòi hỏi năng lượng, acetyl CoA có thể được tổng hợp thành acid béo và được dự trữ dưới dạng triglycerid ở các mô mỡ trong cơ thể. Đồng thời khi cần thiết cho sự tổng hợp sterol thì một phần nguyên liệu acetyl CoA là nguyên liệu có sự tổng hợp cholesterol, acid mật, nội tiết tố steroid. Khi chế độ ăn nhiều glucid thì glucid chuyển thành lipid thông qua chất trung gian chuyển hoá acetyl CoA. Con đường acetyl CoA không thể quay lại tạo thành đường được.

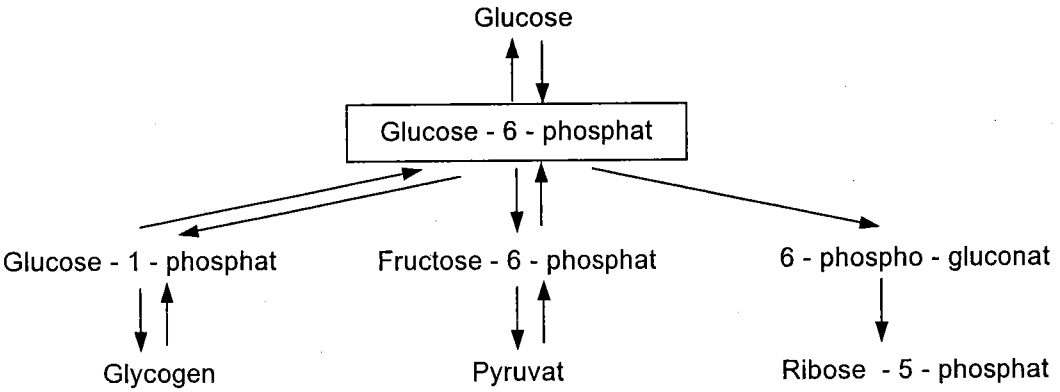
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

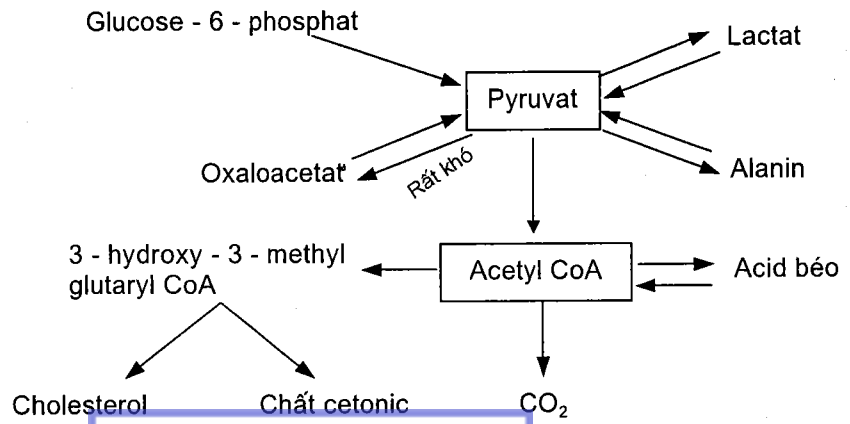
Hình 11.1. Sơ đồ liên quan chuyển hoá các chất

Chất ngã ba đường còn được kể đến là glucose - 6 - phosphat và pyruvat. Glucose 6 phosphat có thể được tổng hợp thành glycogen hoặc chuyển hoá thành pyruvat hoặc ribose - 5-phosphat cho sự tổng hợp nucleotid (hình 11.2).



Hình 11.2. Các con đường chuyển hoá của glucose - 6 - phosphat

Acid pyruvic là một α - cetonic có 3 carbon được tạo thành từ glucose 6 phosphat, lactat và alanin. Lactat là sản phẩm khử của pyruvat. Trong ty thể, con đường hình thành oxaloacetat từ pyruvat là phản ứng carboxyl hoá. Phản ứng không thuận nghịch là sự chuyển oxaloacetat thành phospho enol pyruvat. Con đường chuyển hoá pyruvat chủ yếu là phản ứng khử carboxyl oxy hoá thành acetyl-CoA. Phản ứng không thuận nghịch này trong ty thể là phản ứng quyết định trong quá trình chuyển hoá. Các con đường chuyển hoá pyruvat được thấy ở hình 11.3.



THƯ VIỆN HUBT

Hình 11.3. Các con đường chuyển hoá của pyruvat thành acetyl-CoA

1.2. Liên quan giữa các quá trình chuyển hoá

Các quá trình chuyển hoá có mối liên quan với nhau, giữa chu trình Krebs và urê thông qua chất trung gian là fumatat và oxaloacetat. Oxaloacetat được amin hoá thành aspartat. Aspartat đưa NH_3 vào chu trình urê dưới dạng arginosuccinat rồi bị phân ly thành urê và ornitin. Giữa chu trình Krebs và quá

trình tổng hợp forphyrin có chất trung gian là succinyl CoA được kết hợp với glycin cho chất succinyl glycin, sau chuyển thành acid δ amin levulinic, tiền chất của nhân porphyrin. Glycin, arginin, methionin là những acid amin cung cấp nguyên liệu tổng hợp creatin.

1.3. Liên quan về quá trình tổng hợp giữa các chất

Nhiều chất trong cơ thể không thể thay thế cho nhau, tuy vậy trong một chừng mực nhất định cơ thể có khả năng điều hoà chất này sang chất khác. Chẳng hạn glucid có khả năng chuyển thành lipid hoặc một vài acid amin sau khi bị thoái hoá đã là nguyên liệu cho sự tổng hợp acid béo. Chất trung gian của chu trình Krebs và thoái glucid, lipid có khả năng tổng hợp acid amin không cần thiết. Nhiều quá trình tổng hợp, chất được tổng hợp nhờ sự hydrogen hoá do $NADPH_2$ vận chuyển H_2. Trong điều kiện bình thường, các quá trình chuyển hoá xảy ra nhịp nhàng cân đối, chẳng hạn súc vật nuôi bằng glucid có thể tăng trọng tốt, tạo nhiều mỡ và đạm, ví dụ như loài gia cầm.

1.4. Liên quan về mặt năng lượng

Nhiệt độ của cơ thể động vật máu nóng thường hằng định cho nên cơ thể có nhiều cách sản sinh năng lượng đảm bảo cho thân nhiệt ổn định. Năng lượng cơ thể sản sinh ra từ thoái hoá glucid, lipid, proteid, trong đó lipid tạo nhiều năng lượng nhất, nhưng không phải một lúc tất cả các loại bị thoái hoá. Tuỳ hoàn cảnh và điều kiện, cơ thể huy động quá trình oxy hoá này hoặc oxy hoá kia. Thí dụ khi cần oxy hoá nhanh, thường quá trình thoái hoá đường xảy ra. Khi không cần thêm năng lượng, sự thoái hoá đường theo con đường pentose xảy ra để tạo nhiều $NADPH_2$ cho sự tổng hợp acid béo từ các phân tử acetyl CoA.

Thoái hoá lipid, các acid béo chỉ có thể xảy ra khi cơ thể có ATP chất mồi cho phản ứng đầu tiên của quá trình oxy hoá chất béo. ATP được sản sinh nhanh trong quá trình đường phân. Trường hợp thiếu glucid, lipid đảm bảo năng lượng cho cơ thể, protein phải bị thoái hoá nhiều hơn. Bình thường năng lượng của người và động vật được tồn giữ một phần dưới dạng ATP trong mọi tế bào.

1.5. Liên quan giữa các chất với nhau trong chuyển hoá

1.5.1. Liên quan giữa glucid và lipid

Chuyển hoá hai chất có cầu nối chung là acetyl CoA. Nên khi nhiều phân tử glucose đưa vào cơ thể, sự thoái hoá glucose 6 phosphat dẫn đến nhiều phân tử acetyl CoA. Chỉ một phần acetyl CoA đi vào chu trình Krebs, còn phần lớn được tổng hợp thành acid béo. Sự thoái hoá của glucose theo con đường pentose tạo nhiều $NADPH_2$ đủ cho yêu cầu tổng hợp acid béo. Ngược lại, nếu glucose thiếu hoặc không có thì acetyl CoA cần đảm bảo cho nhu cầu năng lượng của cơ thể sẽ được cung cấp từ lipid. Nhưng khi quá trình mất cân bằng giữa lipid và glucid thì một phần acetyl CoA không vào chu trình Krebs sẽ theo hướng tạo chất cetonic do thiếu chất mồi oxaloacetat cần thiết đưa các mẩu acetyl CoA vào chu trình Krebs, do thiếu succinyl CoA là chất cung cấp CoA, do thiếu $NADPH_2$ vì rối loạn chuyển hoá glucose thành acid acetyl acetic không tổng hợp được acid béo. Con đường chuyển lipid thành glucid cực kỳ khó khăn vì phản ứng khử carboxyl oxy hoá acid pyruvic là một phản ứng không thuận nghịch.

THƯ VIỆN HUBT

1.5.2. Liên quan chuyển hoá acid amin với chuyển hoá lipid và glucid

Sự thoái hoá alanin, aspartic, glutamic và sự thoái hoá các acid amin khác có liên quan tới 3 acid amin trên sẽ dẫn tới α - cetonic tương ứng là acid pyruvic, oxaloacetic, α-cetoglutaric. Ngược lại phản ứng amin hoá các acid α-cetonic kể trên cùng dẫn tới alanin, aspartic, glutamic và các acid amin khác có liên quan. Đây là mối liên quan giữa chuyển hoá acid amin và glucid. Đồng thời có mối liên quan acid amin và lipid vì các mẩu acetyl CoA, sản phẩm thoái hoá của acid béo đi vào chu trình Krebs sản sinh ra α-cetoglutaric, oxaloacetic được amin hoá tạo thành glutamic, aspartic. Ngược lại, acid amin cùng chuyển hoá gián tiếp thành acid béo qua glucid (acid amin cho đường). Một số acid amin sinh ceton như leucin, isoleucin, phenylalanin, tyrosin cũng là nguồn cung cấp acetyl, nguyên liệu tổng hợp acid béo.

1.5.3. Liên quan giữa chuyển hoá acid nucleic và protein, lipid, glucid

– Chuyển hoá acid nucleic và protein:

Sinh tổng hợp acid nucleic phụ thuộc vào sự tham gia của protein và acid amin. Các enzym ADN và ARN polymerase xúc tác sự hình thành acid nucleic. Một số acid amin như aspactic, glutamic, glycin là nguyên liệu cho sự hình thành purin, pyrimidin. Ngược lại, khi thoái hoá base pyrimidin, β - alanin được giải phóng và thoái hoá purin dẫn tới glyoxylic và glycin.

– Chuyển hoá acid nucleic và glucid:

Chu trình pentose cung cấp ribuse- 5 - phosphat tổng hợp acid nucleic. Mặt khác ribose được giải phóng từ phân huỷ acid nucleic có thể chuyển thành glucose - 6 - phosphat và các chất glucid khác. Sự tổng hợp nucleosid di và triphosphat cần có năng lượng. Năng lượng được cung cấp dưới dạng liên kết phosphat giàu năng lượng ATP qua quá trình phosphoryl oxy hoá. Vì vậy, quy mô tổng hợp acid nucleic phụ thuộc vào sự có mặt của glucid và mức độ thoái hoá của chúng trong cơ thể. Sinh tổng hợp glucid cần có UTP, loại này cho uridin diphospho glucose là sản phẩm trung gian cần cho việc vận chuyển gốc glucosyl để tổng hợp glycogen.

– Chuyển hoá acid nucleic và lipid:

Oxy hoá acid béo cung cấp năng lượng cho cơ thể và cho sự tổng hợp nucleosid diphosphat và nucleosid triphosphat như cytidin diphosphat (CDP) giữ vai trò quan trọng trong việc tổng hợp phosphatid.

2. Điều hoà chuyển hoá

Nhìn tổng quát về phương diện vĩ mô cũng như vi mô về sự tồn tại và phát triển của sinh vật đều do quá trình điều hoà chuyển hoá. Trong mỗi một tế bào, từng giây từng phút có hàng loạt quá trình hoá sinh xảy ra nhưng tế bào vẫn hoạt động bình thường với những quy luật về sự sống chặt chẽ là nhờ có sự điều hoà chuyển hoá các chất. Quá trình thoái hoá, tổng hợp và một phần điều hoà của các chất, các chu trình đã được nêu ở các chương trên. Trong chương này, chúng ta nghiên cứu quá trình chung của sự điều hoà chuyển hoá. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điều hoà và nhiều quá trình điều hoà đã được nghiên cứu. Tuy vậy,

THƯ VIỆN HUBT
HUBT LIBRARY

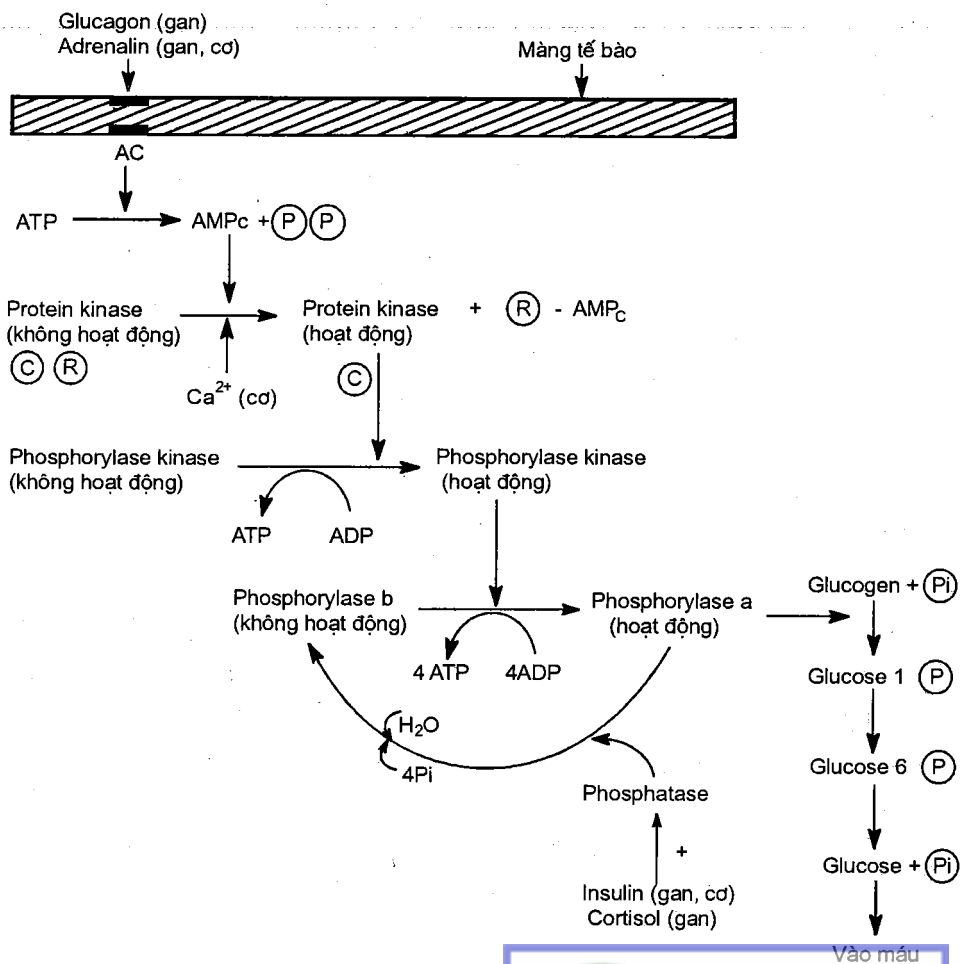
quá trình điều hoà gen là sự điều hoà nổi bật được nhiều tài liệu mô tả và giải thích. Quá trình điều hoà gen gắn liền với điều hoà tổng hợp protein.

2.1. Điều hòa của hormon lên các chuyển hoá (hình 11.4)

Hormon có vai trò quan trọng trong việc điều hoà chuyển hoá ở tế bào: hormon có tác động đến hoạt động của enzym (hoạt hoá hay ức chế) hoặc lên quá trình kìm hãm và cảm ứng tổng hợp enzym. Trong các loại hormon thì insulin có tác dụng lớn trong việc dự trữ và huy động chất đốt cho các quá trình chuyển hoá.

2.1.1. Insulin: điều hoà chuyển hoá glucid, lipid, protein.

2.1.2. Glucagon: kích thích phân huỷ glycogen, ức chế tổng hợp glycogen.



Hình 11.4. Điều hoà hoạt động của AMPc lên phosphorylase phân huỷ glycogen

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.1.3. Catecholamin (adrenalin, noradrenalin): kích thích phân huỷ glycogen, triglycerid. Khác với glucagon, catecholamin phân huỷ glycogen ở cơ mạnh hơn ở gan, ức chế xâm nhập glucose vào cơ, kích thích bài tiết glucagon, ức chế bài tiết insulin.

2.2. Điều hoà của AMP vòng

AMP vòng (AMPc) được tạo thành từ ATP do sự xúc tác của adenyl cyclase ở màng tế bào. Adenyl cyclase được hoạt hoá bởi một số hormon có bản chất protein thông qua receptor tương ứng của chúng.

Đối với các tế bào eucaryot, AMP vòng hoạt hoá protein kinase. Enzym này xúc tác phản ứng phosphoryl hoá một enzym khác nhờ ATP để hoạt hoá enzym, ví dụ phosphorylase hay ức chế hoạt động enzym, thí dụ glycogen synthetase, pyruvat kinase.

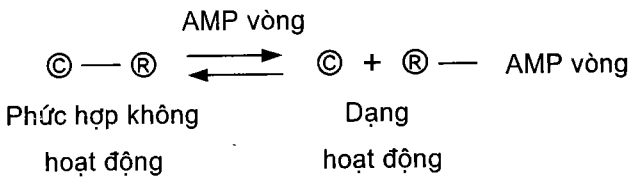
2.2.1. Phosphorylase

Enzym thuỷ phân glycogen có vai trò quan trọng trong sự điều hoà chuyển hoá glucid, đặc biệt ở cơ và gan. Phosphorylase có hai dạng.

- Phosphorylase a, dạng hoạt động, gồm 4 đơn vị (tetramer).
- Phosphorylase b, dạng không hoạt động, gồm 2 đơn vị (dimer).

Hai dạng này có thể chuyển vị cho nhau (phần điều hoà enzym).

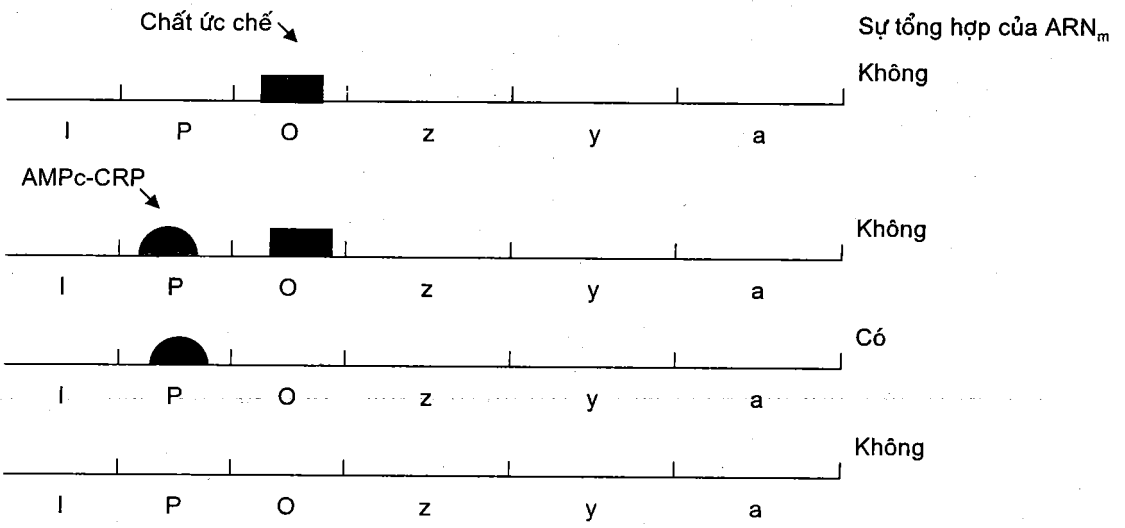
Sự chuyển dạng phosphorylase a sang phosphorylase b hoặc ngược lại nhờ xúc tác của phosphorylase kinase cần ATP và ion Mg^{2+}. Bản thân phosphorylase kinase cũng được hoạt hoá nhờ phản ứng phosphoryl hoá với sự xúc tác của protein kinase ít đặc hiệu và phụ thuộc vào AMP vòng. Protein kinase gồm hai tiểu đơn vị khác nhau: tiểu đơn vị xúc tác C và tiểu đơn vị R, có thể gắn với AMP vòng.



Sự hình thành AMP vòng từ ATP do adenyl cyclase xúc tác, được hoạt hoá bởi adrenalin, glucagon (hình 11.4). Phosphorylase a dạng hoạt động có thể chuyển sang phosphorylase b dạng không hoạt động nhờ phản ứng khử phosphat xúc tác bởi enzym phosphatase. Enzym này được hoạt hoá bởi insulin (cơ và gan) và cortisol (gan).

Phân tử AMP vòng phân bố phổ biến ở các mô động vật và ở những cơ thể sinh vật nhân chuẩn đa bào khác rất quan trọng trong sự điều hoà hoạt động của nhiều hormon. Cơ chế để kiểm soát nồng độ AMPc còn ít được biết nhưng AMPc có vai trò trong việc điều hoà hoạt động của operon lactose cũng như một vài operon khác. E.coli cũng như nhiều loại vi khuẩn khác chứa một protein gọi là protein liên kết AMP vòng (AMPc-CRP), được mã hoá trong một gen có tên là CRP. Những thể đột biến của CRP hoặc gen adenyl cyclase thì không thể tổng hợp được ARN_m lactose. Điều này chứng tỏ CRP và AMPc cần cho sự tổng hợp ARN_m lactose, tạo phức hợp AMPc - CRP là yếu tố điều hoà tích cực trong hệ lactose. Nhu cầu phức hợp này không phụ thuộc vào hệ ức chế lactose I. Phức hợp AMPc - CRP phải được gắn vào một chuỗi base của ADN ở vùng mở đầu để cho sự phiên mã xảy ra (hình 11.5).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 11.5. Bốn trạng thái của operon lactose: ARNm lactose chỉ được tổng hợp nếu AMPc - CRP có mặt và chất ức chế vắng mặt

Cơ chế chính xác vai trò phức AMPc - CRP chưa rõ nhưng người ta đã chứng minh được hai điểm:

– Khi không có mặt phức hợp AMPc-CRP thì ARN polymerase chỉ liên kết yếu ớt với điểm mở đầu nhưng sự liên kết của nó được kích thích khi AMPc - CRP cùng được gắn vào ADN. Sự liên kết yếu ớt này ít khi dẫn tới sự mở đầu phiên mã vì sự tương tác chính xác giữa ARN polymerase và điểm mở đầu không xảy ra.

– Nếu ban đầu chất ức chế được liên kết với điểm chỉ huy thì ARN polymerase không thể liên kết vững vàng với điểm mở đầu.

Những kết quả trên giải thích hoạt động của glucose và lactose như thế nào để điều hoà phiên mã của operon lactose.

2.2.2. Glycogen synthetase

Enzym tổng hợp glycogen gồm có hai dạng:

– Dạng phosphoryl hoá không hoạt động gọi là glycogen synthetase D vì hoạt động của nó không phụ thuộc vào sự có mặt của chất hoạt hoá dị lập thể glucose-6-phosphat.

– Dạng phosphoryl hoá hoạt động gọi là glycogen synthetase I vì hoạt động của nó phụ thuộc vào sự có mặt của glucose 6 phosphat.

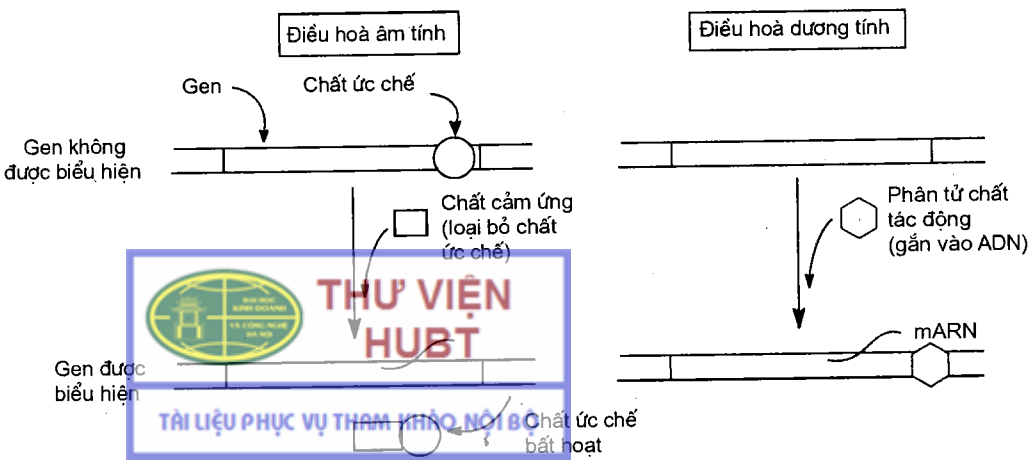
THƯ VIỆN HUBT

2.3. Điều hoà hoạt động gen

Điều hoà hoạt động của gen có tầm quan trọng hàng đầu trong mọi quá trình điều hoà. Hàm lượng protein trong cơ thể được tổng hợp theo đơn vị thời gian thay đổi từ gen này đến gen khác thoả mãn các nhu cầu của tế bào. Sự không đồng nhất về tổng hợp chủ yếu là do những hiệu quả khác nhau hoặc sự nhận biết một điểm mở đầu bằng ARN polymerase hoặc sự mở đầu dịch mã. Tuy vậy, luồng

thông tin di truyền cũng được điều hoà theo nghĩa khác, chẳng hạn nhiều sản phẩm gen chỉ cần thiết theo từng thời kỳ, cơ chế điều hoà theo kiểu đóng mở tồn tại sao cho những sản phẩm đó chỉ có mặt khi cần thiết phù hợp với những điều kiện bên ngoài. Những hệ thống điều hoà tinh vi hơn có thể điều chỉnh nồng độ nội bào của một protein riêng biệt, đáp ứng với những đòi hỏi của môi trường. Nói chung, sự tổng hợp các sản phẩm gen riêng biệt chịu sự kiểm soát của những cơ chế được gọi chung là sự điều hoà gen. Điều cần ghi nhận rằng những hệ thống điều hoà của sinh vật đơn nhân và sinh vật đa nhân có phần khác nhau.

Nguyên lý của sự điều hoà được biết rõ nhất ở vi khuẩn. Trong các hệ thống điều hoà, sự hoạt động điều hoà mở - đóng nhận được bằng cách kiểm tra sự phiên mã, đó là sự tổng hợp một ARNm nào đó xảy ra khi sản phẩm của gen là cần thiết và nó bị kìm hãm khi sản phẩm này là không cần thiết. Ở các hệ thống của vi khuẩn, khi một số enzym tác động theo trình tự trong một chu trình chuyển hoá đơn, thông thường tất cả những enzym này được sản xuất hoặc không sản xuất ra. Hiện tượng này gọi là sự điều hòa đồng hàng, là do sự kiểm soát tổng hợp của một phân tử ARNm đa cistron mã hoá tất cả các sản phẩm gen. Kiểu điều hoà này không xảy ra ở sinh vật nhân chuẩn vì ARNm của sinh vật nhân chuẩn thường là đơn cistron. Có một vài cơ chế điều hoà sự phiên mã khá phổ biến. Cơ chế đặc biệt thường được sử dụng phụ thuộc vào một trong các enzym có tác dụng điều hoà chu trình chuyển hoá tổng hợp hoặc phân giải. Thí dụ, trong một hệ thống phân giải nhiều bước thì sự hiện diện của phân tử bị phân giải thường xuyên quyết định một trong các enzym của chu trình sẽ được tổng hợp. Ngược lại trong một chu trình sinh tổng hợp, sản phẩm cuối cùng thường là phân tử điều hoà. Ngay trong một hệ thống, một phân tử protein đơn không nhất thiết enzym được dịch mã từ ARNm đơn cistron, protein đó có thể tự điều hoà được. Protein này tự mình có thể kìm hãm sự mở đầu phiên mã mà nồng độ protein ấy sẽ dẫn đến sự phiên mã ARNm thay đổi. Cơ chế phân tử về mỗi kiểu điều hoà thay đổi khá rộng nhưng thường được quy về hai loại chính là sự điều hoà âm tính và sự điều hoà dương tính (hình 11.6).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 11.6. Sự khác biệt giữa sự điều hoà dương tính và âm tính

Trong sự điều hoà âm tính một chất ức chế liên kết với phân tử ADN phải bị loại ra trước khi phiên mã có thể xảy ra. Trong điều hoà dương tính một phân tử chất tác động phải liên kết với ADN. Một hệ cũng có thể được điều hoà bằng cả hai cách dương tính và âm tính, trong trường hợp đó, hệ thống là "mở" khi chất điều hoà dương tính được gắn với ADN và chất điều hòa âm tính không được liên kết với ADN.

Trong hệ thống điều hoà âm tính, một chất ức chế có mặt trong tế bào và cản trở sự phiên mã. Một chất đối lập với chất ức chế gọi là chất cảm ứng cho phép mở đầu sự phiên mã. Trong hệ thống điều hoà dương tính, một phân tử chất tác động (có thể là protein, phân tử nhỏ hay phức hợp phân tử) hoạt hoá một điểm mở đầu. Sự điều hoà dương tính và âm tính không loại trừ lẫn nhau; vì thế ở một hệ thống, cả cơ chế điều hoà dương tính và âm tính đều được sử dụng; hai loại chất điều hòa đáp ứng được những điều kiện khác nhau có trong tế bào. Sự điều hoà dương tính và âm tính được áp dụng cho hệ thống phân giải và cho cả chu trình sinh tổng hợp.

Hiện nay kiểu điều hoà của sinh vật nhân sơ được biết rõ hơn sinh vật nhân chuẩn mặc dù thông tin về các hệ sinh vật nhân chuẩn đang được tích luỹ rất nhiều.

2.3.1. Điều hoà ở giai đoạn sao chép bằng cảm ứng và kìm hãm

Quá trình điều hoà bằng cảm ứng và kìm hãm tổng hợp enzym chỉ được biết ở hệ thống prokaryot (tế bào vi khuẩn và thực khuẩn thể). Bộ gen của một vi khuẩn bao gồm một nhiễm sắc thể độc nhất gồm 3,8 triệu đôi nucleotid có khả năng mã hoá hơn 3000 protein khác nhau như trong trường hợp của E.coli.

Người ta biết rằng các vi khuẩn có khả năng tổng hợp những men thích hợp cho nó tuỳ thuộc môi trường dinh dưỡng. Trong cơ thể thường tồn tại hai loại enzym:

– Enzym cấu tạo: là những enzym tham gia thành phần cơ bản của hoạt động tế bào, gồm hầu hết các loại enzym xúc tác quá trình chuyển hoá của tế bào.

– Ngược lại: enzym cảm ứng chỉ được tổng hợp với một lượng cần thiết khi tế bào cần đến để sử dụng với một cơ chất nhất định.

- Enzym cảm ứng:

Cảm ứng enzym đã được mô tả qua "hệ thống lactose" của E.coli được nuôi cấy trong môi trường có các chất khác nhau. Khi E.coli được nuôi cấy trong môi trường chỉ có glucose (không có lactose) thì vi khuẩn này không sản sinh ra hoặc sản sinh ra một lượng nhỏ dạng vết enzym β galactosidase. Enzym này xúc tác thuỷ phân lactose thành hai monosaccharid là galactose và glucose.

THƯ VIỆN HUBT

Khi chuyển E.coli nuôi trong môi trường chỉ có lactose thì trong một thời gian ngắn E.coli sản sinh một lượng enzym β galactosidase lớn đủ để thủy phân lactose làm nguồn nguyên liệu cung cấp năng lượng cho vi khuẩn. Lượng enzym này tăng có thể hơn 1000 lần so với ban đầu. Ngược lại, khi chuyển E.coli vào môi trường nuôi cấy chỉ có glucose thì β galactosidase ở tế bào nhanh chóng mất đi và trở lại trạng thái ban đầu. Trong hiện tượng này, lactose là chất cảm ứng. Chất

cảm ứng lactose không chỉ tổng hợp β galactosidase mà còn tổng hợp hai enzym khác enzym permease có vai trò xúc tác sự xâm nhập của galactosid vào bên trong tế bào và enzym acetyl transferase. Các enzym được hình thành như vậy gọi là enzym cảm ứng.

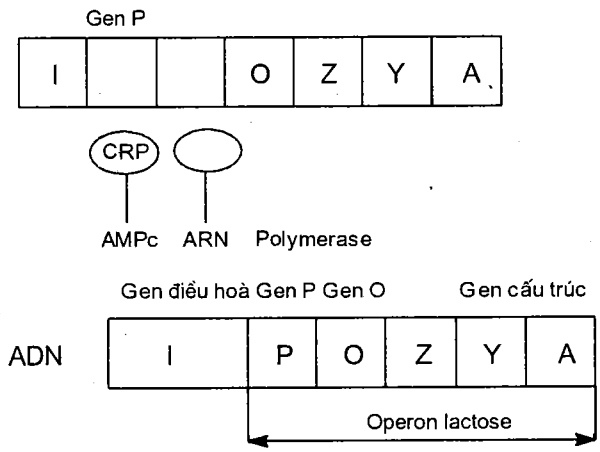
- Kìm hãm enzym:

Ngược lại quá trình cảm ứng men là quá trình kìm hãm enzym. Vi khuẩn có thể phát triển trong môi trường chỉ có nguồn nitơ độc nhất là NH_4Cl và glucose là nguồn nguyên liệu năng lượng. Trong hoàn cảnh khó khăn này, vi khuẩn đủ khả năng sản sinh các enzym cần thiết cho sự tổng hợp các acid amin để sử dụng tổng hợp protein của chúng. Nếu một acid amin như tryptophan hoặc histidin cho vào môi trường nuôi cấy vi khuẩn thì hệ thống enzym cần thiết cho sự tổng hợp các acid amin trện sẽ biến mất, nghĩa là ngừng tổng hợp enzym.

Để giải thích và làm rõ cơ chế của hai quá trình trên, mẫu operon đã được dùng làm cơ sở:

- Mẫu operon của Jacob và Monod:

Năm 1961, Jacob và Monod đưa mô hình operon - là một tập hợp các gen tạo thành một đơn vị chức năng. Một operon gồm 4 loại gen cơ bản như hình 11.7.



Hình 11.7. Mô hình operon lactose và gen điều hoà

– Các gen cấu trúc: gồm nhiều gen có nhiệm vụ sao chép thành một chuỗi ARNm polycistron (phân tử ARNm mã hoá được trên một protein gọi là polycistron). ARNm có khả năng dịch ra nhiều protein như các loại enzym.

– Một gen khởi động P (promoter): gen khởi động vì nó ở vị trí khởi động gắn ARN polymerase. Gen khởi động P có hai trung tâm, một trung tâm gắn ARN polymerase được nhận biết nhờ yếu tố (R_δ) và một trung tâm gắn phức CRP-AMP vòng (CRP là một protein thu nhận AMP vòng).

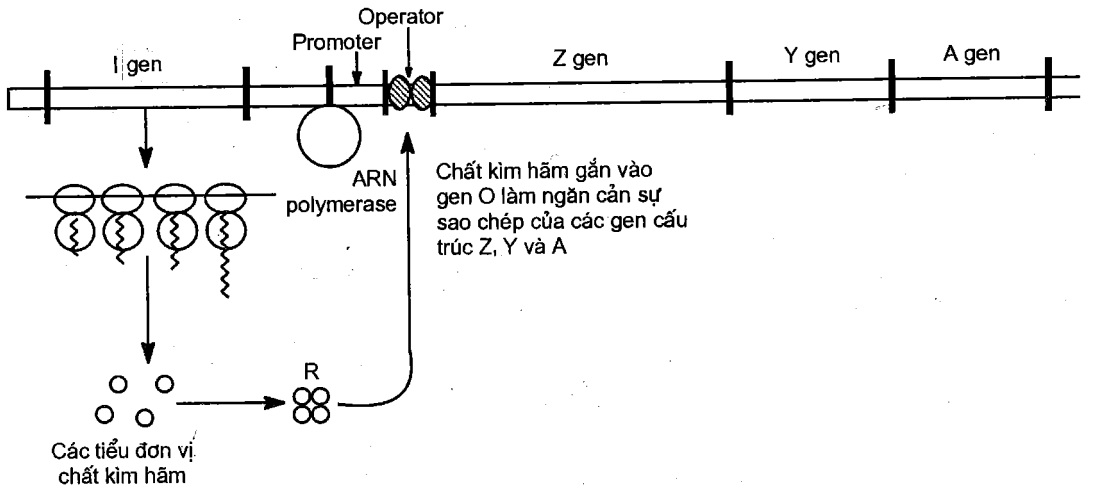
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Gen điều khiển O (operator): gen này nằm sát gen P chỉ huy hoạt động của các gen cấu trúc. Gen điều khiển O khi kết hợp với chất kìm hãm R (repressor) có bản chất là protein được sản sinh từ gen điều hoà sẽ ngăn chặn quá trình sao chép.

– Gen điều hoà (regulator): gen có nhiệm vụ sản sinh ra chất kìm hãm R là protein. Chất kìm hãm này có hai ái lực, một mặt kết hợp với gen O, mặt khác có thể nhận dạng chất cảm ứng I (inducer). Ái lực của chất kìm hãm đối với gen O được thay đổi do tác dụng của một số sản phẩm chuyển hoá hoặc chất đồng kìm hãm.

- Operon lactose:

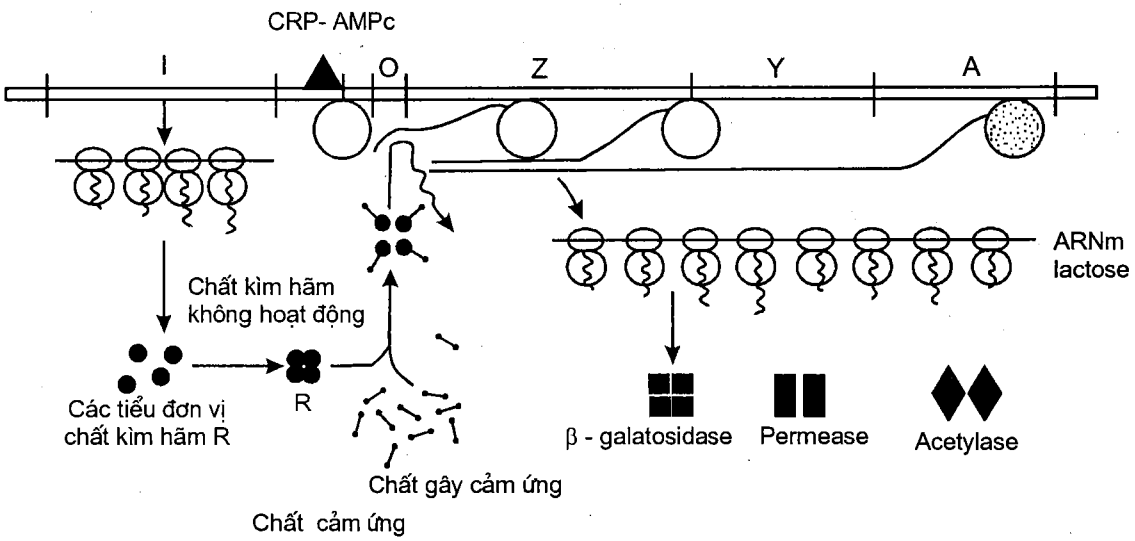
Sự kìm hãm tổng hợp enzym của operon lactose khi không có lactose hoặc một chất cảm ứng khác, các tiểu đơn vị của chất kìm hãm R được tạo ra bởi gen điều hoà I, bản chất của nó hoạt động gắn lên gen điều khiển O (operator) đã ngăn chặn quá trình sao chép các gen cấu trúc Z, X, A, nên không tạo ra ARNm nghĩa là không có sự sao chép và không có sự tổng hợp các enzym chuyển hoá lactose như hình 11.8.



Hình 11.8. Operon lactose ở trạng thái kìm hãm

Trong trường hợp cảm ứng tổng hợp enzym của operon lactose khi có mặt lactose hay một chất cảm ứng khác, thí dụ một galactosid tổng hợp như isopropyl thiogalactosid chất kìm hãm kết hợp với chất cảm ứng (inducer), tạo thành phức hợp chất "cảm ứng - kìm hãm" không thể gắn được vào gen O. Lúc này có sự sao chép các gen cấu trúc Z, Y, A tạo ra chuỗi ARNm để có sự tổng hợp 3 enzym là β-galactosidase permease, acetylase có bản chất protein. Như vậy lactose cảm ứng sự tổng hợp các enzym giúp cho tế bào chuyển hoá lactose (hình 11.9).. Lý thuyết mẫu Jacob và Monod được chứng minh bằng thực nghiệm sau 6 năm khi nuôi cấy E.coli với acid amin có S ghi dấu (S^{35}) đã thu được chất kìm hãm có ghi dấu. Trộn lẫn chất kìm hãm này với ADN của operon lactose thấy có S ghi dấu ở ADN. Điều này chứng tỏ sự gắn chất kìm hãm vào ADN.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 11.9. Operon lactose ở trạng thái cảm ứng
(khi có lactose hoặc một chất cảm ứng thích hợp)

- Operon tryptophan:

Hiện tượng xảy ra ngược lại ở trường hợp của operon lactose, operon tryptophan gồm các gen tương ứng với các enzym cần thiết cho sự tổng hợp acid amin bởi vi khuẩn.

Khi acid amin không có trong tế bào, operon ở trạng thái hoạt động còn gọi là operon được khử kìm hãm để cho acid amin được tổng hợp. Khi thừa acid amin, operon bị kìm hãm.

Tuy có sự khác nhau, mẫu Jacob và Monod vẫn được áp dụng. Trong trường hợp này chất kìm hãm coi như một protein (aporepressor), bản thân nó không gắn được lên gen O. Muốn gắn được lên gen O tức ngăn chặn sự sao chép, chất kìm hãm (apopressor) cần một phân tử đồng kìm hãm (corepressor). Ở đây, tryptophan là chất đồng kìm hãm.

Như vậy, khi không có mặt acid amin, gen O không bị khoá bởi chất kìm hãm nên sự sao chép ARNm bởi các gen cấu trúc và tổng hợp các enzym có thể xảy ra. Ngược lại, khi thừa acid amin, chất đồng kìm hãm kết hợp với chất kìm hãm tạo phức gắn với gen O làm ngăn chặn sự sao chép các gen cấu trúc, được mô tả như hình 11.10.

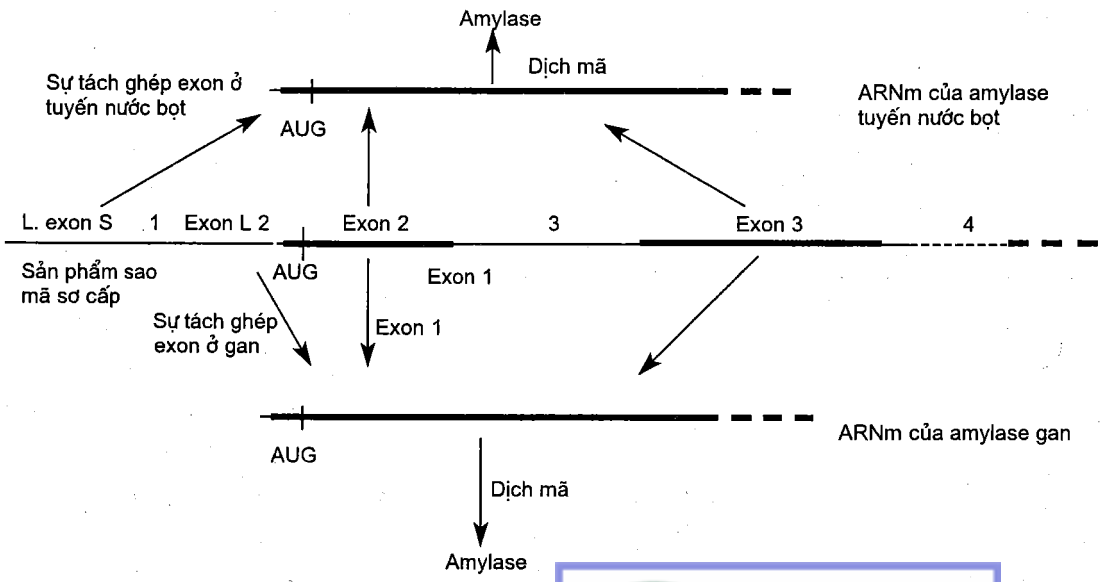
Nồng độ acid amin trong tế bào giảm nghĩa là giảm lượng chất đồng kìm hãm cần thiết để kìm hãm operon, đó là hiện tượng cảm ứng và còn được dùng với thuật ngữ "khử kìm hãm".

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Một trường hợp đặc biệt của hiệu quả liều lượng gen là sự khuyếch đại gen, trong đó số lượng gen tăng lên đáp ứng một vài tín hiệu; thí dụ: rõ nhất về sự khuyếch đại gen bắt gặp trong sự phát triển của noãn bào trứng, của cóc xenopus laevis. Trong sự phát triển của noãn bào, số lượng gen ARNr tăng lên khoảng 4000 lần. Số lượng to lớn này làm cho noãn bào có thể tạo ra được 10^{12} ribosom cần cho sự tổng hợp protein xảy ra trong thời gian phát triển sớm của phôi.

– Sự điều hòa sao mã:

Số lượng bản sao của một loại phân tử ARNm nhất định có mặt ở trong mỗi tế bào: loại 1, bản sao ít, một hoặc vài bản sao; loại 2, bản sao vừa, một vài trăm bản sao; loại 3, bản sao nhiều từ hàng trăm tới hàng ngàn bản sao. Loại 1 và 2 chủ yếu mã hoá cho các enzym và protein cấu trúc tương ứng. Những phân tử ARNm loại thứ 3 được phiên mã từ một phần nhỏ các gen của sinh vật nhân chuẩn thường liên quan với sự biến đổi trong một giai đoạn phát triển nào đó. Thí dụ, một tế bào nguyên hồng cầu trưởng thành trong tuỷ xương sản xuất một lượng lớn ARNm từ đó globin cơ thể được dịch mã, trong khi đó rất ít hoặc không có globin được sản xuất do những tế bào tiền thân mà chưa trở thành các nguyên hồng cầu. Người ta đã biết rất nhiều về sự điều hoà phiên mã ở các sinh vật nhân chuẩn bậc cao liên quan với loại ARNm thứ 3. Nhiều loại hormon liên quan nhiều đến sự điều hoà sao mã.



Hình 11.11. Sự tạo ra những phân tử ARNm amylase riêng do các kết quả tách intron khác nhau trong các tế bào tuyến nước bọt và gan của chuột. Đoạn mã hoá bắt đầu ở codon AUG trong exon 2

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Sự điều hoà quá trình biến đổi của ARNm sơ cấp

Hiện tượng hai kiểu tế bào cùng sản xuất một loại protein nhưng với những số lượng khác nhau cho dù chúng có cùng một gen được phiên mã.

Hiện tượng này liên quan tới sự có mặt của các phân tử ARNm khác nhau mà chúng được dịch mã với hiệu xuất không giống nhau. Thí dụ, tổng hợp α amylase ở chuột cống, những ARNm khác nhau từ cùng một gen là do kết quả của những cách loại bỏ intron khác nhau (hình 11.11).

Tuyến nước bọt sản xuất nhiều enzym hơn ở gan mặc dù chúng cùng phiên mã từ một trật tự base giống nhau. Trong mỗi kiểu tế bào, sản phẩm sao mã sơ cấp được tổng hợp là giống nhau song hai cơ chế tách intron lại khác nhau. Trong tuyến nước bọt, sản phẩm sao mã sơ cấp được thay đổi đến mức exon S được nối với exon 2 tức là exon L bị loại bỏ một phần của các intron 1 và 2. Còn ở trong gan, exon L được nối ví exon 2 bởi vì exon S bị loại bỏ cùng intron 1 và với phần đầu L. Các exon S và L trở thành điểm dẫn đầu luân phiên nhau của ARNm amylase. Do vậy bằng cách nào đó nó dẫn đến sự thay đổi về tốc độ dịch mã.

– Sự điều hoà dịch mã:

Ở vi khuẩn số lần dịch mã của hầu hết các phân tử ARNm đều giống nhau, chỉ có sự thay đổi nhỏ từ gen này đến gen khác. Ở sinh vật nhân chuẩn, sự dịch mã đôi khi được điều hoà, bởi các kiểu: 1 là kiểm soát phân tử ARNm không được dịch mã khi chưa nhận được tín hiệu, 2 là điều hoà thời gian sống của phân tử ARNm nhất định và 3 là điều hoà tốc độ tổng hợp toàn bộ protein. Thí dụ về sự điều hoà dịch mã ARNm tàng trữ thể hiện ở trứng chưa thụ tinh là tĩnh về mặt sinh học nhưng sau khi thụ tinh thì nhiều protein phải được tổng hợp, chẳng hạn trứng nhím biển chưa thụ tinh một lượng lớn ARNm ở dạng hạt là dạng bất hoạt về dịch mã nhưng sau vài phút thụ tinh sự dịch mã của các phân tử này bắt đầu. Sự tổng hợp của một số protein được điều hoà bằng tác dụng trực tiếp của protein lên ARNm như phân tử kháng thể liên kết đặc hiệu với ARNm mã hoá nó nên kìm hãm sự mở đầu dịch mã để ổn định nồng độ kháng thể.

Sự điều hoà dịch mã còn thể hiện kéo dài thời gian sống của ARNm fibroin tơ của tằm. Khoảng 10^4 phân tử ARNm fibroin được sản xuất trong ngày. Bình thường ở sinh vật nhân chuẩn ARNm chỉ sống khoảng 3 giờ nhưng ARNm - fibroin của tằm tồn tại đến vài ngày và mỗi phân tử ARNm fibroin được dịch mã lặp lại cho ra 10^5 phân tử fibron.

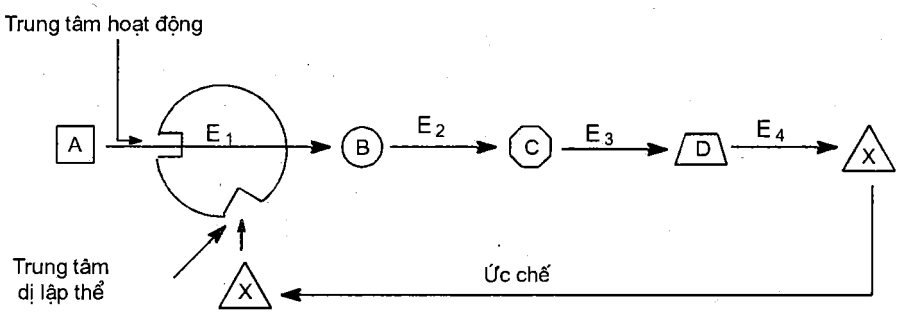
Nếu không có cơ chế này thời gian tạo kén phải mất 100 ngày. Một thí dụ khác về kéo dài thời gian sống của ARNm mã hoá cho casein, khi có prolactin tiếp nhận thời gian sống của ARNm casein tăng lên. Do vậy tốc độ sản xuất casein tăng lên ở sữa người mẹ.

2.4. Điều hoà enzym bằng hoạt hoá hay ức chế

2.4.1. Điều hoà chuyển hoá bởi enzym dị lập thể

THƯ VIỆN HUẾT

Enzym dị lập thể thường có hai trung tâm: một trung tâm hoạt động gắn với cơ chất và một trung tâm dị lập thể gắn với tác nhân hoạt hoá hay ức chế để điều hoà dương hay âm. Chẳng hạn sản phẩm chuyển hoá cuối cùng của một dãy phản ứng hoá học xúc tác bởi nhiều enzym có thể tác dụng hoạt hoá hay ức chế lên enzym xúc tác phản ứng đầu tiên là một enzym dị lập thể (hình 11.12).



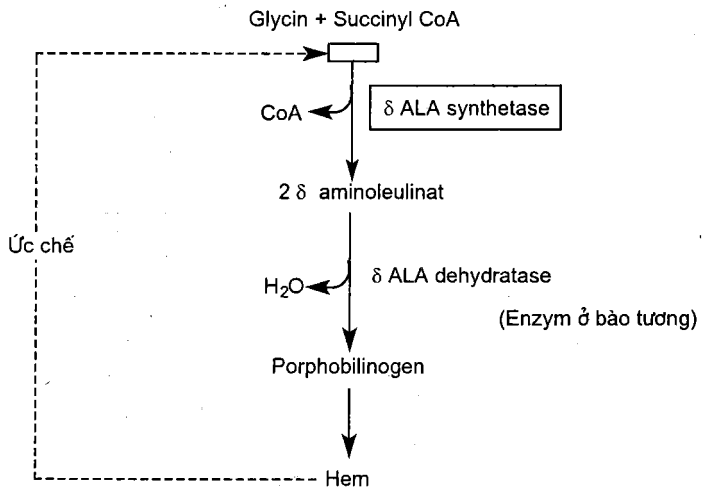
Hình 11.12. Sơ đồ cơ chế tác dụng điều hoà dị lập thể

A: Là cơ chất đầu tiên

B, C, D: Là những sản phẩm chuyển hoá trung gian.

X: Sản phẩm chuyển hoá cuối cùng, ức chế dị lập thể enzym đầu tiên E_1 của chuỗi phản ứng tổng hợp ra X.

Thí dụ: Hem ức chế δ aminolevulinat synthetase (ALA synthetase) là enzym dị lập thể đã làm giảm sự gắn glycin vào Hem như hình 11.13.



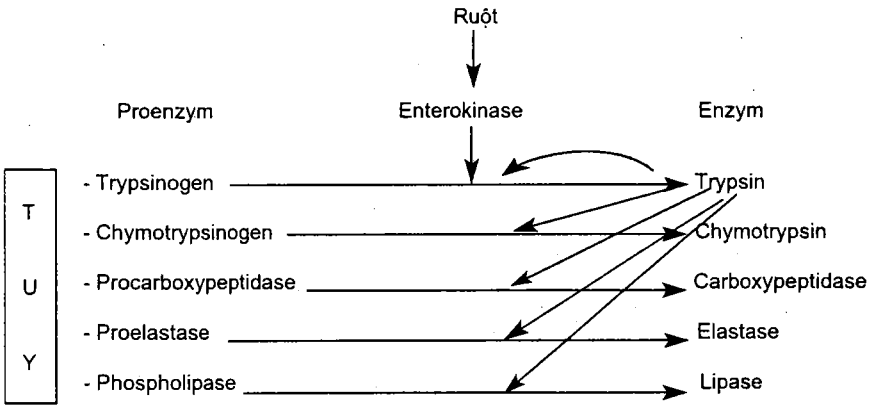
Hình 11.13. Ức chế dị lập thể của Hem lên quá trình tổng hợp porphyrin

Sản phẩm cuối cùng thừa ức chế enzym đầu tiên rất có lợi ích, ngăn chặn các quá trình tiếp theo của quá trình tổng hợp tiết kiệm năng lượng và nguyên liệu cho tế bào.

2.4.2. Hoạt hoá do phản ứng thuỷ phân giới hạn

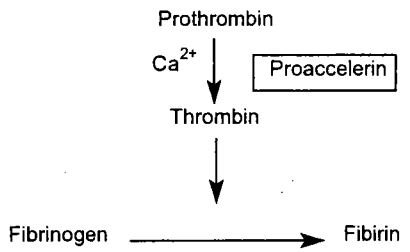
Phần lớn các enzym thuỷ phân thường ở dạng tiền enzym (proenzym) không hoạt động, nhưng khi bị thuỷ phân cắt một mẩu của tiền enzym sẽ biến thành enzym hoạt động. Quá trình này được tổng quát như hình 11.14.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 11.14. Hoạt hóa các enzym tiêu hoá của tụy

Cơ chế tự xúc tác này có lợi cho cơ thể vì bảo vệ được các tế bào sản sinh ra nó. Quá trình thuỷ phân giới hạn cũng xảy ra ở quá trình đông máu, prothrombin, enzym không hoạt động được thuỷ phân thành thrombin hoạt động, thuỷ phân chất sinh sợi huyết hoà tan fibrin là protein làm đông máu. Cơ chế như sơ đồ 11.15.



Hình 11.15. Cơ chế của sự đông máu

Nhiều loại hormon peptid cũng ở hai dạng hoạt động và không hoạt động. Sự thuỷ phân giới hạn hormon proglucagon, proinsulin tạo ra các hormon hoạt động.

2.5. Điều hoà hoạt động enzym trong một số chuyển hoá chính

Điều hoà hoạt động enzym trong các chuyển hoá đã được ghi trong từng chương.

Tuy vậy, một số chặng chính trong các quá trình chuyển hoá có thể nêu như các phần sau:

2.5.1. Đường phân

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Lượng glucose chuyển thành pyruvat được điều hoà bởi phosphofructokinase, nồng độ cao ATP và citrat ức chế men này, ngược lại AMP hoạt hoá men trên.

2.5.2. Chu trình Krebs

Sự điều hoà chủ yếu qua ba enzym là: citrat synthetase, isocitrat dehydrogenase, ceto glutarat dehydrogenase.

2.5.3. Con đường pentose phosphat

Phản ứng oxy hoá glucose 6 phosphat là giai đoạn quan trọng của chu trình pentose được điều hoà bởi nồng độ $NADP^+$, chất nhận điện tử thông qua enzym glucose 6 phosphat dehydrogenase.

2.5.4. Tân tạo glucose

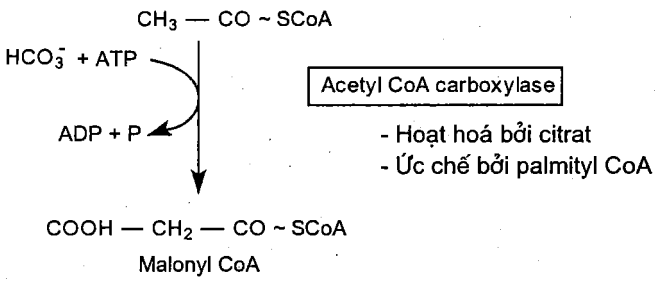
Trong quá trình tân tạo glucose, fructose 1,6 diphosphatase xúc tác phản ứng chuyển fructose 1,6 diphosphat thành fructose 6 phosphat giữ vai trò điều hoà chủ yếu. Enzym này được hoạt hoá bởi citrat và bị ức chế bởi AMP nhưng tác dụng ngược lại đối với fructose 6 phosphat kinase.

2.5.5. Tổng hợp và thoái hoá glycogen

Tổng hợp và thoái hoá glycogen được điều hoà bởi một số hormon như adrenalin, glucagon qua trung gian của AMP vòng để chuyển glycogen synthetase không hoạt động thành phosphorylase hoạt động và ngược lại. Những enzym này được điều hoà nhờ quá trình phosphoryl và khử phosphoryl.

2.5.6. Tổng hợp và thoái hoá acid béo

Acetyl-CoA carboxylase giữ vai trò quan trọng trong quá trình điều hoà acid béo như hình 11.16. Khi ATP và acetyl-CoA nhiều, citrat kích thích quá trình tổng hợp acid béo nhưng bị ức chế bởi palmityl CoA. Mức độ thoái hoá acid béo phụ thuộc nhu cầu sử dụng ATP.



Hình 11.16. Acetyl CoA carboxylase giữ vai trò chủ yếu điều hoà tổng hợp acid béo

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 12

SỰ TRAO ĐỔI NƯỚC VÀ CÁC CHẤT VÔ CƠ THĂNG BẰNG ACID - BASE

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được vai trò của muối và nước.*
2. *Giải thích được sự điều hoà acid - base của cơ thể.*
3. *Viết và giải thích được các thông số đánh giá tình trạng thăng bằng acid-base trong cơ thể.*

1. Sự trao đổi nước và các chất vô cơ

1.1. Đại cương

Nước và chất vô cơ không đóng vai trò cung cấp năng lượng nhưng chúng đóng vai trò quan trọng trong việc tham gia cấu tạo tế bào, duy trì các hoạt động của tế bào. Thiếu nước và muối, sự sống của cơ thể sẽ ngừng sớm hơn khi thiếu các chất hữu cơ. Trong cơ thể sống, sự trao đổi nước và muối có liên quan mật thiết với nhau và liên quan chặt chẽ với sự chuyển hoá các chất hữu cơ. Rối loạn chuyển hoá muối, nước thường là những bệnh cảnh hay gặp trên lâm sàng, rất đa dạng, đòi hỏi phải đánh giá đúng mức và xử lý kịp thời.

1.2. Vai trò của nước và muối trong cơ thể

1.2.1. Vai trò của nước

– Nước giữ vai trò tham gia cấu tạo cơ thể.

Ở người trưởng thành nước chiếm 55-60% trọng lượng cơ thể và thay đổi theo tuổi, giới và tạng. Đàn ông nhiều nước hơn đàn bà, béo chứa ít nước hơn gầy. Trẻ sơ sinh nước chiếm 66-75% trọng lượng cơ thể. Hàm lượng nước trong cơ thể cũng thay đổi tuỳ theo tổ chức (bảng 12.1).

***Bảng 12.1.** Hàm lượng nước trong các tổ chức khác nhau của cơ thể*

Cơ quan	Hàm lượng nước (%)	Cơ quan	Hàm lượng nước (%)
Mô mỡ	25-30	Phổi	79
Xương	16-46	Thận	82
Gan	70	Máu	80-83
Da	72	Tế bào hồng cầu	65
Não	77	Sữa	89
Cơ	76	Nước tiểu	95
Cơ tim	79	Nước bọt	99,4
Mô liên kết	60-90	Mồ hôi	99,5

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Nước tham gia các quá trình hoá lý của cơ thể sống:

+ Nước có hằng số điện môi lớn, có tác dụng phân ly mạnh các chất điện giải làm cho chúng tồn tại ở trạng thái ion, tạo nên áp suất thẩm thấu. Nước hoà tan chất hữu cơ, làm môi trường cho phản ứng hoá học, dẫn truyền thần kinh, nhũ tương lipid.

+ Nước tham gia phản ứng: thuỷ phân, hydrat hoá, hợp nước và vài phản ứng tổng hợp khác.

+ Nước vận chuyển các chất dinh dưỡng và đào thải chất cặn bã.

+ Nước tham gia điều hoà thân nhiệt.

+ Nước tham gia bảo vệ một số cơ quan như dịch não tuỷ, dịch màng phổi, màng tim, dịch khớp; dịch các hốc tai, mắt, mũi...

– Các dạng nước trong cơ thể:

+ Nước tự do: là nước lưu thông bao gồm nước trong máu, bạch huyết, dịch não tuỷ, dịch tiêu hoá, dịch gian bào, nước tiểu và mồ hôi. Nước tự do hoà tan các chất dinh dưỡng, các chất cặn bã.

– Nước kết hợp tham gia vào cấu tạo tế bào gồm hai dạng:

Nước hydrat hoá: gồm nước trong các mixen, tham gia cấu tạo màng hydrat hoá. Có khoảng 10% nước tham gia liên kết với protein tạo nên các mixen. Khi mất nước, hydrat hoá các tiểu phân keo sẽ bị đông vón.

Nước tham gia vào màng lưới của gen, tạo nên trạng thái nửa rắn của gen, mặc dù gen chỉ chứa một lượng nhỏ chất khô. Ví dụ: con sứa chứa 96% nước nhưng vẫn duy trì được hình dạng của nó.

1.2.2. Vai trò của muối vô cơ trong cơ thể

– Muối tham gia cấu tạo tế bào và mô: muối có trong thành phần của tế bào, quan trọng nhất ở tổ chức xương, răng ; đó là dạng muối không tan.

– Muối tham gia tạo áp suất thẩm thấu:

Tạo bởi các ion: Na^+, K^+, Ca^{++}, Cl^-, HCO^-_3, $H_2PO_4^-$.

– Muối tham gia tạo hệ thống đệm: trong nhiều hệ thống đệm của cơ thể, hai hệ thống đệm do muối vô cơ tạo ra là hệ đệm bicarbonat ($H_2CO_3/NaHCO_3$) và hệ đệm phosphat (NaH_2PO_4/Na_2HPO_4 và KH_2PO_4/K_2HPO_4) có vai trò rất quan trọng.

– Muối bình ổn protein ở trạng thái keo trong tế bào mô. Muối có tác dụng đặc biệt đối với trạng thái lý hoá của các protein trong tế bào. Mức độ hoà tan, khuyếch tán của nhiều loại protein phụ thuộc vào nồng độ một số ion, do đó những chức phận sinh lý của tế bào cũng phụ thuộc rất lớn vào nồng độ và tỷ lệ các ion, nhất là muối ở dạng phức hợp với protein.

THƯ VIỆN HUBT

– Một số ion có vai trò đặc biệt khác như kích thích hay kìm hãm enzym: Cl^- kích thích amylase; K^+, Na^+ kích thích ATPase; Pb^{++}, Hg^{++}, Cu^{++} kìm hãm hoạt động nhiều enzym, tham gia quá trình đông máu và dẫn truyền thần kinh, tham gia cấu tạo hormon như ion tạo T_3 và T_4 , tham gia cấu tạo hemoglobin và các cytocrom chứa sắt.

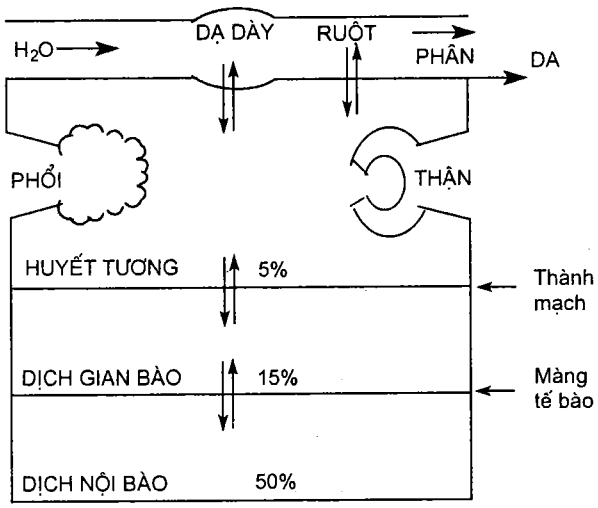
1.3. Sự trao đổi nước

1.3.1. Sự xuất nhập và phân phối nước

– Toàn bộ nước trong cơ thể chia làm hai khu vực:

+ Nước nội bào chiếm khoảng 50% trọng lượng cơ thể.

+ Nước ngoại bào bao gồm huyết tương và các dịch tổ chức, tất cả chiếm khoảng 20% trọng lượng cơ thể, trong đó huyết tương chiếm khoảng 5% còn các dịch thể khác khoảng 15%. Sự phân phối nước trong cơ thể như hình 12.1:



Hình 12.1. Sự phân bố nước trong cơ thể

– Nhu cầu về nước thay đổi theo lứa tuổi: ở người lớn 15ml/24 giờ/kg, ở trẻ em còn bú 35ml/24 giờ/kg cho nên trẻ em bị mất nước rất nguy hiểm vì ảnh hưởng tới thần kinh gây co giật. Nhu cầu nước còn phụ thuộc vào điều kiện lao động.

+ Nhập nước: 2,5 lít/ngày cho người trưởng thành theo con đường ăn uống và chuyển hoá: uống 1,2lít, ăn 1lít, chuyển hoá 0,3lít (oxy hoá 100g mỡ cho 107ml H_2O, 100g đường cho 55 ml H_2O; 100g protein cho 41ml H_2O).

+ Xuất nước:

Bình thường có sự cân bằng giữa nhập và xuất nước. Đào thải nước qua thận, ruột, da và phổi. Qua da dưới dạng mồ hôi từ 0,5 - 0,9lít, qua phân khoảng 0,1lít, đào thải chủ yếu qua thận khoảng 1,5lít. Bài xuất tăng khi bị bệnh ỉa chảy, nôn nhiều , lao động ở nhiệt độ cao.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Cân bằng xuất nhập nước hay bilan nước:

Tỷ lệ giữa nước nhập vào và xuất ra gọi là cân bằng nước hoặc bilan nước.

Bilan bằng 0: nước nhập bằng nước xuất ở người lớn

Bilan dương: nước nhập lớn hơn nước xuất; gặp khi phù, đói kéo dài.

Bilan âm: nước nhập nhỏ hơn nước xuất, gặp khi rối loạn chức năng thận, ở một số bệnh tuyến yên như đái tháo nhạt.

– Phân bố nước trong cơ thể: nước phân bố không đều trong các cơ quan và tổ chức, được chia thành 2 khu vực chính:

+ Khu vực trong tế bào chiếm 55% lượng nước, đó là nước tạo nên tế bào còn gọi là nước kết hợp, gồm hai dạng: nước hydrat hoá tạo nên các mixen hydrat hoá các ion Na^+, Cl^- để tạo dạng $Na^+(H_2O)_x^+$, $Cl^-(H_2O)_y^-$); nước bị cầm là nước nằm xen kẽ trong nguyên sinh chất của tế bào. Nước bị cầm có thể bị đóng băng dưới 0°C, còn nước hydrat hoá không bị đóng băng kể cả khi lạnh đến -20°C. Điều này có thể giải thích vi khuẩn không bị chết ở nhiệt độ lạnh dưới 0°C, loại nước này không có đặc tính của nước tự do.

+ Khu vực ngoài tế bào chiếm 45% lượng nước toàn phần, gồm nước của huyết tương và bạch huyết (7,5%), dịch gian bào 20%, các mô liên kết 7,5%, của tổ chức xương - sụn 8% và các dịch sinh vật khác. Nước khu vực này gọi là nước lưu thông hay nước tự do.

1.3.2. Sự vận chuyển nước trong cơ thể

Nước sau khi được đưa vào cơ thể được vận chuyển đến tổ chức của cơ thể, nước luôn luôn đổi mới, cứ 24 giờ có 6% tổng lượng nước thay đổi. Người lớn sự tồn lưu của nước là 15 ngày và ở trẻ em thường 3 đến 5 ngày. Sở dĩ nước vận chuyển được trong cơ thể là do một số yếu tố quyết định cho quá trình này nhờ sự chênh lệch áp suất giữa các tổ chức:

– Áp lực thẩm thấu: yếu tố cơ bản quyết định sự khu trú và khối lượng dịch trong các khu vực, áp lực này do các yếu tố hoà tan trong nước ở các dịch tạo nên, có thể chia 3 loại.

+ Các chất điện giải như K^+, Na^+, HPO_4^- đóng vai trò quyết định đến sự phân bố và vận chuyển nước trong cơ thể.

+ Các chất hữu cơ có phân tử lượng nhỏ như glucose, acid amin, urê, v. v... Các chất này chỉ tham gia điều chỉnh lượng nước toàn phần mà thôi.

+ Các chất hữu cơ có phân tử lượng lớn chủ yếu protein. Sự chênh lệch áp lực thẩm thấu do nồng độ protein trong tế bào gấp 3,5 lần nồng độ protein trong huyết tương nên tạo ra giữa các khu vực khác nhau trong cơ thể, đó là yếu tố quan trọng quyết định sự vận chuyển nước giữa các khu vực. Áp lực thẩm thấu khu vực nào càng cao thì nước được kéo vào đó càng nhiều.

– Áp lực thủy tĩnh: sự co bóp tim trái là áp lực của dòng máu ép vào thành mạch được gọi là huyết áp. Áp lực này có xu hướng ngược với áp lực thẩm thấu- nếu xét về phương diện vận chuyển nước. Áp lực thuỷ tĩnh có xu hướng đẩy nước ra khỏi vùng nó có tác dụng. Áp lực thủy tĩnh trong các tế bào đẩy nước qua màng tế bào ra ngoài.

THƯ VIỆN HUBT

1.3.3. Sự vận chuyển nước giữa các khu vực

– Cân bằng Donnan và áp lực keo.

Trường hợp các chất phân ly có phân tử lượng nhỏ, quá trình khuếch tán theo quy luật vật lý, nơi có nồng độ cao chuyển sang vùng nồng độ thấp.

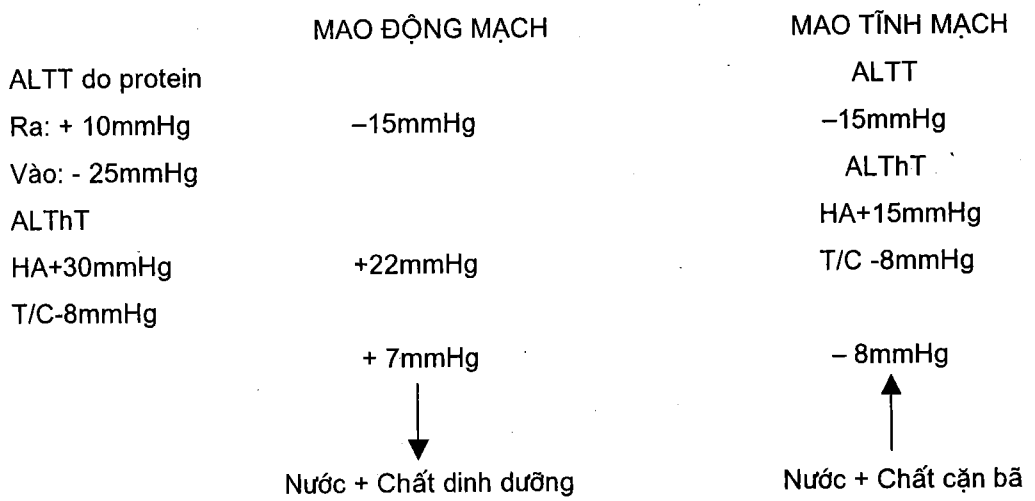
Trường hợp các chất keo có phân tử lượng lớn như hỗn hợp protein và dạng muối của nó thì chỉ có Na^+ hay Cl^- đi qua được màng bán thấm.

Theo định luật Donnan thứ nhất: sự cân bằng sẽ đạt được khi tích số của các ion khuyếch tán có cùng một trị số ở mỗi phía của màng bán thấm.

Theo định luật Donnan thứ hai: khi đã có sự cân bằng, tổng điện tích của các ion dương bằng tổng điện tích các ion âm ở mỗi phía.

Như vậy ở trạng thái cân bằng Donnan, áp lực thẩm thấu của khu vực có chứa chất keo protein bao giờ cũng lớn hơn áp lực thẩm thấu ở khu vực không có protein. Sự chênh lệch này không chỉ do protein tạo áp lực keo tạo ra mà còn do nồng độ các ion khuyếch tán ở khu vực chứa protein cao hơn bên kia. Tổng áp lực keo và sự chênh lệch áp lực thẩm thấu của ion khuyếch tán được gọi là áp lực do keo.

– Sự trao đổi nước giữa huyết tương và dịch gian bào:



Hình 12.2. Sự vận chuyển nước giữa hai khu vực: huyết tương và dịch gian bào

ALTT: áp lực thẩm thấu — T/C: tổng cộng sự chênh lệch

ALThT: áp lực thủy tĩnh — HA: Huyết áp

Ghi chú: (+) lực đẩy nước ra khỏi lòng mạch; (-) lực hút nước ra khỏi lòng mạch.

+ Thành mạch là một màng bán thấm ngăn cách huyết tương và dịch gian bào. Nồng độ protein máu thường 70g/l tương đương 16mEq/l tạo được áp lực thẩm thấu là 25mmHg. Vì bị ngăn cách bởi thành mạch nên nồng độ các chất trong ngoài thành mạch khác nhau về nồng độ protein. Nồng độ protein dịch gian bào thấp, chỉ tạo được 10 mmHg áp lực thẩm thấu nên có sự chênh lệch về áp lực thẩm thấu tạo áp lực hút nước từ khu vực gian bào vào thành mạch.

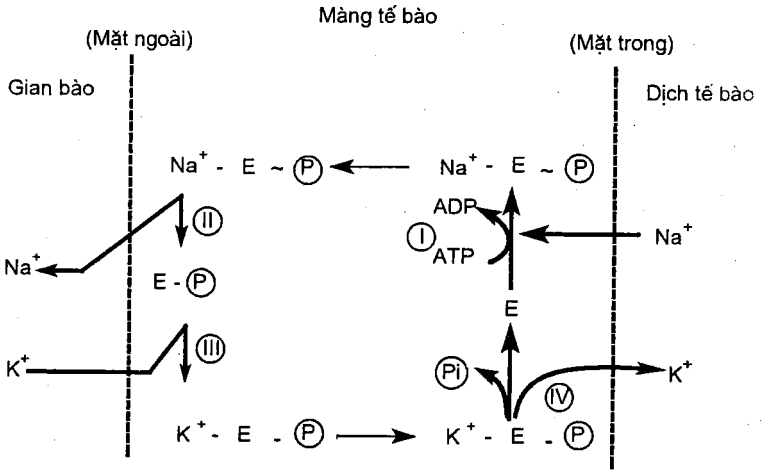
THƯ VIỆN HUBT

+ Áp lực thuỷ tĩnh có tác dụng ngược lại áp lực thẩm thấu và luôn luôn có xu hướng đẩy nước từ lòng mạch vào dịch gian bào vì huyết áp ở các phần của

mạch máu luôn luôn cao hơn áp lực thuỷ tĩnh của tổ chức. Tuy vậy, từng phần khác nhau của hệ mạch, có nơi áp lực thuỷ tĩnh thắng được áp lực thẩm thấu tạo ra quá trình đưa nước ra hay hút nước vào của lòng mạch như hình 12.2.

– Sự trao đổi nước giữa khu vực ngoài và trong tế bào:

Màng tế bào ngăn cách hai khu vực chỉ cho nước qua lại tự do và chỉ cho qua chọn lọc chất điện giải và các chất hoà tan khác. Đây là đặc điểm quý của màng tế bào duy trì hoạt động của tế bào. Thành phần chất điện giải ở hai phía màng khác nhau, nồng độ protein ở dịch trong tế bào cao hơn ngoài. Các chất được vận chuyển qua màng theo nhiều cơ chế khác nhau, trong đó cơ chế vận chuyển tích cực nhằm duy trì tình trạng chênh lệch về nồng độ của các chất, đảm bảo cho tế bào hoạt động bình thường. Sự trao đổi nước liên quan chặt chẽ với sự trao đổi ion hoà tan trong nước; nhiều nhất là sự trao đổi Na^+, K^+, Ca^{++} và Cl^-. Do vậy vai trò bơm K^+, Na^+ qua màng tế bào được chú ý nhiều nhất (như hình 12.3).



Hình 12.3. Bơm K^+, Na^+ ở màng tế bào
Duy trì nồng độ cation và tạo thế năng màng

Mô hình bơm K^+, Na^+ qua màng tế bào có nhiều cách giải thích và nhiều mô hình khác nhau nhưng thực chất đó là hoạt động của enzym ATPase màng tế bào. Khi một phân tử ATP được sử dụng thì vận chuyển được $3Na^+$ và $2K^+$.

K^+, Na^+ ATPase có ái lực cao với Na^+ nên ở mặt trong màng tế bào enzym này gắn với Na^+ đồng thời với phản ứng thuỷ phân ATP, do sự có mặt của Na^+ như yếu tố hoạt hoá ATPase để tạo gốc phosphat giàu năng lượng được liên kết với ATPase và Na^+ tạo phức hợp Na^+ - E ~ Ⓟ. Tiếp đó phức hợp này chuyển ra ngoài tế bào, giải phóng Na^+, liên kết phosphat giàu năng lượng mất đi làm thay đổi cấu hình phức hợp thành dạng E-Ⓟ. Dạng E-Ⓟ có ái lực cao với K^+ nên nhận lấy K^+ phía mặt ngoài tế bào tạo phức mới K^+ - E - Ⓟ. Sự kết hợp này kích thích phức hợp di chuyển trở lại phía mặt trong của tế bào giải phóng ion K^+ vào dịch trong tế bào, đồng thời gốc phosphat được tách ra để hoàn thành chu trình vận chuyển gồm 4 giai đoạn như hình 12.3. Nhờ hoạt động của bơm K^+, Na^+ nên luôn duy trì nồng độ K^+ trong tế bào cao hơn K^+ ngoài tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Điều hoà trao đổi muối và nước trong cơ thể

Ở trạng thái sinh lý bình thường bilan nước bằng không. Quá trình nhập và xuất nước có lúc không bình thường được cơ thể điều hoà bởi các yếu tố thần kinh, nội tiết thông qua chức năng của một số cơ quan trong đó quan trọng nhất là thận.

Có nhiều hormon tham gia điều hoà thăng bằng muối, nước. Kích tố chống bài niệu vasopressin tác động chủ yếu lên quá trình tái hấp thụ nước trong ống thận.

Aldosteron có tác dụng quyết định lên sự tái hấp thụ bài xuất Na^+ và K^+ ở ống thận. Coctison và aldosteron có tác dụng giữ nước. Hormon tuyến giáp gây tăng bài tiết nước tiểu và mồ hôi. Các chất vô cơ và hữu cơ có tác dụng khác nhau, Na^+ có tác dụng giữ nước, K^+, và Ca^{++} gây tăng bài xuất nước tiểu do không được tái hấp thụ. Glucid, protein tăng tác dụng giữ nước. Lipid tăng đào thải nước.

1.5. Sự trao đổi các chất vô cơ

1.5.1. Nhu cầu hấp thụ và bài xuất

– Nhu cầu phụ thuộc lứa tuổi và hoạt động sinh lý. Trẻ em cần thiết calci và phosplo cho sự phát triển xương. Phụ nữ có thai cần nhiều muối hơn bình thường. Nhu cầu hàng ngày: Na^+: 4-6g; Cl^- 2-4g; P: 1,5-2g; Ca^{++}: 0,7-0,8g.

– Hấp thụ:

NaCl, KCl hấp thụ hoàn toàn.

Na_2SO_4 và $MgSO_4$ ít được hấp thụ:

Nhu cầu hấp thụ còn phụ thuộc vào chất đó là chất vô cơ hay hữu cơ?

– Bài xuất: bài xuất qua nước tiểu, mồ hôi. Nước tiểu chứa hầu hết các muối và thay đổi theo chế độ ăn. Các muối không được hấp thụ đào thải theo phân là: $Ca_3(PO_4)_2$, $MgSO_4$, kim loại nặng.

1.5.2. Rối loạn chuyển hoá nước và chất vô cơ

Nước và chất điện giải liên quan với nhau qua áp lực thẩm thấu. Rối loạn thăng bằng muối, nước chia hai loại lớn:

– Tình trạng ứ nước và muối.

– Mất nước và muối.

Ngoài ra, còn chia theo khu vực: ngoài tế bào, trong tế bào đơn thuần hay phối hợp.

a. Tình trạng ứ nước và muối:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Ứ nước đơn thuần trong tế bào do uống hoặc tiêm truyền nhiều gây tăng sản xuất nước nội sinh, cơ thể không thải nước được, khu vực ngoài tế bào trở nên nhược trương, nước chuyển vào trong gây ứ nước.

– Ứ nước ngoài tế bào: tăng áp lực tĩnh mạch, protein máu giảm, tăng tính thấm thành mạch, suy giảm chức năng đào thải của thận, nhập thừa NaCl, bệnh lý thượng thận, tăng aldosteron.

Tất cả những nguyên nhân trên dẫn đến tình trạng phù.

b. Tình trạng mất nước và muối:

– Mất nước toàn phần + mất muối: do nôn, ỉa chảy kéo dài, mất dịch dẫn lưu, cân bằng bilan (-).

– Mất nước và muối khu vực ngoài tế bào: mất dịch tiết nhiều (bỏng), giai đoạn đầu ỉa chảy, nôn nặng. Điều trị: cho các loại huyết thanh đẳng trương.

c. Các rối loạn hỗn hợp:

– Ứ nước ngoài tế bào + mất nước trong tế bào: do suy thận.

– Mất nước ngoài tế bào + ứ nước trong tế bào: do nôn, ỉa chảy cấp.

1.5.3. Rối loạn do nội tiết

– Thiếu vasopressin gây đái tháo nhạt, nước tiểu ban đầu không được cô đặc.

– Hormon vỏ thượng thận.

1.6. Chuyển hoá của một số nguyên tố

Gồm 7 nguyên tố chính chiếm 60-80% chất vô cơ là: Na, K, Ca, Mg, Cl, P, S và khoảng 7 nguyên tố dạng vi lượng: Fe, Cu, Mn, Co, Zn, Mo rất cần cho sự sống. Ngoài ra còn nhiều nguyên tố khác mà vai trò chưa xác định.

1.6.1. Natri-dạng NaCl và $NaHCO_3$

Điều hoà áp suất thẩm thấu, cân bằng acid - base dạng NaCl 95% bài xuất qua nước tiểu, một phần mồ hôi và phân. Na^+ phần lớn tồn tại dịch ngoại bào, 1/3 tổng số Na^+ có trong xương. Thiểu năng thượng thận gây tăng bài tiết Na^+ ở nước tiểu.

1.6.2. Kali (K)

Ảnh hưởng trên hoạt động của cơ đặc biệt là cơ tim. Kali tham gia dẫn truyền thần kinh cùng Na^+, điều hoà thăng bằng acid - base và áp suất thẩm thấu.

Kali có nhiều trong thịt, hoa quả. Kali trong cơ thể là dạng cation có nhiều trong tế bào. Kali ngoài tế bào có tác dụng trên hoạt động của cơ. K^+ được thận bài tiết mạnh nên tổn thương thận gây tăng K^+ huyết. Thiểu năng vỏ thượng thận (Addison), K^+ tăng được điều trị bằng DOC (desoxycorticosteron).

K^+ hạ sau khi mổ, ỉa chảy, thủng dạ dày, ruột, loét dịch vị kéo dài, cường vỏ thượng thận, tiêm nhiều ACTH, dùng thuốc lợi tiểu. Hạ K^+ máu gây mỏi cơ, liệt, tim đập nhanh, dễ kích thích.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.6.3. Calci (Ca)

Calci có nhiều nhất tập trung ở xương và răng. Ca^{++} điều hoà dẫn truyền thần kinh (giảm kích thích), tham gia quá trình đông máu, hoạt hoá cholinesterase và nhiều quá trình quan trọng khác.

Calci có nhiều trong sữa, thực phẩm và được đưa vào cơ thể dưới dạng muối carbonat, lactat, gluconat, phosphat. Dùng vitamin D kèm calci gây tăng calci máu. Lượng protein của thức ăn cũng gây tăng hấp thụ calci. Calci được đào thải một phần qua thận và một phần theo phân.

Calci huyết giảm dễ gây co giật, ví dụ: do tăng pH máu, hấp thụ ở ruột giảm, tăng bài xuất ở thận, thiểu năng cận giáp. Thiếu calci, phosphor và vitamin D dẫn tới còi xương trẻ em.

1.6.4. Clo (Cl)

Cùng Na^+, Cl^- đóng vai trò tạo áp suất thẩm thấu giữ nước cho cơ thể và điều hoà thăng bằng acid - base. Ngoài ra, Cl^- cần thiết cho việc tạo HCl dịch vị.

Cl^- được đưa vào cơ thể ở dạng NaCl nên rối loạn Cl^- giống Na^+. Trường hợp nôn nhiều hay hẹp môn vị Cl^- bị mất nhiều hơn Na^+, Cl^- huyết tương giảm dẫn đến nhiễm acid do tăng bù HCO_3^-.

1.6.5. Phospho (P)

Phospho ở mọi tổ chức tế bào, 80% ở xương và răng, 10% trong máu và cơ, 10% ở tổ chức khác. Phospho tham gia hầu hết các quá trình chuyển hoá và có mặt trong hệ thống đệm phosphat.

Tỷ lệ Ca/P thích hợp cho thức ăn người lớn là 1/1, trẻ em là 2/1. Chuyển hoá Ca và P giống nhau. Phospho máu tăng trong thiểu năng cận giáp, phospho máu giảm trong cường cận giáp, đặc biệt trong bệnh còi xương, nhuyễn xương, rối loạn hấp thụ ruột, thiếu vitamin D.

1.6.6. Magnesi (Mg)

Tham gia cấu tạo xương, co cơ và hoạt hoá enzym. Mg^{++} tăng gây hạ Ca^{++} máu. Mg^{++} giảm trong bệnh còi xương, xốp xương, co giật.

1.6.7. Lưu huỳnh (S)

Tham gia cấu tạo protein. Hợp chất chứa S tham gia quá trình khử độc (–SH), quá trình oxy hoá khử. S có trong 3 acid amin: cystein, cystin, methionin. Lưu huỳnh được đào thải dưới dạng sulfat. Tổ chức chứa nhiều S là keratin của lông, sừng, móng nên là nguyên liệu tách cystin, cystein.

1.6.8. Sắt (Fe)

Sắt có mặt trong một số protein và enzym như hemoglobin, myoglobin, cytocrom, catalase, peroxydase.

Thiếu sắt gây thiếu máu. Sắt vận chuyển trong máu dạng transferin (Fe^{++}), dự trữ ở gan, lách, tuỷ xương dưới dạng feritin.

1.6.9. Đồng (Cu)

Là thành phần một số enzym: cytocrom, catalase, MAO (monoaminoxydase).

Nhu cầu 2,5mg/ngày và thải qua đường ruột. Thiếu đồng gây thiếu máu nhược sắc. Ứ đọng đồng ở gan gây xơ gan, ở thận gây tổn thương thận.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.6.10. Flo (F)

Flo cần thiết cho việc bảo vệ men răng.

1.6.11. Iod (I)

Tập trung ở tuyến giáp, tham gia tổng hợp hormon tuyến giáp như T_3, T_4.

1.6.12. Kẽm (Zn)

Nhu cầu kẽm cho cơ thể vào khoảng 10-15mg/ngày.

Kẽm phân phối khắp các tổ chức nhưng nhiều nhất ở hồng cầu. Zn là thành phần một số men như carboxypeptidase, lactatdehydrogenase, alcoldehydrogenase. Thiếu Zn gây rối loạn chuyển hoá các men trên.

1.6.13. Cobal (Co)

Cobal có trong thành phần của vitamin B_{12}, tham gia tạo hồng cầu.

1.6.14. Mangan (Mn)

Mangan hoạt hoá nhiều men như: phosphatase, arginase, carboxylase.

1.6.15. Molybden (Mo)

Molybden là thành phần của nhiều men như xanthinoxydase "sữa", aldehytoxydase (gan); ức chế acid phosphatase.

Các nguyên tố vi lượng trên đây rất quan trọng, thiếu chúng sự phát triển cơ thể giảm và nhiều trường hợp còn gây ra bệnh hiểm nghèo.

2. Thăng bằng acid - base

Thăng bằng acid - base là sự ổn định pH hay nồng độ ion H^+ trong cơ thể. Sự ổn định này luôn bị phá vỡ bởi nhiều nguyên nhân khác nhau nhưng cơ thể vẫn giữ vững nồng độ ion H^+ ổn định trong giới hạn sinh lý. Khi bị rối loạn acid - base, nồng độ ion H^+ có thể có những thay đổi lớn làm cho chuyển hoá các chất và hoạt động chức năng của cơ thể bị biến đổi sâu sắc, có khi khó khôi phục. pH của máu được ổn định vào khoảng 7,38 đến 7,42; máu tĩnh mạch có pH thấp hơn một chút. pH máu được ổn định là nhờ các hệ đệm trong máu và tổ chức.

2.1. Các hệ đệm của cơ thể

2.1.1. Hệ đệm của huyết tương và dịch gian bào

– Hệ đệm bicarbonat: là hệ đệm quan trọng nhất của huyết tương. Thành phần gồm acid carbonic (H_2CO_3) và base của nó (anion bicarbonat (HCO_3^-). Trong cơ thể hệ đệm này luôn ở trạng thái cân bằng:

$$CO_2 \text{ hoà tan} \underset{-H_2O}{\overset{H_2O}{\rightleftharpoons}} H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

CO_2 hoà tan chính là lượng CO_2 sinh ra trong các tổ chức được đưa vào máu và các dịch, là chất cung cấp ion H^+ của hệ đệm này khi tồn tại dạng acid H_2CO_3.

Theo phương trình Henderson-Hasselbalch với hệ đệm bicarbonat có thể viết như sau:

$$\frac{[H^+].[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = K$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

$$\frac{[H^+].[HCO_3^-]}{[CO_2 \text{ hoà tan}]} = K$$

Trong cơ thể CO_2 vừa là pha khí (chính là CO_2 của phế nang) vừa là pha nước (chính là CO_2 trong máu và dịch dưới dạng H_2CO_3). Các dạng này có quan hệ mật thiết với nhau ở trạng thái cân bằng:

$$CO_2 \text{ phế nang} \rightleftharpoons CO_2 \text{ hoà tan} \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Theo định luật Henry: nồng độ khí hoà tan trong dung dịch tỷ lệ thuận với áp lực riêng phần của khí đó trên bề mặt dung dịch. Đối với CO_2, sự phụ thuộc trên được xác định bằng phương trình:

$$CO_2 \text{ hoà tan} = \alpha p CO_2 \text{ phế nang}$$

pCO_2 phế nang là áp lực riêng phần CO_2 trong không khí phế nang, α là hệ số hoà tan của CO_2 trong huyết tương ở 37°C là 0,03 mmol/lít/mmHg.

Trong quá trình tuần hoàn máu qua mao mạch phổi, sự cân bằng áp lực CO_2 giữa không khí phế nang và máu:

pCO_2 (phế nang) = pCO_2 (máu động mạch).

Liên hệ với phương tình Henderson-Hasselbalch ta có:

$$\frac{[H^+].[HCO_3^-]}{\alpha pCO_2} = K \rightarrow |H^+| = K \times \frac{\alpha pCO_2}{|HCO_3^-|} \rightarrow pH = pK + \log \frac{|HCO_3^-|}{0{,}03 pCO_2}$$

Phương trình pH này cho thấy sự thăng bằng acid - base trong cơ thể sống phụ thuộc trực tiếp một cách tỷ lệ thuận với nồng độ ion bicarbonat và tỷ lệ nghịch với áp lực khí CO_2 trong máu. Thông qua phương trình này Astrup đã nêu ra phương pháp nội suy trong kỹ thuật xác định các thông số để đánh giá tình trạng thăng bằng acid - base trong cơ thể.

– Hệ đệm phosphat: gồm các hệ đệm phosphat vô cơ và hữu cơ. Hệ đệm quan trọng nhất của huyết tương và dịch gian bào là muối NaH_2PO_4 (acid yếu) và Na_2HPO_4 (base của nó). Vai trò hệ đệm này không lớn vì hàm lượng muối phosphat thấp (2mEq/lit máu).

– Hệ đệm protein: chiếm 10% dung tích đệm. Protein là chất lưỡng tính nên nó biểu thị tính acid hay base tuỳ thuộc vào môi trường. Khả năng hệ đệm này không lớn, nhất là ở khu vực gian bào vì nồng độ protein thấp.

THƯ VIỆN HUBT

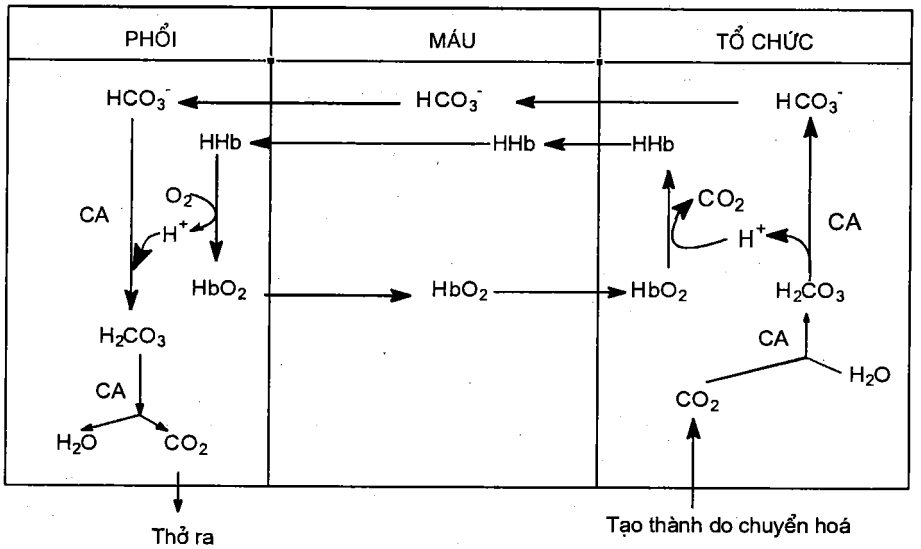
2.1.2. Các hệ đệm của hồng cầu

Hồng cầu chứa hệ đệm như trong huyết tương nhưng số lượng ít hơn bao gồm: hệ đệm bicarbonat, hệ đệm phosphat ở dạng KH_2PO_4/K_2HPO_4; hệ đệm hemoglobin chiếm 82% dung tích đệm toàn phần gồm hemoglobin (Hb) và oxyhemoglobin (HbO_2) tác dụng như acid yếu, được ký hiệu HHb và $HHbO_2$ và dạng muối của chúng là KHb và $KHbO_2$.

Hệ đệm hemoglobin liên quan mật thiết với quá trình trao đổi khí ở phổi và các tổ chức. Ở phổi hemoglobin kết hợp với oxy để giải phóng H^+, H^+ kết hợp với HCO_3^- tạo thành H_2CO_3. Phế nang phổi có áp lực CO_2 thấp nên H_2CO_3 bị phân ly thành CO_2 và nước, sau đó khí CO_2 bị đào thải ra ngoài. HbO_2 được tạo thành theo máu động mạch đến các tổ chức giải phóng O_2 và Hb dạng khử. CO_2 hình thành trong quá trình chuyển hoá các chất kết hợp với nước tạo H_2CO_3 được phân ly thành H^+ và HCO_3^- nhờ sự xúc tác của carbonic anhydrase. Hb nhận ion H^+ để hình thành HHb rồi theo máu đến phổi để gắn oxy, một phần CO_2 của máu (khoảng 5%) được gắn với nhóm base của hemoglobin như sau:

$$R\text{-}NH_2 + CO_2 \leftrightarrow R\text{-}NH\text{-}COO^- + H^+$$

Cơ chế điều hoà của hệ đệm hemoglobin được mô tả trong hình 12.4:



Hình 12.4. Cơ chế tác dụng của hệ đệm hemoglobin (CA = carbonic anhydrase)

Dịch trong tế bào gồm các hệ đệm như trong huyết tương và dịch gian bào, có tác dụng hỗ trợ với nhau rất lớn trong quá trình đệm acid hoặc base của cơ thể.

2.2. Sự điều hoà thăng bằng acid - base của cơ thể

2.2.1. Tác dụng của hệ đệm

Hệ đệm có tác dụng rất nhanh đối với tác nhân gây mất cân bằng pH nội mô, duy trì pH nội mô ổn định. Hệ đệm của huyết tương và dịch ngoài tế bào chia làm hai loại:

THƯ VIỆN HUBT

Hệ đệm bicarbonat H_2CO_3/HCO_3^-, hệ đệm ngoài bicarbonat bao gồm các hệ đệm khác. Hệ đệm bicarbonat có khả năng ổn định nhanh pH của cơ thể, chẳng hạn khi cơ thể bị nhận một lượng acid amin mạnh (AH) thì 53% số lượng acid đó được hệ đệm carbonat ổn định, còn 47% còn lại sẽ kết hợp với các anion của hệ đệm khác..Ngược lại khi cơ thể nhận một lượng kiềm mạnh thì 53% base đó sẽ kết hợp với acid carbonic, phần còn lại 47% sẽ kết hợp với acid yếu của các hệ đệm khác. Do vậy, sự tăng của acid hay base không ảnh hưởng đến pH của cơ thể.

2.2.2. Sự điều hoà thăng bằng acid - base bởi cơ chế sinh lý

a. Điều hoà do phổi

Phổi có vai trò quan trọng trong quá trình điều hoà pH của cơ thể. Tốc độ tạo thành CO_2 trong cơ thể thường 200ml/phút tương đương 10mmol/phút. CO_2 khuếch tán vào máu, dịch gian bào rồi đến phổi, thải ra ngoài với tốc độ đào thải bằng tốc độ hình thành CO_2. Trong tế bào, CO_2 hoà tan dưới dạng H_2CO_3, được cân bằng bởi hệ thống các ion H^+ và HCO_3^-. Trong cơ thể, ở 37°C giá trị pK của acid carbonic là:

$$pK_{H_2CO_3} = 6,10$$

Hệ số hoà tan của CO_2 là: $\alpha = 0,03$ mmol/lít/mmHg

$$\text{Vì } pH = pK + \log \frac{|HCO_3^-|}{0,03pCO_2} \text{ nên } pH = 6,1 + \log \frac{|HCO_3^-|}{0,03pCO_2} \quad (1)$$

Do phổi liên tục đào thải CO_2 nên có sự cân bằng CO_2, CO_2 tạo thành và đào thải ra, pCO_2 của máu và các dịch không đổi, pH của cơ thể luôn ở giá trị hằng định.

– Hoạt động của phổi khi có acid mạnh xâm nhập cơ thể:

Khi cơ thể nhận một acid mạnh bị phân ly hoàn toàn thì ion H^+ được hệ đệm bicarbonat trung hoà để tạo thành H_2CO_3, phân ly thành CO_2 và H_2O. CO_2 được đào thải bằng đường phổi như hình 12.5, lúc bình thường và quá trình đệm khi có acid mạnh (hình 12.6).

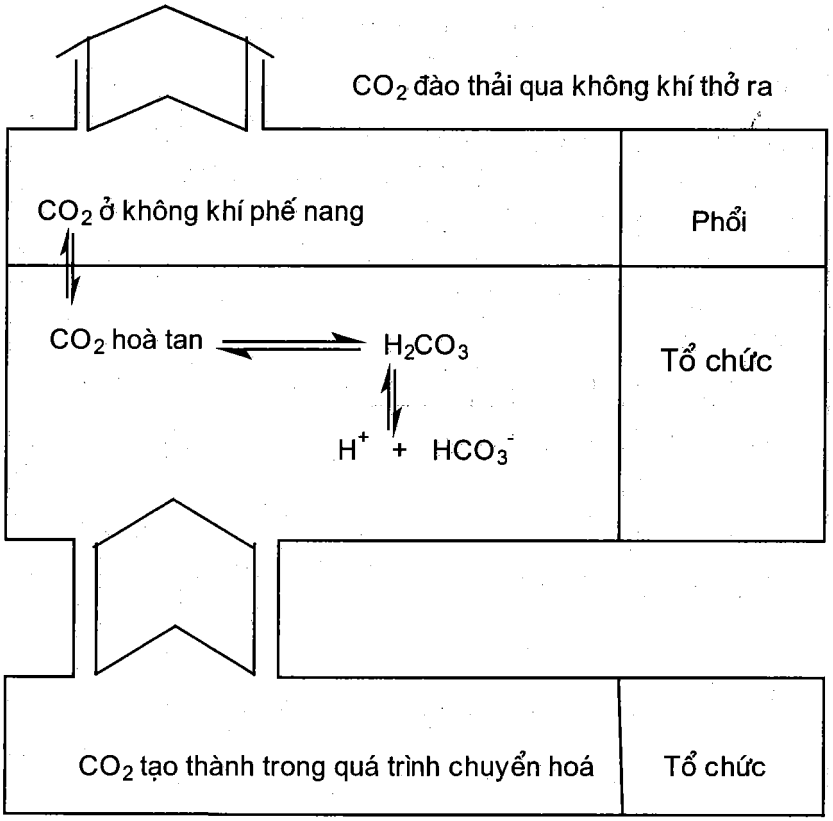
Để minh họa có thể lấy thí dụ một lít huyết tương có 24 mEq/l HCO_3^-, trong điều kiện $pCO_2 = 40$ mmHg, pH huyết tương được tính:

$$pH = pK + \log \frac{|HCO_3^-|}{\alpha pCO_3^-}$$

Theo phương trình (1) ta có:

$$pH = 6,1 + \log \frac{24}{0,03 \times 40} \quad pH = 6,1 + \log 2 = 7,4$$

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 12.5. Cơ thể người như một hệ thống mở:
CO_2 đào thải bằng lượng CO_2 tạo thành ở tổ chức

Chẳng hạn cho vào huyết tương 10mEq acid mạnh phân ly thành 10mEq H^+, ion H^+ sẽ phản ứng với HCO_3^- như sau:

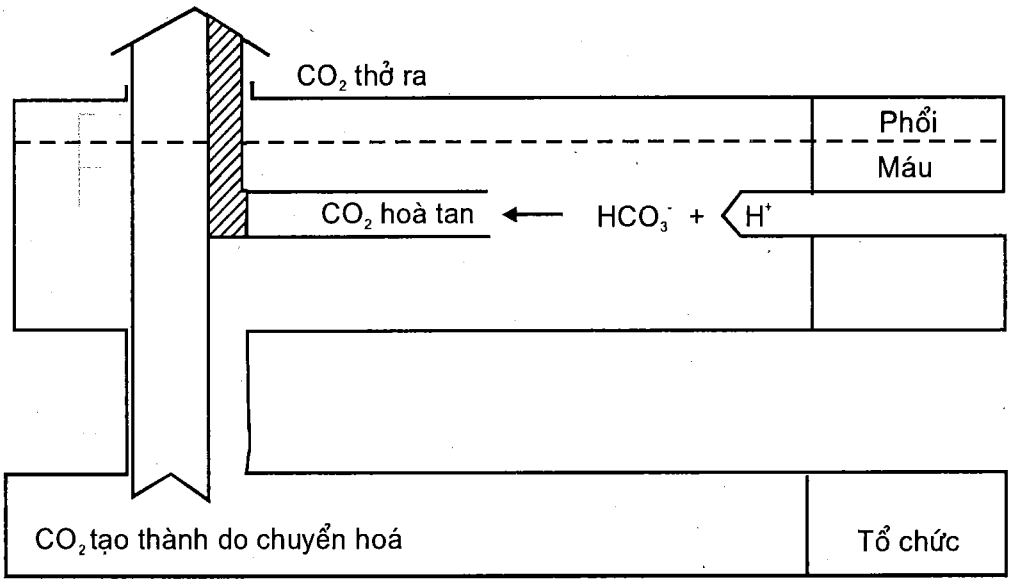
$$24mEqHCO_3^- + 10mEqH^+ \rightarrow \begin{cases} 14mEqHCO_3^- \\ 10mmol\ CO_2 \\ 10\ mmol\ H_2O \end{cases}$$

Lúc đó pH huyết tương sẽ là:

$$pH = 6,1 + \log \frac{24}{0,03 \times 40} = 6,1 + \log 11,7$$

pH = 7,17 (do có hệ thống mở).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 12.6. Quá trình đệm acid mạnh trong một hệ thống mở: tăng đào thải CO_2 qua phổi

Giả sử cũng điều kiện như trên nhưng quá trình thở không thực hiện được, nghĩa là hệ thống kín lúc này pH tăng lên rất cao và tính như sau:

CO_2 hoà tan = αpCO_2

CO_2 hoà tan = αpCO_2 (ban đầu) + 10mmol

= (0,03 x 40) + 10

= 1,2 + 10 = 11,2mmol/lít

pH huyết tương lúc đó sẽ là:

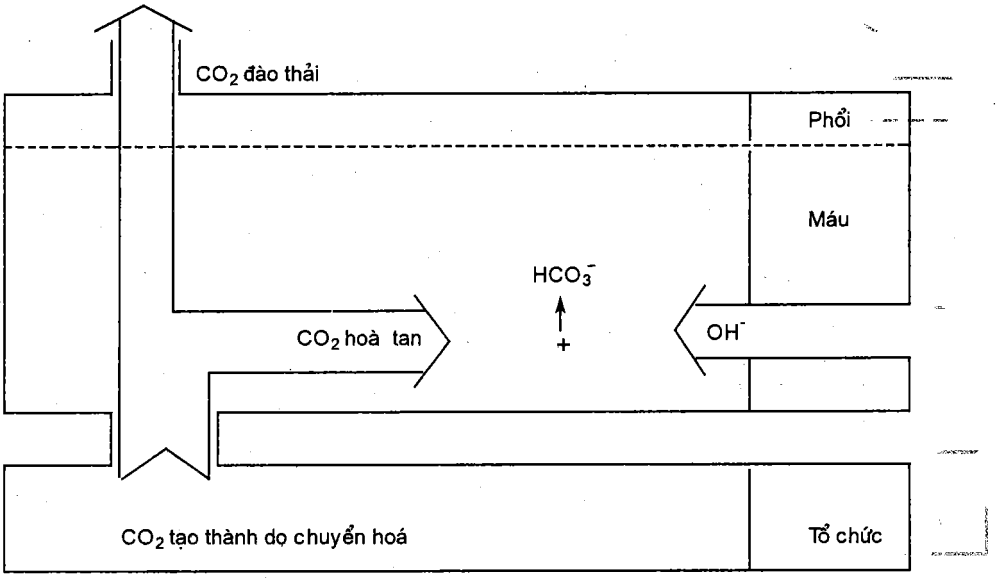
$$pH = pK + \log \frac{14}{11,2}$$

pH = 6,10 + log1,25 = 6,20 (đây là hệ thống kín).

– Hoạt động của phổi khi có một base mạnh xâm nhập vào cơ thể:

Khi cơ thể nhận base mạnh thì các ion OH^- sẽ kết hợp với CO_2 dạng hoà tan H_2CO_3, phần CO_2 hoà tan bị giảm đi tạo nên lượng tương ứng HCO_3^-. Lượng CO_2 đào thải qua phổi giảm nhưng pH vẫn không thay (như hình 12.7).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 12.7. Quá trình đệm base mạnh trong một hệ thống mở: giảm đào thải CO_2 qua phổi

b. Điều hoà do thận

Thận có vai trò quan trọng trong việc điều hoà acid - base của cơ thể nhưng so với phổi thì chậm hơn nhưng giữ vai trò chủ chốt. Vai trò sinh lý duy trì của ion HCO_3^- của huyết tương và dịch gian bào bởi 3 quá trình như sau:

– Tái hấp thu bicarbonat ở ống thận:

Toàn bộ lượng HCO_3^- lọc qua cầu thận được tái hấp thụ ở ống thận. 90% được hấp thụ ở ống lượn gần, phần còn lại được hấp thụ chậm hơn ở ống lượn xa. Mức lọc cầu thận bình thường (100mml/phút); nồng độ HCO_3^- 24mEq/lit thì trong một phút thận lọc và tái hấp thụ 2,4mEq, nếu cả ngày và đêm là 3460mEq HCO_3^-. Trong khi đó toàn bộ HCO_3^- khu vực ngoài cơ thể 500mEq, cho nên khi tổn thương thận về chức năng hấp thụ HCO_3^- dù không lớn lắm cũng dẫn đến tình trạng thiếu hụt HCO_3^- nhanh chóng, dẫn đến tình trạng nhiễm base chuyển hoá. Khả năng hấp thụ HCO_3^- của tế bào thận ảnh hưởng tới các yếu tố:

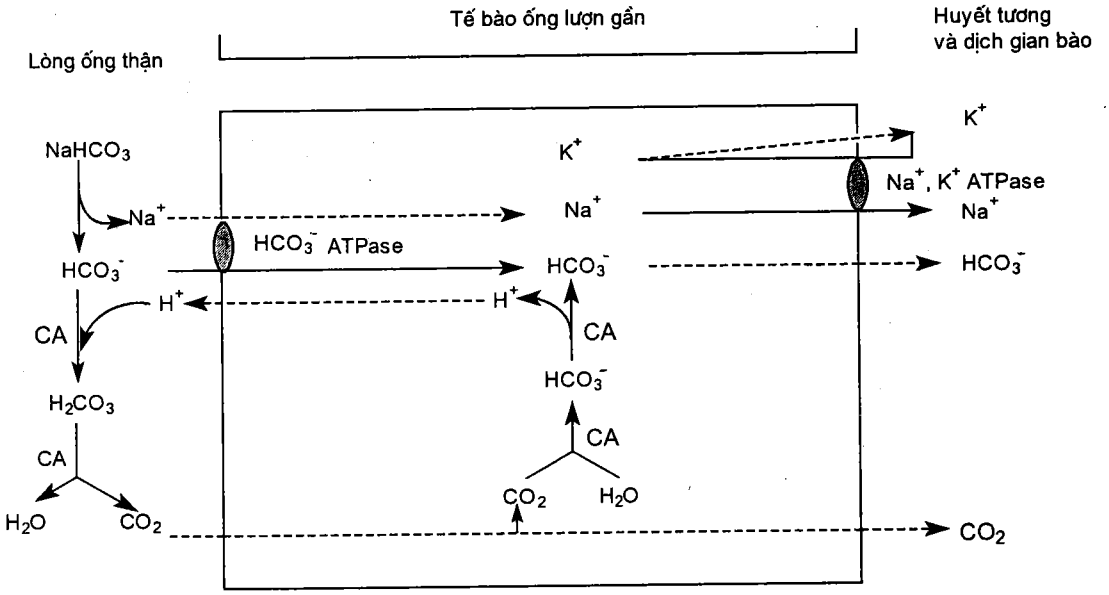
+ pCO_2 của cơ thể tăng lên làm tăng hấp thụ HCO_3^- ở thận và ngược lại. Đây là cơ chế bù trừ của thận trong tình trạng nhiễm acid hay kiềm hô hấp của cơ thể.

+ Sự tái hấp thụ HCO_3^- liên quan đến tái hấp thụ Na^+ ở ống thận.

+ Nồng độ Cl^- và K^+ máu giảm gây tăng hấp thụ HCO_3^- ở ống thận.

Tất cả cơ chế này được biểu diễn theo hình sau:

THƯ VIỆN HUBT
LƯU HÀNH NỘI BỘ VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 12.8. Tái hấp thụ HCO_3^- ở ống lượn gần

→ Vận chuyển tích cực

⇢ Khuếch tán thụ động

CA: Carbonic anhydrase

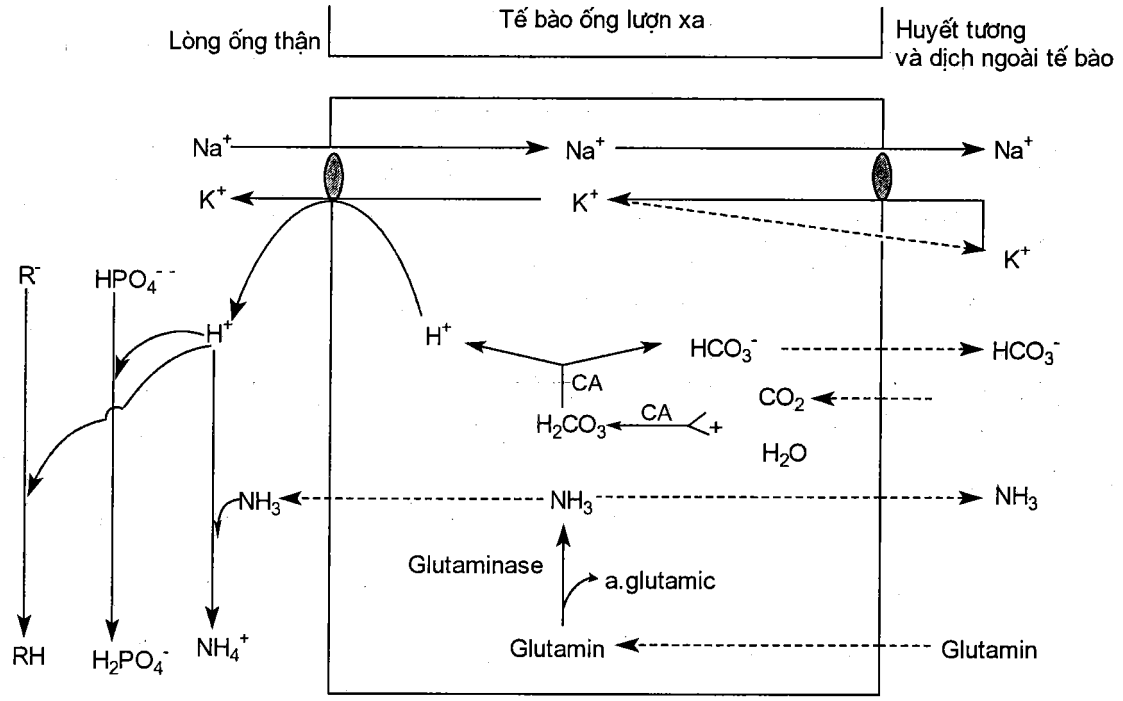
Sự hấp thụ HCO_3^- khoảng 30% phụ thuộc vào carbonic anhydrase và không phụ thuộc men này là 70%, đó là con đường vận chuyển tích cực cần sử dụng năng lượng. Trường hợp thừa HCO_3^-, thận sẽ bài xuất ion này. Theo cơ chế trên trường hợp cơ thể nhiễm kiềm, thận đào thải bớt HCO_3^- theo nước tiểu.

– Tân tạo bicarbonat:

Hàng ngày, người bình thường sản xuất một lượng acid tương đương 50-100 mEq ion H^+/24 giờ, gồm các loại: acid sulfuric (H_2SO_4), sản phẩm chuyển hoá của acid amin chứa lưu huỳnh; acid phosphoric (H_3PO_4), sản phẩm chuyển hoá của phospholipid; acid nucleic; acid uric sản phẩm chuyển hoá của base purin. Các ion H^+ của acid này ở khu vực ngoài tế bào được trung hoà bởi HCO_3^- nội môi; lượng HCO_3^- được bù lại bằng sự tân tạo HCO_3^- trong tế bào ống thận (hình 12.9).

Hình 12.9 cho thấy ion HCO_3^- được tạo bởi CO_2 và nước nhờ tác dụng của carbonic anhydrase. H^+ được vận chuyển ra khoang ống thận, còn ion HCO_3^- được khuếch tán vào máu. Tế bào thận xảy ra quá trình phân huỷ glutamin tạo acid glutamic và NH_3 nhờ xúc tác của glutaminase. NH_3 dễ thấm qua màng tế bào vào khoang ống thận được kết hợp với H^+ tạo NH_4^+ đào thải ra nước tiểu. Sự tân tạo ion HCO_3^- được thực hiện cùng với sự đào thải muối amon. Sự đào thải muối amon phụ thuộc nồng độ NH_3 trong tế bào thận và pH nước tiểu.

THƯ VIỆN HUBT



Hình 12.9. Tân tạo bicarbonat của tế bào ống thận và đào thải các acid không bay hơi (RH)

– Đào thải các acid không bay hơi ra nước tiểu, NH_3, muối phosphat (HPO_4^{2-}), creatinin, urat có khả năng nhận ion H^+ tạo các dạng acid. Do vậy các sản phẩm chuyển hoá dạng acid như acid lactic, acid pyruvic, các chất cetonic được gọi chung là các acid chuẩn độ hay không bay hơi của nước tiểu được đào thải theo đường niệu.

2.3. Các thông số đánh giá tình trạng thăng bằng acid - base của cơ thể

2.3.1. Những thông số đo lường trong máu

– pH máu: xác định trên mẫu máu động mạch hoặc mao mạch đã động mạch hoá trong điều kiện không tiếp xúc với oxy. Bình thường pH máu từ 7,38 - 7,42. Chỉ riêng pH máu không đánh giá được tình trạng acid-base của cơ thể (vì khả năng các hệ đệm) cho nên nhiều trường hợp rối loạn thăng bằng acid - base ở mức độ nhất định mà pH máu vẫn chưa có thay đổi đáng kể.

– pCO_2 máu: phụ thuộc vào hoạt động của hô hấp nghĩa là phụ thuộc vào mức độ thông khí phế nang theo phương trình:

$$pCO_2 = \frac{CO_2 \text{ tạo thành (ml/ph)}}{Va \text{ (ml/ph)}} \times \frac{760.T}{273}$$

Va - Thông khí phế nang (ml/phút)

pCO_2 luôn luôn tỷ lệ nghịch với thông khí phế nang

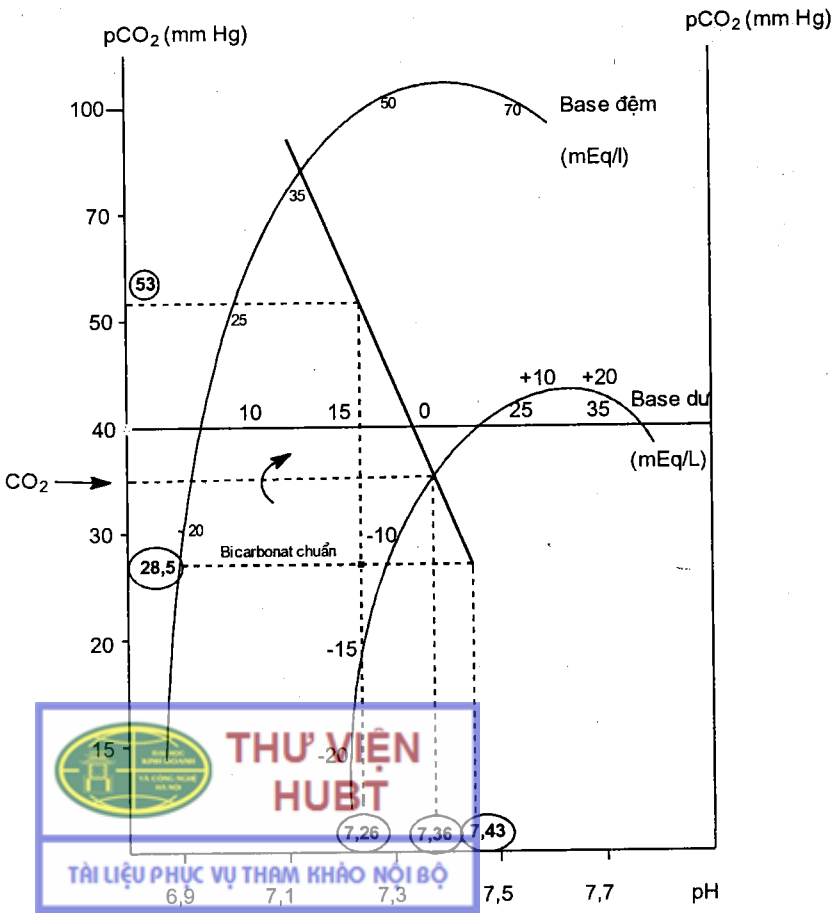
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bình thường pCO_2 máu động mạch dao động quanh 40mmHg. Giá trị của thông số được xác định bằng cách đo trực tiếp bằng điện cực CO_2 hoặc phương pháp nội suy dựa vào giản đồ của Singgard - Anderson (hình 12.10).

– Bicarbonat thực (AB - actual bicarbonate) là nồng độ của bicarbonat trong máu được lấy ở tình trạng không tiếp xúc với không khí. Giá trị bình thường từ 25 mEq/lít. Thông số này không phụ thuộc nhiều vào pCO_2.

– Bicarbonat tiêu chuẩn (SB - standard bicarbonate) là nồng độ bicarbonat của máu được đưa về điều kiện tiêu chuẩn với pCO_2 = 40mmHg, pO_2 bình thường, nhiệt độ 37°C, hemoglobin bão hoà oxy. Bình thường giá trị SB là 25 mEq/lit, trị số này thay đổi do nguyên nhân chuyển hoá trong máu có thừa acid hay base mạnh.

– Base đệm (BB - buffer base) là tổng số nồng độ các anion đệm trong máu toàn thân. Thông số này ít phụ thuộc vào giá trị của pCO_2, chịu ảnh hưởng một phần bởi nồng độ hemoglobin máu. Giá trị bình thường base đệm là 46 mEq/lít. Nồng độ BB trong máu phụ thuộc vào nồng độ hemoglobin cho nên cần xác định giá trị bình thường của máu, được gọi là NBB (normal buffer base).



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 12.10. Giản đồ Singgard - Anderson

NBB mEq/l = 41,7 ± 0,42 Hb (g/100ml).

NBB xác định nồng độ base đệm có ở bệnh nhân ở mức hemoglobin hiện thời trong điều kiện pH = 7,4; pCO_2 = 40mHg; nồng độ HCO_3^- = 25mEq/lít.

– Base thừa (EB - exceeding base) là giá trị chênh lệch giữa nồng độ hiện thời của base đệm của máu toàn phần với giá trị của base đệm lẽ ra máu đó phải có (NBB). Nói cách khác base thiếu (thừa) là lượng acid hoặc base thừa bất thường trong máu.

$$EB = BB - NBB$$

Giá trị bình thường của mẫu EB trên mẫu máu có pH = 7,4; pCO_2 = 40mmHg là bằng không. Như vậy trị số EB âm chỉ sự thiếu base hay thừa acid, ngược lại EB dương chứng tỏ thừa base hay thiếu acid.

Thông số này rất quan trọng để biết được lượng base hay acid cần bổ sung để ổn định duy trì pH của máu bệnh nhân, trở về tình trạng thăng bằng acid base.

Ví dụ: một bệnh nhân có nồng độ base đệm (NBB) phải là 46 mEq/lít nhưng thực tế giá trị BB chỉ là 38 mEq/lít, như vậy bệnh nhân có base thiếu là: 46 - 38 = 8 mEq/lít. Điều này chứng tỏ là mỗi một lít máu và dịch ngoài tế bào của bệnh nhân đã thiếu 8mEq base. Để bù vào lượng base thiếu phải đưa vào 8 x khối lượng dịch ngoài tế bào (lít) bằng NmEq một loại base nào đó (thí dụ natri bicarbonat).

– Những thông số ít dùng hơn:

+ CO_2 toàn phần: biểu thị tổng số các dạng CO_2 trong máu được lấy trong hoàn cảnh không tiếp xúc với không khí. Giá trị này được đo bằng áp kế Vanslyke. Trong máu nồng độ HCO_3^- cao hơn 20 lần CO_2 hoà tan cho nên sự thay đổi CO_2 toàn phần chủ yếu do lượng HCO_3^- thay đổi.

+ Dự trữ kiềm: là lượng CO_2 toàn phần của huyết tương được bão hoà với không khí có pCO_2 = 40mmHg. Nói cách khác, dự trữ kiềm để đánh giá khả năng liên kết CO_2 của huyết tương.

2.3.2. Những thông số đo lường trong nước tiểu

– Đo lường sự đào thải ion H^+:

Sự đào thải ion H^+ liên quan đến sự đào thải NH_4^+ và HCO_3^-

Người bình thường ion H^+ đào thải trung bình 50-100mEq/24 giờ, trong đó lượng NH_4^+ gấp hai lần acid chuẩn độ khác. Sự đào thải này phụ thuộc vào chế độ ăn, tăng lên khi ăn nhiều protein.

– Thử nghiệm acid hoá nước tiểu:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thử nghiệm này là test của cơ chế bài tiết ion H^+ của ống thận lượn xa. Nếu ống thận bị tổn thương về chức năng bài tiết ion H^+, pH nước tiểu không hạ và sự bài tiết ion H^+ tăng không đáng kể.

– Thử nghiệm chịu đựng bicarbonat:

Thử nghiệm này được tiến hành trong trường hợp nghi ngờ tổn thương chức năng tái hấp thụ ion HCO_3^- của ống thận gần bằng cách đưa vào bệnh nhân một

lượng bicarbonat sao cho nồng độ của nó trong huyết thanh đạt 22-24 mEq/l. Lấy nước tiểu 4 giờ một lần, đo thể tích, đo nồng độ HCO_3^- và creatinin; đồng thời lấy máu định lượng HCO_3^-, creatinin để tính độ lọc của HCO_3^- và creatinin.

Người khoẻ mạnh, chế độ ăn uống tự do, lượng HCO_3^- đào thải không quá 3% nếu nồng độ HCO_3^- bình thường trong máu. Khi bị tổn thương chức năng tái hấp thụ HCO_3^- ở ống lượn gần, lượng HCO_3^- đào thải có thể đạt tới 10-15% trong khi thử nghiệm acid hoá nước tiểu vẫn bình thường.

2.4. Các tình trạng rối loạn acid - base của cơ thể

Các rối loạn này có thể chia làm 2 nhóm: rối loạn do nguyên nhân hô hấp liên quan trực tiếp đến sự thay đổi pCO_2 của máu; rối loạn do nguyên nhân chuyển hoá ảnh hưởng trực tiếp đến sự thay đổi hàm lượng bicarbonat của máu và thể dịch.

Trong hai nhóm trên còn được chia ra:

– Rối loạn do nguyên nhân hô hấp: nhiễm acid hô hấp hay base hô hấp.

– Rối loạn do nguyên nhân chuyển hoá: nhiễm acid chuyển hoá hay base chuyển hoá.

Trong các tình trạng rối loạn trên còn tùy theo mức độ rối loạn mà chia ra còn bù hay mất bù.

2.4.1. Rối loạn thăng bằng acid - base do nguyên nhân hô hấp

a. Nhiễm acid hô hấp: tăng pCO_2 của cơ thể pCO_2 máu động mạch tỷ lệ thuận với sự hình thành CO_2 ở các tổ chức và tỷ lệ nghịch với thông khí phế nang.

– Nguyên nhân chính của sự tăng pCO_2 trong máu gây tình trạng nhiễm acid hô hấp là sự giảm thông khí phế nang dẫn đến hạ pH máu. Để duy trì trạng thái cân bằng, cơ thể phản ứng bằng cách huy động các hệ đệm của máu và dịch, tăng tạo HCO_3^- của thận, tác dụng của các hệ đệm xảy ra tức thời, ngay khi có tăng pCO_2 máu. Còn phản ứng bù trừ của thận chậm hơn, nếu nhiễm acid hô hấp kéo dài, thận tăng đào thải ion H^+ dưới dạng acid chuẩn độ và NH_4^+. Như vậy sự tăng tạo HCO_3^- của thận sẽ gây ra sự tăng nồng độ HCO_3^- trong máu. Xét nghiệm cho thấy:

+ pH máu có thể hạ

+ pCO_2 và CO_2 toàn phần tăng cao.

+ HCO_3^- máu tăng

Các thông số khác ít thay đổi.

– Nguyên nhân thường gặp:

+ Khả năng nhận kích thích của trung tâm hô hấp giảm do tiền mê, thuốc giảm đau, tổn thương não.

+ Thở không khí có nồng độ CO_2 cao.

+ Bệnh của hệ thần kinh chỉ huy các cơ hô hấp: bại liệt, liệt cơ, dùng liều cao cura và dẫn chất của nó.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Bệnh teo cơ hô hấp, chấn thương.

– Hạn chế hoạt động của lồng ngực như dị dạng, cứng bì.

– Hạn chế hoạt động của phổi như xẹp phổi, tràn dịch màng phổi, tràn khí màng phổi.

– Bệnh của nhu mô phổi như hen phế quản có biến chứng (như thủng phổi).

b. Nhiễm base hô hấp: gồm những quá trình bệnh lý dẫn đến giảm pCO_2 trong máu động mạch. Tình trạng nhiễm base hô hấp xảy ra làm thông khí phế nang tăng lên hơn mức bình thường trong khi tạo CO_2 ở các tổ chức không tăng cao. Xét nghiệm cho thấy pH máu tăng, HCO^-_3 máu hạ, pCO_2 hạ, CO_2 toàn phần giảm, các thông số khác ít thay đổi. Nguyên nhân do kích thích trung tâm hô hấp bởi phản xạ trì trệ thần kinh ngoại biên hoặc nội tạng do các bệnh não như xuất huyết não, u não, nhiễm độc, viêm não.

2.4.2. Rối loạn thăng bằng acid - base do nguyên nhân chuyển hoá

a. Tình trạng nhiễm acid chuyển hoá: tình trạng nhiễm acid chuyển hoá trong cơ thể do sự thiếu hụt HCO^-_3 và tăng acid không bay hơi. Các acid không bay hơi trong cơ thể được tạo thành từ các acid amin như cystin, cystein, methionin, để tạo thành acid sulfuric. Một số acid hữu cơ như: acid lactic, acid pyruvic, acid acetoacetic, acid β hydroxy butyric, acid α cetoglutaric bình thường có một lượng không đáng kể nhưng tăng cao trong các rối loạn chuyển hoá, nhất là các rối loạn chuyển hoá lipid, glucid như bệnh đái tháo đường.

Về nguyên nhân có thể kể đến:

– Sự ứ đọng các acid không bay hơi trong các bệnh suy thận, đồng thời tế bào thận giảm khả năng tân tạo HCO_3^- nên tình trạng nhiễm acid chuyển hoá có urê cao.

– Sự tăng mất HCO_3^- bởi thận, do tổn thương chức năng ống thận.

– Tăng tạo các sản phẩm chuyển hoá có tính acid như tạo thể cetonic trong bệnh đái tháo đường, đói ăn kéo dài.

– Đưa các dẫn xuất có tính acid vào cơ thể, các thuốc hoặc các chất ức chế chuyển hoá như amoni clorid, salicylat, alcol methylic, paraaldehyd... mất HCO_3^- qua đường tiêu hoá, ỉa chảy; mất dịch tiêu hoá với số lượng lớn, dẫn lưu sau khi mổ. Các nguyên nhân kể trên thường hay gặp ở tình trạng nhiễm acid chuyển hoá, do thận, trong bệnh đái tháo đường. Xét nghiệm cho thấy: pH máu hạ, ion HCO_3^- hạ, EB âm tính, BB cũng hạ, pCO_2 hạ do phản ứng bù trừ của phổi.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

b. Tình trạng nhiễm base chuyển hoá: là tình trạng bệnh lý dẫn đến thiếu acid hoặc thừa HCO_3^- ở máu và dịch ngoài tế bào. Nguyên nhân có thể do thận hoặc ngoài thận. Thận tái hấp thụ và tân tạo khoảng 3500mEq trong 24 giờ, trong đó tái hấp thụ khoảng 3400mEq, còn lại 100mEq được tân tạo từ tế bào thận. Tổng lượng HCO_3^- của dịch ngoài tế bào là 500mEq, như vậy quá trình tân tạo HCO_3^- chiếm khoảng 20% giá trị HCO_3^- của cơ thể. Nếu sự tân tạo HCO_3^- tăng lên ở tế bào thận lớn hơn số lượng acid cố định được hình thành ở các tổ chức sẽ làm cho hàm lượng HCO_3^- trong máu và dịch thể tăng lên. Hàm lượng Cl^- máu giảm,

thận tăng tạo HCO_3^- để cân bằng về lượng anion và nồng độ HCO_3^- tăng lên. Hiện tượng này làm tăng ngưỡng thận đối với HCO_3^- và giảm đào thải HCO_3^- thừa của tế bào ống thận. Trường hợp mất acid của dạ dày có thể lâm vào tình trạng nhiễm base chuyển hoá mặc dù nồng độ HCO_3^- trong máu không tăng. Các bệnh gây tăng sản xuất aldosteron cũng dẫn đến tình trạng nhiễm base chuyển hoá do hậu quả của việc mất acid theo nước tiểu do aldosteron kích thích trao đổi Na^+ với H^+ ở ống lượn xa, tăng bài xuất H^+ của ống thận đồng nghĩa sự tân tạo HCO_3^- của tổ chức thận. Hậu quả nồng độ HCO_3^- tăng trong máu và dịch ngoài tế bào. Tình trạng nhiễm base chuyển hoá đặc trưng bởi xét nghiệm pH máu tăng, pCO_2 tăng do hoạt động bù trừ của phổi, các thành phần đệm tăng, EB có giá trị dương. Nhìn chung tình trạng này hiếm.

2.4.3. Các rối loạn hỗn hợp

Rối loạn hỗn hợp xuất phát từ rối loạn đơn thuần trên kéo dài. Thí dụ: tình trạng nhiễm acid hô hấp kéo dài do hen phế quản, tâm phế mạn dẫn đến sự thiếu oxy của tổ chức, từ đó các quá trình chuyển hoá của tế bào được thực hiện trong điều kiện yếm khí, sản sinh ra các sản phẩm có tính acid và gây nên tình trạng nhiễm acid chuyển hoá kèm theo. Các tình trạng rối loạn hỗn hợp biểu hiện qua xét nghiệm rất phức tạp, là sự tổng hợp tất cả những thay đổi thể dịch của các tình trạng rối loạn và cả các cơ chế bù trừ của cơ thể trước các rối loạn đó. Tóm tắt sự rối loạn thăng bằng acid base được trình bày ở bảng 12.2 (trang sau).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

***Bảng 12.2**: Tóm tắt một số thông số của hệ đệm bicarbonat huyết tương trong các rối loạn cân bằng acid - base*

Tình trạng cân bằng acid - base của cơ thể		pH	PCO_2 (mm Hg)	CO_2 toàn phần	$BHCO_3$ V% mm/lít	H_2CO_3 V% mm/lít	$BHCO_3$ / H_2CO_3	Phổi	Thận	Nguyên nhân
Bình thường		7,4	40	56 25,2	53,4 24	2,57 1,2	20	–	–	–
Nhiễm kiềm hô hấp (thiếu CO_2)	Bù	7,45-7,35	Giảm	Giảm	Giảm	Giảm	20	–	Bài tiết nước tiểu có pH cao	Sự đào thải CO_2 tăng vừa phải
	Không bù	> 7,55	Giảm nhiều	Giảm nhiều	Giảm	Giảm nhiều	Tăng	–	Bài tiết nước tiểu có pH cao	Thông khí phổi tăng cao do không khí thiếu O_2, sốt, nóng lâu...
Nhiễm kiềm chuyển hoá (thừa $BHCO_3$)	Bù	7,45-7,35	Tăng	Tăng	Tăng	Tăng	20	Giảm đào thải CO_2	Bài tiết nước tiểu có pH cao	Những lượng nhỏ $BHCO_3$ được đưa vào liên tục
	Không bù	> 7,55	Tăng	Tăng nhiều	Tăng nhiều	Tăng	Tăng	Giảm đào thải CO_2	Bài tiết nước tiểu có pH cao	Dùng liều cao $BHCO_3$ nôn nhiều mất HCl do rửa dạ dày, tắc ruột ở phần cao
Nhiễm acid hô hấp (thừa CO_2)	Bù	7,45-7,35	Tăng	Tăng	Tăng	Tăng	20	–	Bài tiết nước tiểu có pH thấp	Hô hấp chậm thường xuyên
	Không bù	> 7,24	Tăng nhiều	Tăng nhiều	Tăng	Tăng nhiều	Giảm	–	Bài tiết nước tiểu có pH thấp nhiều NH_3	Suy hô hấp nặng, khí phế thũng, viêm phổi tỷ lệ CO_2 trong không khí cao (5-7%)
Nhiễm acid chuyển hoá (thiếu kiềm)	Bù	7,45-7,35	Giảm	Giảm	Giảm	Giảm	20	Tăng đào thải CO_2	Bài tiết nước tiểu có pH thấp, nhiều NH_3	Đái tháo đường nhẹ, viêm thận, ỉa chảy, dùng acid với liều vừa phải, chậm
	Không bù	> 7,24	Giảm	Giảm nhiều	Giảm nhiều	Giảm	Giảm	Tăng đào thải CO_2	Bài tết nước tiểu có pH thấp, NH_3 nhiều	Đái tháo đường nặng, viêm thận nặng, mê ete sâu (thiếu O_2 nặng)

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ
THƯ VIỆN HUBT

Chương 13

HOÁ SINH MÁU

MỤC TIÊU

1. Nêu được vai trò và tính chất lý hoá của máu.

2. Giải thích được cơ chế và ý nghĩa của quá trình đông máu.

3. Trình bày được ý nghĩa từng thành phần của máu ở trạng thái sinh lý và bệnh lý.

Máu là thành phần tổ chức của cơ thể. Máu lưu thông trong hệ thống tuần hoàn (tim, động mạch, tĩnh mạch và mao mạch) tới khắp tất cả mọi cơ quan trong cơ thể để đảm bảo sự tồn tại và liên kết hoạt động của các cơ quan trong một cơ thể thống nhất. Máu thực hiện nhiều chức năng sinh lý quan trọng sau:

– Chức năng dinh dưỡng: máu vận chuyển các chất dinh dưỡng (các ose, acid amin, acid béo, vitamin, muối khoáng...) được hấp thu từ bộ máy tiêu hoá tới các tổ chức để chuyển hoá tiếp tục.

– Chức năng hô hấp: máu vận chuyển oxy từ phổi tới các tổ chức và vận chuyển CO_2 từ tổ chức tới phổi để thải ra ngoài.

– Chức năng bài tiết: máu vận chuyển các chất cặn bã (những sản phẩm độc hay không cần thiết của chuyển hoá các chất) từ tổ chức tới các cơ quan bài tiết (thận, da, phổi, ruột) để thải ra ngoài.

– Chức năng bảo vệ: máu có bạch cầu làm nhiệm vụ thực bào, các kháng thể, kháng độc tố để chống các yếu tố ngoại lai. Máu có hệ thống đông máu và chống đông máu để đảm bảo máu được lưu thông và không mất đi khi tổn thương mạch.

– Chức năng điều hoà: máu có nhiều hệ đệm để điều hoà pH và thăng bằng acid-base làm cho nội mô ổn định. Máu vận chuyển các chất chuyển hoá trung gian, các hormon để điều hoà chuyển hoá các chất và sự hoạt động của các cơ quan. Máu có khả năng điều hoà thân nhiệt nhờ khả năng điều hoà lưu thông máu thích hợp, máu còn tham gia điều hoà chuyển hoá muối nước, áp suất thẩm thấu...

Vì máu đóng vai trò quan trọng như vậy nên việc nghiên cứu về máu không những có ý nghĩa sinh lý mà còn có ý nghĩa bệnh lý quan trọng. Những thay đổi về tính chất hay thành phần của máu phản ánh sự rối loạn về chức năng của một cơ quan nào đó trong cơ thể. Máu chiếm khoảng 1/13 khối lượng cơ thể (4-5 lít). Máu gồm có huyết tương (chiếm 55-60% thể tích máu) và huyết cầu (chiếm 40-45% thể tích) bao gồm hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.

THƯ VIỆN HUB
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1. Tính chất lý hoá của máu

1.1. Tỷ trọng

Tỷ trọng của máu người bình thường từ 1,05 đến 1,06, trung bình là 1,056 (tỷ trọng của huyết cầu là 1,093 và của huyết tương là 1,024). Tỷ trọng của máu tăng khi máu bị cô đặc và giảm khi máu bị hoà loãng.

1.2. Độ nhớt

Nếu lấy độ nhớt của nước ở 38°C làm đơn vị thì độ nhớt của máu là 4-6 đơn vị. Độ nhớt của máu phụ thuộc chủ yếu vào số lượng huyết cầu vì chúng làm tăng ma sát. Trong thiếu máu độ nhớt có khi chỉ còn 1,7 đơn vị. Trong trường hợp tăng hồng cầu và bạch cầu thì độ nhớt có thể lên tới 24 đơn vị.

Độ nhớt của huyết tương bằng 1,6 - 2,1 đơn vị, phụ thuộc chủ yếu vào nồng độ protein, cho nên khi nồng độ protein tăng thì độ nhớt tăng và ngược lại.

1.3. Áp suất thẩm thấu (Po)

Áp suất thẩm thấu của máu phụ thuộc vào nồng độ các ion và các phân tử hữu cơ có phân tử lượng nhỏ như Na^+, Cl^-, HCO_3^-, urê, glucose... nhưng chủ yếu là Na^+ và Cl^-.

Po bình thường từ 7,2 đến 8,1 atmosphe ở 37°C bằng cách đo trực tiếp. Nhưng đo Po rất khó khăn nên thường được biểu thị tương đương bằng độ hạ băng điểm. Độ hạ băng điểm bình thường là - 0,56°C, bằng với độ hạ băng điểm của dung dịch NaCl 9‰, được gọi là dung dịch đẳng trương.

Cũng có thể đo Po bằng dụng cụ đặc biệt Osmolmetre, đo gián tiếp qua độ dẫn điện của huyết tương, đơn vị được tính bằng miliosmol (mosm). Bình thường Po huyết tương bằng 292 - 308 mosm/lít.

Áp suất thẩm thấu có ý nghĩa lớn khi đưa một lượng lớn dung dịch thuốc vào cơ thể. Bình thường các dung dịch để truyền có áp suất thẩm thấu đẳng trương như dung dịch glucose 5%, dung dịch NaCl 9‰.

Trong một số trường hợp đặc biệt như máu bị hoà loãng có thể truyền các dung dịch ưu trương hoặc máu bị cô đặc có thể truyền các dung dịch nhược trương.

Cơ thể có khả năng duy trì áp suất thẩm thấu không thay đổi bằng cách đào thải nước nhanh hay chậm qua da và phổi, đào thải muối thừa qua thận hay khả năng giữ nước và muối ở các tổ chức theo trạng thái cơ thể.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU CHỈ ĐỂ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Độ pH và các hệ đệm

– Độ pH của máu tương đối hằng định bằng 7,4 ± 0,02. Mặc dù có nhiều yếu tố làm hay đổi pH của máu như thức ăn, các sản phẩm chuyển hoá, thuốc, oxy trong hô hấp... nhưng pH máu vẫn được hằng định là nhờ có nhiều hệ đệm trong máu và sự điều tiết của phổi, thận.

– Có 6 hệ đệm tham gia điều hoà pH máu:

Acid carbonic/ Bicarbonat (hệ bicarbonat)

Mononatriphosphat/ Dinatriphosphat (hệ phosphat).

Protein/Proteinat Na (hệ protein).

Hemoglobin/Hemoglobinat (hệ hemoglobin).

Oxyhemoglobin/Oxyhemoglobinat (hệ oxyhemoglobin)

Các acid hữu cơ/muối của các acid.

– Sự phân bố của các hệ đệm:

+ Ở huyết tương gồm các hệ đệm: $H_2CO_3/NaHCO_3$; Protein/Proteinat Na; NaH_2PO_4/Na_2HPO_4; các acid hữu cơ/ muối Na của acid hữu cơ.

+ Ở huyết cầu (hồng cầu) gồm các hệ đệm: $H_2CO_3/KHCO_3$; HHb/KHb; $HHbO_2/KHbO_2$; KH_2PO_4/K_2HPO_4; các acid hữu cơ/muối K của acid hữu cơ.

Nếu biểu thị toàn bộ khả năng đệm của máu là 100 thì khả năng của một số hệ đệm chủ yếu như sau:

Hệ bicarbonat 7%

Hệ phosphat 1%

Hệ protein 10%

Hệ hemoglobin 82%

Hệ bicarbonat đóng vai trò quan trọng nhất trong huyết tương, hệ hemoglobin đóng vai trò quan trọng nhất trong hồng cầu. Cơ chế hoạt động chung của các hệ đệm là: khi cơ thể nhiễm acid thì các dạng kiềm của hệ sẽ chuyển sang dạng acid, dễ thải trừ hơn hay độ acid ít hơn; khi cơ thể nhiễm kiềm thì ngược lại.

1.5. Hematocrit

Hematocrit là tỷ lệ phần trăm về thể tích của huyết cầu với máu toàn phần.

Bình thường hematocrit của nam là 40 - 50%, của nữ là 38 - 42%. Hematocrit giảm trong thiếu máu, hematocrit tăng trong mất nước do ỉa chảy, nôn mửa, sốt kéo dài.

Gần đây, hematocrit được dùng để đánh giá số lượng hồng cầu vì hồng cầu là thành phần chủ yếu trong huyết cầu.

1.6. Tốc độ máu lắng

Máu chống đông để yên các hồng cầu sẽ lắng xuống theo xu hướng sắp xếp đều đặn với nhau như một cọc tiền bằng kim loại. Trạng thái bệnh lý có hiện tượng ngưng kết hồng cầu, vón lại từng đám làm cho tốc độ lắng thay đổi.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nồng độ cao của các protein quá bất đối giữa chiều ngang và chiều dài như fibrinogen (1/50) hay γ-globulin làm cho tốc độ lắng máu tăng.

Do vậy trong những bệnh viêm nhiễm như: lao, thấp khớp loại viêm... có tốc độ máu lắng tăng rất cao, lớn hơn 10mm (bình thường 2-8mm/giờ đầu trên ống Oa-tec-gin (Westergreen), có khi lên tới 100mm.

2. Quá trình đông máu và hệ thống chống đông máu

Quá trình đông máu và chống đông máu là quá trình phức tạp mà cả hai cùng xảy ra, song song tiến triển với 2 mục đích khác nhau: đông máu nhằm mục đích cầm máu khi chảy máu và chống đông máu nhằm mục đích ngăn cản đông máu lan tràn, tiêu cục máu để lưu thông máu khi mạch đã phục hồi.

Về phương diện hoá sinh: quá trình đông máu là hệ thống gồm nhiều phản ứng hoá học để biến fibrinogen (hoà tan trong huyết tương) thành fibrin (có dạng sợi không hoà tan). Các fibrin liên kết thành lưới sợi huyết ôm lấy các huyết cầu tạo thành cục máu đông. Cục máu đông nút vào chỗ mạch bị tổn thương để chống chảy máu (cùng với các yếu tố co mạch và co sợi huyết).

Khi mạch đã phục hồi thì cục máu đông tiêu đi. Hiện tượng tiêu cục máu đông là quá trình tiêu fibrin thành những sản phẩm hòa tan dưới tác dụng của plasmin. Sự hình thành plasmin cũng là một chuỗi phản ứng phức tạp. Khi hai hệ thống đông máu và chống đông máu mất thăng bằng thì gây rối loạn, đông máu quá nhanh gây tắc mạch hay đông máu quá chậm gây chảy máu.

2.1. Quá trình đông máu

Theo Howell, quá trình đông máu chia làm 3 giai đoạn:

Giai đoạn 1. Sự hình thành thromboplastin

Giai đoạn 2. Sự hình thành thrombin từ prothrombin.

Giai đoạn 3. Sự hình thành fibrin từ fibrinogen.

Theo quan điểm hiện đại, quá trình đông máu có sự tham gia của các yếu tố đông máu (của huyết tương, tiểu cầu và tổ chức). Hầu hết các yếu tố đông máu có bản chất là protein (trừ yếu tố IV là Ca^{++}) có vai trò như những enzym. Bình thường các yếu tố đông máu có trong huyết tương, tiểu cầu và tổ chức tồn tại ở dạng không hoạt động; khi xuất hiện một yếu tố bất thường (chất ngoại lai, tổn thương mạch...) chúng được hoạt hoá một cách trình tự theo kiểu bậc thang để cuối cùng tạo thành cục máu đông.

2.1.1. Các yếu tố đông máu

Các yếu tố đông máu bao gồm các yếu tố của huyết tương, của tiểu cầu và của tổ chức. Các yếu tố của huyết tương được đánh số La Mã (I, II, III...), các yếu tố tiểu cầu được đánh số Ả Rập (1, 2, 3,...) theo quy định của Hội nghị Quốc tế về Tiêu chuẩn hoá sinh học (xem bảng 13.1).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 13.1. Tính chất các yếu tố đông máu

Ký hiệu yếu tố (Yt)	Tên yếu tố	Nồng độ trong huyết tương (mg/dl)	Con đường đông máu (E, I, C)	Nhóm hoá sinh
Quá trình đông máu				
I	Fibrinogen	200- 400	C	
II	Prothrombin	10	C	Phụ thuộc Vta.K
III	Thromboplastin tổ chức	0	E	
IV	Ion calci	9-10	E, I, C	
V	Proaccelerin	1	C	
VII	Proconvertin	0,05	E	Phụ thuộc Vta.K
VIII	Yt chống chảy máu A, Đồng Yt tiểu cầu 1	0,01	I	
IX	Yt chống chảy máu B, Đồng Yt tiểu cầu 2 Yt Christmas	0,3	I	Phụ thuộc Vta.K
X	Yt Stuart – Prower	1	C	Yếu tố tiếp xúc
XI	Thromboplastin huyết tương, Yt chống chảy máu C	0,5	I	Yếu tố tiếp xúc
XII	Yt Hageman	3	I	Yếu tố tiếp xúc
XIII	Yt làm bền vững fibrin	1-2	C	
Prekallikrein	Yt Fletcher	5	I	Yếu tố tiếp xúc
HMW kininogen	Yt hoạt động nhờ tiếp xúc	6	I	Yếu tố tiếp xúc
Chống đông máu và tiêu fibrin				
Antithrombin III	Kháng thrombin III	18-30	I	Phụ thuộc Vta.K
Protein C		0,4	I, C	Phụ thuộc Vta.K
Protein S		2,3	I, C	Phụ thuộc Vta.K
Plasminogen		20-40	C	

Chú thích: E: Con đường đông máu ngoại mạch

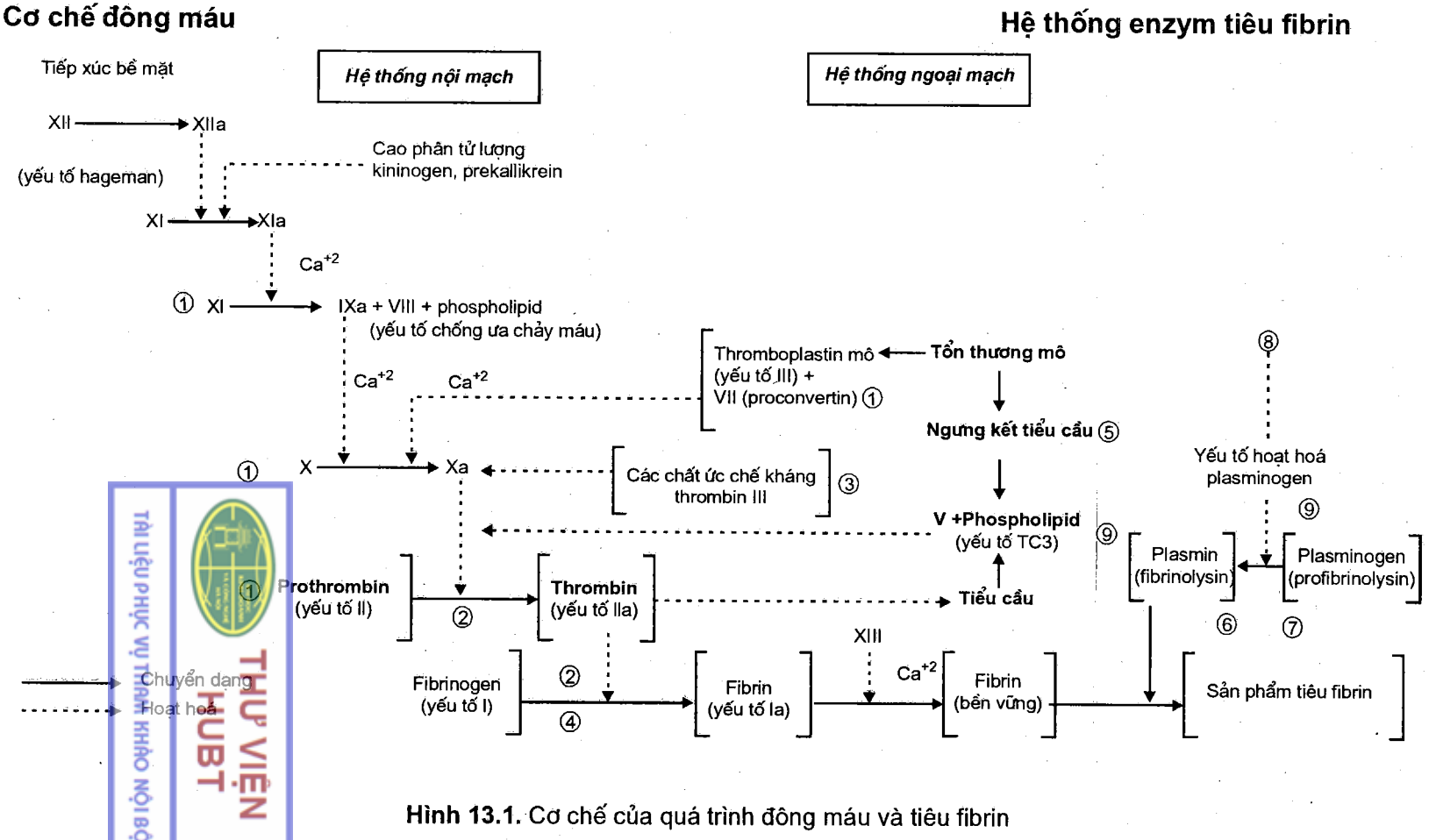
I: Con đường đông máu trong lòng mạch

C: Con đường đông máu chung cả trong và ngoài mạch

Yt: Yếu tố

Vta: Vitamin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA KHẢO NỘI BỘ
THƯ VIỆN HUBT

Hình 13.1. Cơ chế của quá trình đông máu và tiêu fibrin

1. Coumarin và dẫn chất 2. Heparin - ức chế sự tạo thành và hoạt động của thrombin 3. Heparin liều thấp tăng tác dụng của kháng thrombin III và tăng hiệu lực của các chất ức chế các yếu tố X, IX, XI, XII và của plasmin. 4. Ancrod - ngăn cản fibrinogen thành fibrin không bền 5. Thuốc ức chế kết vón tiểu cầu (aspirin, indometacin...) 6. Thuốc thrombolytic - streptokinase 7. Thuốc thrombolytic - urokinase 8. Chất kích thích tiêu fibrin: ethyloestrenol, stanozolol... 9. Chất chống tiêu fibrin: acid α amino caproic, tranexamic...

2.1.2. Cơ chế quá trình đông máu

Qua các kết quả nghiên cứu về cấu tạo, tính chất, vai trò và các mối liên quan của các yếu tố đông máu, chống đông máu, hiện nay người ta đã xác định được cơ chế của quá trình đông máu và hệ thống tiêu fibrin (xem hình 13.1).

Qua sơ đồ trên, quá trình đông máu có thể chia thành ba giai đoạn, như cách phân chia của Howell:

– *Giai đoạn 1:* là giai đoạn hình thành thromboplastin - chất xúc tác cho sự biến đổi prothrombin thành thrombin. Thực chất thromboplastin là một nhóm chất có nguồn gốc trong huyết tương, tiểu cầu và tế bào mô. Sự hình thành thromboplastin có thể theo con đường nội mạch (chỉ phụ thuộc vào các yếu tố của huyết tương và của tiểu cầu) hoặc con đường ngoại mạch (phụ thuộc yếu tố của tổ chức và của tiểu cầu) thường xảy ra do phối hợp của cả hai con đường.

+ Các yếu tố trong huyết tương: trong huyết tương có các yếu tố prekallikrein, XII, XI, IX, X. Các yếu tố này bình thường ở dạng không hoạt hoá và được hoạt hoá theo phản ứng có tính chất dây chuyền, theo trình tự như trên để hình thành yếu tố Xa. Ngoài ra, huyết tương còn có yếu tố VIII, khi được hoạt hoá cũng xúc tác cho sự hình thành yếu tố Xa. Một yếu tố khác của huyết tương là yếu tố V dưới dạng Va là đồng yếu tố (cofactor) với yếu tố Xa.

+ Các yếu tố tiểu cầu: trong tiểu cầu có 9 yếu tố tác dụng vào nhiều giai đoạn của quá trình đông máu và tiêu fibrin. Trong giai đoạn này, chỉ có yếu tố tiểu cầu 3 (thromboplastin) tham gia. Yếu tố 3 - thromboplastin của tiểu cầu hình thành do sự huỷ hoại tiểu cầu khi tiếp xúc với bề mặt gồ ghề. Thrombin xúc tác sự hình thành yếu tố này.

+ Các yếu tố từ các mô: thromboplastin mô (yếu tố III) được tiết vào huyết tương khi tế bào mô bị tổn thương. Nó có tác dụng xúc tác yếu tố VII thành yếu tố VIIa (convertin). Convertin xúc tác một phần nhỏ prothrombin thành thrombin, cho nên nó còn có tên là cothromboplastin. Một lượng nhỏ thrombin này xúc tác sự hoạt hoá các yếu tố V, VIII để sự hình thành thromboplastin nhanh hơn. Do vậy yếu tố thromboplastin mô có ý nghĩa quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình đông máu. Các yếu tố từ mô hình thành con đường đông máu ngoại mạch.

– *Giai đoạn 2:* là giai đoạn chuyển prothrombin (yếu tố II) thành thrombin (yếu tố IIa) dưới tác dụng của các yếu tố Xa, Va, IV. Thời gian Quick kéo dài khi thiếu một trong những yếu tố trên. Sự thiếu hẳn một yếu tố nào đó đều làm cho sự biến đổi prothrombin không hoàn toàn, do đó trong huyết thanh vẫn còn lại một lượng prothrombin thừa sau cục máu đông hình thành.

– *Giai đoạn 3:* là giai đoạn tạo fibrin từ fibrinogen dưới tác dụng của thrombin, Ca^{2+} và yếu tố XIIIa. Phản ứng đầu tiên là fibrinogen mất đi một hay nhiều peptid để tạo thành fibrin hoạt hoá (fibrin đơn phân), chất này trùng hợp tức khắc, nhưng thuận nghịch, thành fibrin đa phân (dạng hoà tan) có phân tử lượng lớn hơn nhiều so với fibrinogen ban đầu. Vai trò thrombin là một enzym proteolytic. Thrombin có thể làm đông một lượng fibrinogen rất lớn (bằng 10^5 trọng lượng của nó), cho nên thực tế số lượng fibrin tạo thành ít phụ thuộc vào số lượng thrombin, nhưng thời gian tạo fibrin lại phụ thuộc nhiều vào số lượng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thrombin. Thrombin không kết hợp với fibrinogen và sau khi cục máu hình thành, nó bị hút (phản ứng thuận nghịch) bởi một kháng thrombin III để biến thành metathrombin không bền vững, dễ bị phân huỷ bởi kiềm hay acid.

Fibrin đa phân (fibrin hoà tan, fibrin - S) không bền vững do phản ứng trùng hợp có tính chất thuận nghịch, được xúc tác bởi yếu tố XIIIa thành mạng lưới fibrin bền vững do các liên kết ngang nối các sợi fibrin - S với nhau. Mạng lưới fibrin này không hoà tan và ôm lấy các huyết cầu để hình thành cục máu đông.

2.2. Quá trình tiêu fibrin

Bên cạnh những cơ chế hình thành cục máu đông có những cơ chế tiêu cục máu đông gọi là quá trình tiêu fibrin. Quá trình này cùng với các chất chống đông máu làm thành hệ thống chống đông máu, luôn cân bằng với hệ thống đông máu, để chống lại hiện tượng đông lan toả khi đã hình thành cục máu đông và thông mạch khi các tổn thương mạch máu đã phục hồi, làm cho máu được lưu thông. Trong huyết tương và huyết thanh có một chất gọi là profibrinolysin (plasminogen), chất này có thể được hoạt hoá thành fibrinolysin (plasmin) là một enzym tiêu fibrin. Có nhiều cách hoạt hoá plasminogen thành plasmin. Trong các mô và huyết tương có một chất hoạt hoá gọi là fibrinolyso - kinase (fibrino kinase); trong nước tiểu có chất hoạt hoá là urokinase. Trong một số vi khuẩn cũng có chất hoạt hoá plasminogen như staphylokinase và streptokinase.. Đặc biệt streptokinase và urokinase đã trở thành những biệt dược tiêu fibrin. Các yếu tố hoạt hoá này biến đổi plasminogen (TLPT khoảng 143.000) thành plasmin (TLPT khoảng 120.000). Plasmin có tác dụng thủy phân liên kết peptid của fibrin làm tan cục máu đông. Ngoài ra, plasmin còn có tác dụng huỷ các yếu tố fibrinogen, yếu tố V, yếu tố VII, cho nên nó còn được coi là một yếu tố chống đông máu.

Các sản phẩm do fibrin bị thuỷ phân còn có tác dụng kháng thrombin, ức chế kết vón tiểu cầu, ngăn cản quá trình đông máu.

Cũng có những yếu tố ức chế sự hoạt hoá plasminogen. Đó là acid ε - amino caproic, ức chế sự hoạt hoá plasminogen của người và bò bởi streptokinase, urokinase và có thể cả fibrinokinase.

Hệ thống tiêu fibrin cũng chịu ảnh hưởng của hormon kích giáp trạng tố (TSH), kích phát triển tố (STH) có tác dụng thúc đẩy tiêu fibrin. Ngược lại, kích thượng thận tố (ACTH) lại ức chế sự tiêu fibrin.

3. Thành phần hoá học của máu

THƯ VIỆN HUST
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Mặc dù nhiều chất khác nhau không ngừng được đưa vào máu và đào thải khỏi máu nhưng thành phần hoá học của máu lúc đói khá ổn định. Những thay đổi thành phần máu của người khoẻ mạnh nhanh chóng được điều chỉnh. Thông thường sau bữa ăn 6-9 giờ, thành phần của máu được ổn định. Trong những trường hợp bệnh lý, đặc biệt là những trường hợp rối loạn chức phận của các cơ quan như: gan, thận, tuyến tụy, v.v... có sự thay đổi thành phần của máu. Do đó, xét nghiệm hoá sinh về máu đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh.

Thành phần hoá học của máu toàn phần, của huyết tương và của huyết cầu rất khác nhau, thí dụ:

- Nước, natri trong huyết tương nhiều hơn trong hồng cầu.
- Kali trong hồng cầu nhiều hơn trong huyết tương.
- Protein trong hồng cầu nhiều hơn trong huyết tương.
- Lipid trong huyết tương lại nhiều hơn trong hồng cầu.

Tuy nhiên cũng có một số chất có nồng độ bằng nhau trong hồng cầu và trong huyết tương như: glucose, urê...

	Nước %	Chất khô%
Máu toàn phần	76–85	15–24
Huyết tương	90–91	9–10
Hồng cầu	57–68	32–43

3.1. Thành phần của huyết cầu

3.1.1. Thành phần của hồng cầu

Số lượng hồng cầu ở người:

Nam 4,5 triệu/mm^3

Nữ: 4-4,5 triệu/mm^3.

Ở người Việt Nam số lượng hồng cầu khoảng:

Nam: 4,2 triệu/mm^3

Nữ: 3,8 triệu/mm^3.

Thành phần của hồng cầu gồm:

- Nước chiếm 57-68%
- Chất khô 32-43% bao gồm:
  + Protein: hầu hết protein của hồng cầu là huyết sắc tố (hemoglobin - Hb).

Hemoglobin chiếm 34% khối lượng của hồng cầu (15g/100ml máu). Lượng hemoglobin thay đổi theo lứa tuổi và một số bệnh lý.

Hemoglobin tăng trong tăng hồng cầu, thiếu máu ưu sắc (nồng độ Hb trong hồng cầu tăng, mỗi hồng cầu có 400 triệu phân tử Hb).

Hemoglobin giảm trong thiếu máu nhược sắc (Hb trong hồng cầu giảm).

Hb của người có nhiều loại khác nhau. Sự khác nhau của Hb là ở phần globin. Hầu hết Hb của người lớn là HbA (HbA_1 96 - 98%, HbA_2 2 - 3%), còn lại là HbF (dưới 1%). HbF có nhiều ở trẻ em mới sinh. Một số bệnh có Hb bất thường như: HbS, HbC, HbG... (hay gặp ở người da đen), HbH (hay gặp ở người da vàng), HbF (hay gặp ở người vùng Địa Trung Hải). Các Hb bất thường gây các bệnh về hemoglobin khác nhau như: bệnh hồng cầu lưỡi liềm (HbS), bệnh Cooley (HbF).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ngoài hemoglobin ra trong hồng cầu còn có một lượng nhỏ là các enzym: phosphatase, catalase, các enzym của thoái hoá yếm khí glucid. Đặc biệt trong hồng cầu có nhiều enzym oxy hoá trực tiếp glucose 6-P (glucose - 6 - phosphat dehydrogenase), nhưng không có enzym của chu trình Krebs.

+ Glucid: thường ở dạng glucoproteid có ở bề mặt hồng cầu, quyết định các loại nhóm máu khác nhau (do phần glucid quyết định).

+ Lipid: đáng chú ý nhất là lecithin (3,3 - 3,7g/l), cholesterol (1,3 - 1,6g/l).

+ Chất điện giải: 80% phospho máu là ở trong hồng cầu. Hầu hết kali của máu là ở hồng cầu (450 - 480mg/100g, gấp 20-30 lần trong huyết tương). Ngoài ra còn có natri có 50 - 110 mg%, magnesi 5mg%, sắt 105mg%, đồng 1,5mg%.

3.1.2. Thành phần của bạch cầu

Số lượng bạch cầu trong máu ở:

Nam khoảng 7000/mm^3

Nữ khoảng: 6800/mm^3.

Khác với hồng cầu, bạch cầu có nhân, ty thể, nồng độ acid nucleic cao và có quá trình phosphoryl oxy hoá cho nên bạch cầu chuyển hoá tích cực hơn. Bạch cầu có 3 loại: bạch cầu lympho (26%), bạch cầu mono (7%) và bạch cầu đa nhân (67%). Chức năng của bạch cầu là bảo vệ cơ thể, bằng cơ chế miễn dịch tế bào và dịch thể.

Nói chung bạch cầu chứa nhiều glycogen, proteid (đặc biệt nucleoproteid), nhiều enzym (enzym phân huỷ đường, catalase...), nhiều kẽm và vitamin B_1.

Acid folic đóng vai trò quan trọng trong quá trình trưởng thành của bạch cầu. Vì vậy các thuốc kháng acid folic dùng để điều trị bệnh tăng bạch cầu.

3.1.3. Thành phần của tiểu cầu

Tiểu cầu là những tế bào không nhân, không có acid nucleic. Chức năng cơ bản của tiểu cầu là tham gia quá trình đông máu. Tiểu cầu có tính chất thu hút chọn lọc nhiều yếu tố đông máu của huyết tương tới chỗ bị tổn thương. Đó là fibrinogen, prothrombin, globulin chống ưa chảy máu A và B, yếu tố làm bền vững fibrin, serotonin. Các chất đó thường được gọi là yếu tố tiểu cầu (ytTC) 1, 2, 3... và tham gia vào nhiều giai đoạn của quá trình đông máu.

– Protein trong tiểu cầu ngoài các yếu tố đông máu còn có nhiều enzym khác: proteinase tác dụng theo cơ chế giống như pepsin, trypsin và fibrinolysin, catepsin A,...

– Các lipid trong tiểu cầu chủ yếu là cephalin, lecithin và sterol ở dưới dạng liên quan đến quá trình đông máu (arachidonic, linoleic...).

– Glucid có hàm lượng trong tiểu cầu rất nhỏ, chưa được nghiên cứu nhiều .

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.2. Thành phần của huyết tương

Huyết tương gồm có 91% nước và 9% chất khô.

3.2.1. Thành phần khí

Máu động mạch 100ml chứa:

– Khoảng 18 - 20ml oxy, trong đó có 0,3ml ở dạng hoà tan, phần còn lại ở dạng kết hợp với hemoglobin trong hồng cầu.

– Khoảng 45 - 50ml CO_2, trong đó 75% ở huyết tương và 25% ở hồng cầu.

3.2.2. Các chất vô cơ

– Các chất vô cơ chính trong huyết tương bao gồm:

+ Các cation: Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}

+ Các anion: Cl^-, HCO_3^- SO_4^{2-} phosphat...

+ Các yếu tố vi lượng: I, Cu, Fe, Zn...

Đặc điểm của các chất vô cơ trong huyết tương là nồng độ đương lượng của các cation và anion cân bằng nhau cho nên các ion thường được biểu thị theo nồng độ mEq/l, bảng 13.2.

***Bảng 13.2**. Thành phần của các cation và anion chủ yếu của huyết tương*

Cation		Anion	
Tên	Nồng độ mEq/l	Tên	Nồng độ mEq/l
Na^+	142	Cl^-	103
K^+	5	HCO_3^-	27
Ca^{++}	5	HPO_4^{2-}	2
Mg^{++}	3	SO_4^{2-}	1
		Anion hữu cơ	22
Cộng	155	Cộng	155

– Một số chất điện giải chính trong huyết tương:

Nồng độ các chất điện giải tương đối ít thay đổi trong huyết tương. Trong một số bệnh lý có thay đổi đáng kể:

+ Natri (Na^+):

Nồng độ bình thường của Na^+ là 142 ± 5 mEq/l (huyết thanh).

Natri tăng trong: mất nước nhiều, ăn nhiều NaCl.

Natri giảm trong: thiểu năng thượng thận (Addison).

+ Kali (K^+):

Nồng độ bình thường của K^+ là 5 ± 0,1 mEq/l (huyết thanh).

Kali giảm trong bệnh tiêu huyết, Addison, tắc ruột cấp, suy tim.

Kali tăng trong bệnh cường vỏ thượng thận, nhiễm độc thuốc ngủ, các trường hợp thiếu kali do dùng thuốc lợi tiểu...

+ Calci (Ca^{++}):

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nồng độ Ca^{++} trong huyết tương trung bình là 5 ± 0,2mEq/l. Các yếu tố: vitamin D, hormon phó giáp trạng tham gia điều hoà calci máu.

Calci tăng trong: cường phó giáp trạng, dùng quá nhiều vitamin D, các quá trình huỷ xương...

Calci giảm trong: còi xương, mềm xương, thiểu năng phó giáp trạng, viêm thận, chứng têtani.

+ Phospho vô cơ trong huyết thanh:

Phospho vô cơ trong huyết thanh ở người trưởng thành là 35 ± 5mg/l. Ở trẻ em, nồng độ phospho hơi cao hơn.

Phospho giảm trong: còi xương, cường phó giáp trạng (thường gặp ở giai đoạn đầu, khi đã có biến chứng viêm thận thì phospho lại bình thường do bị ứ đọng ít được đào thải).

Phospho vô cơ tăng trong: thiểu năng phó giáp trạng, viêm thận.

+ Clo (Cl^-):

Nồng độ Clo trong huyết tương trung bình là 103 ± 5mEq/l.

Clo tăng khi choáng phản vệ, viêm thận mạn tính có urê huyết cao, thận hư nhiễm mỡ, kinh giật.

Clo giảm trong các trường hợp cơ thể mất nhiều muối: nôn mửa nhiều do tắc môn vị, tắc ruột, thai nghén, ỉa chảy, thiểu năng thượng thận mạn.

3.2.3. Các chất hữu cơ

- *Protein*: là chất hữu cơ quan trọng nhất, có hàm lượng cao nhất trong huyết tương. Có nhiều loại protein như: albumin, globulin, fibrinogen... Hầu hết protein được tổng hợp ở gan và tổ chức liên võng. Một số chức năng chính của protein huyết tương là:

Duy trì áp lực keo - thẩm thấu.

Tham gia hệ thống đông máu và chống đông máu.

Quyết định độ nhớt của máu, đóng vai trò quan trọng trong huyết động.

Duy trì pH máu với vai trò là một hệ đệm.

Vận chuyển một số chất.

Bảo vệ cơ thể trong hệ thống miễn dịch.

Nguồn dự trữ acid amin, protein của cơ thể.

Protein toàn phần có nồng độ 70-80g/l. Bằng phương pháp điện di có thể tách được 5 thành phần protein: albumin, globulin $\alpha 1$, $\alpha 2$, β, γ theo thứ tự chậm dần.

THƯ VIỆN HUBT

Bằng phương pháp điện di miễn dịch có thể tách được 18-21 thành phần protein. Protein có thể ở dạng tự do hoặc phức hợp với lipid (lipoprotein), với glucid (glucoprotein), với acid nucleic (nucleoprotein), với kim loại (metalo protein)...

– *Albumin:* chiếm 56% protein toàn phần. Albumin đóng vai trò quan trọng trong duy trì áp lực keo - thẩm thấu, ảnh hưởng tới điều hoà nước trong cơ thể. Albumin có thể vận chuyển được nhiều chất không tan trong nước như: bilirubin

tự do, acid béo, một số hormon, thuốc. Đời sống của albumin tương đối ngắn (T/2 là 7 ngày). Sự thay đổi nồng độ albumin phản ánh một số trạng thái bệnh lý, đặc biệt trường hợp giảm albumin.

+ Giảm albumin do tổng hợp giảm: gặp trong các bệnh về gan (là nơi tổng hợp albumin), hoặc trong đói ăn, suy dinh dưỡng.

+ Giảm albumin do bị thải ra ngoài: gặp trong các bệnh về thận (thận hư nhiễm mỡ, viêm thận cấp).

– *Globulin:* có nhiều loại globulin.

+ Globulin α_1: chiếm khoảng 5,3%, tham gia cấu tạo lipoprotein, glycoprotein.

+ Globulin α_2: chiếm khoảng 7,8% tham gia cấu tạo ceruloplasmin (protein vận chuyển đồng). Globulin α_2 tăng trong thận hư nhiễm mỡ.

+ Globulin β: chiếm khoảng 11,7% trong đó có transferin (protein vận chuyển sắt). Globulin β tăng trong bệnh thấp khớp.

+ Globulin γ: chiếm khoảng 18,6% bao gồm các globulin miễn dịch (IgA, IgM, IgC). Globulin γ tăng trong các bệnh nhiễm khuẩn.

Các phân đoạn protein huyết thanh qua điện di trên giấy (tỷ lệ % trong tổng số protein).

Albumin	Globulin			
	α_1	α_2	β	γ
56,6 ± 7,1	5,3 ±1,7	7,8 ± 3	11,7 ± 2,3	18,6 ± 4,7

Người ta cũng xác định tỷ số A/G (Albumin/Globulin). Bình thường tỷ số A/G = 1,3 - 2. Tỷ số này giảm dưới 1 trong một số trường hợp bệnh lý:

- Giảm albumin: thiếu protein trong suy dinh dưỡng.
- Tăng globulin: tăng colagen, các trường hợp nhiễm khuẩn.
- Giảm albumin và tăng globulin: trong xơ gan, viêm thận cấp.

– *Fibrinogen* (huyết thanh không chứa fibrinogen).

Fibrinogen trong huyết tương có hàm lượng 2-4g/l. Fibrinogen tham gia vào quá trình đông máu (yếu tố I).

Fibrinogen tăng trong bệnh: thấp khớp, viêm phổi và các bệnh nhiễm khuẩn khác. Fibrinogen giảm trong xơ gan.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- *Glycoprotein:*

Trong thành phần glucid của glycoprotein máu, có các ose và dẫn chất chính là: galactose, manose, fructose, ramnose, glucosamin, galactosamin, acid noraminic và dẫn chất của nó (acid sialic). Các glycoprotein có hầu hết ở các

thành phần protein của huyết thanh. Khi điện di trên giấy chúng xuất hiện một lượng lớn ở phần α_1 và α_2 globulin.

Các glycoprotein ở phần α globulin chứa ít fructose còn ở phần β và γ globulin chứa nhiều fructose hơn.

Các glycoprotein huyết tương tăng ở nhiều bệnh: lao, viêm phế quản, viêm phổi, thấp khớp cấp, viêm cầu thận, hội chứng thận hư, nhồi máu cơ tim, đái tháo đường...

- *Lipoprotein:*

Lipoprotein (Lp) còn gọi là lipoproteid (xem chương 9) ở huyết tương, bằng phương pháp điện di có thể được tách làm 3 phần: αLp, pre- β Lp và β Lp. Tuỳ theo chất giá của môi trường điện di pre - β Lp chạy trước β Lp (điện di trên gel agarose) hoặc chạy sau β - Lp (điện di trên gel polyacrylamid) hoặc không tách khỏi β-Lp (điện di trên giấy, trên agar - agar).

Bình thường tỷ số β/ α lipoproteid = 2,3 ± 0,6.

Tỷ số β/α Lp tăng trong: vữa xơ động mạch, thận hư nhiễm mỡ, viêm gan do virus, đái tháo đường, béo phì, tắc mật.

Hiện nay, bằng kỹ thuật siêu ly tâm có thể xác định được hàm lượng của từng loại lipoprotein hoặc bằng kỹ thuật miễn dịch có thể xác định được các thành phần apolipoprotein có nhiều ý nghĩa trong chẩn đoán phân biệt các bệnh có hội chứng tăng lipid máu và tìm ra nhiều cơ chế tác dụng của thuốc hạ lipid máu.

- *Haptoglobin (Hp):*

Haptoglobin là một thành phần của α_2 globulin, có vai trò vận chuyển Hb trong huyết tương, có TLPT = 85000. Phức hợp Hp - Hb không qua màng lọc cầu thận, được hấp thụ bởi hệ thống lưới nội mô. Bằng điện di đã xác định được Hp có 3 kiểu: Hp 1-1, Hp 2-2, và Hp 1-2. Các kiểu này có tính di truyền.

Nồng độ Hp giảm khi tan máu, viêm gan cấp, thiếu máu ác tính và ở người có đời sống hồng cầu ngắn.

- *Metalloprotein:*

– Transferrin (siderophilin): là protein thuộc phần β globulin, TLPT 90.000, có khả năng kết hợp với sắt. Phức hợp sắt - transferrin có màu da cam, có 2 ion Fe^{+3}. Nồng độ transferrin khoảng 2,9g/l. Sắt ở transferrin chiếm gần 0,1% tổng số sắt trong toàn bộ cơ thể. Transferrin là chất vận chuyển sắt ở huyết tương, cùng với haptoglobin và ferritin (ở gan) điều hoà cân bằng sắt trong cơ thể. Có trường hợp thiếu hay không có transferrin trong máu do di truyền hoặc do gan.

– Ceruloplasmin (plastocyanin): là protein vận chuyển đồng (8 nguyên tử đồng/mol), có màu xanh, TLPT 160.000, do gan sản xuất, có hoạt tính peroxydase. Bằng điện di đã xác định được 4 isozym ceruloplasmin (2 isozym của người lớn, 2 isozym của trẻ em mới sinh). Ở một số bệnh gan, nồng độ ceruloplasmin giảm, do đó nồng độ đồng tự do trong máu và tổ chức tăng, gây rối loạn thần kinh (trong bệnh Wilson).

THƯ VIỆN HUBT
BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

- *Các enzym huyết tương:*

Các enzym huyết tương có hai loại:

(1) Các enzym huyết tương có chức năng: là các enzym được tiết vào máu và thực hiện các chức năng sinh lý của huyết tương. Các enzym này thường có hoạt độ trong máu rất cao so với tổ chức. Điển hình cho các enzym nhóm này là các enzym tham gia quá trình đông máu và chống đông máu, pseudo cholin esterase, lipoprotein lipase.

(2) Các enzym huyết tương không có chức năng: là những enzym của các tổ chức được bài tiết vào huyết tương. Bình thường hoạt độ các enzym này ở huyết tương rất thấp so với ở tổ chức vì không có cơ chất ở trong huyết tương.

Các enzym nhóm này lại chia làm 2 nhóm nhỏ:

+ Các enzym ngoại tiết như: phosphatase kiềm của gan; amylase, lipase của tụy, phosphatase acid của tuyến tiền liệt.

+ Các enzym tế bào hoặc enzym chỉ thị: thường không có hoặc có rất ít trong máu. Hoạt tính của chúng tăng khi tế bào tổ chức bị tổn thương (hoại tử hay tăng tính thấm). Phần lớn các enzym này là của bào tương (LDH, aldolase), một số là của ty thể (glutamat dehydrogenase), một số là của lysosom (phosphatase acid, β glucuronidase)

Các enzym tế bào được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất vì sự tăng hoạt tính trong huyết tương của chúng phản ánh trạng thái chức năng và bệnh lý của nhiều cơ quan.

Sau đây là một số enzym điển hình:

– *Amylase:*

Amylase có nguồn gốc tuyến tụy và tuyến nước bọt. Bình thường amylase là 60-160 đơn vị somogyi/dl hoặc 8-32 đơn vị Wohlgenmuth. Amylase tăng trong quai bị, viêm tụy cấp tính và giảm trong viêm tụy mạn tính.

– *Transaminase:*

Transaminase là những enzym vận chuyển nhóm amin. Trong huyết thanh người ta thường định lượng 2 loại transaminase:

+ Aspartat aminotransferase (ASAT) còn gọi là glutamic oxaloacetic transminase (GOT). Bình thường 0-35U/l hoặc 0-0,58μkat/l. ASAT có nhiều trong tế bào tim, gan (trong tim nhiều hơn). ASAT tăng trong nhồi máu cơ tim, sau 6-8 giờ thì bắt đầu tăng, sau 24 giờ thì đạt đỉnh cao, sau 4-6 ngày thì trở về bình thường. ASAT tăng trong mọi bệnh của gan. Đặc biệt trong viêm gan virus ASAT và ALAT tăng rất sớm và rất cao (có thể gấp 100 lần bình thường).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Alanin aminotransferase (ALAT) còn gọi là glutamic pyruvic transaminase (GPT). ALAT bình thường cũng như ASAT 0-35U/l. ALAT có nhiều trong tế bào gan, tim (trong gan nhiều hơn). ALAT trong huyết tương tăng trong viêm gan virus và nhồi máu cơ tim. Để phân biệt hai bệnh này, ta thường thiết lập tỷ số ASAT/ALAT.

Cơ thể bình thường ASAT/ALAT = 1.

Trong viêm gan virus ASAT/ALAT <1.

Trong nhồi máu cơ tim ASAT/ALAT>1.

Trong viêm gan virus, ALAT tăng rất sớm (trước khi có dấu hiệu vàng da 10 – 15 ngày) cho nên xác định ALAT là xét nghiệm cơ bản để chẩn đoán sớm, kiểm tra máu của người cho máu và phát hiện bệnh truyền nhiễm.

– *Phosphatase:*

Phosphatase gồm 2 loại: phosphatase kiềm và phosphatase acid.

+ Phosphatase kiềm (ALP): hoạt động ở môi trường kiềm (pH = 9). Enzym này chủ yếu có ở trong xương, gan, thận, tế bào ruột. Ở người bình thường phosphatase kiềm có nguồn gốc từ gan và xương, có trị số trung bình là 30-120 U/l hoặc 0,5–20 µkat/l.

Ở gan enzym này được bài xuất vào mật cho nên khi tắc mật trong gan hay ngoài gan phosphatase kiềm đều tăng cao, có thể gấp 3-8 lần bình thường. Một số thuốc gây vàng da ứ mật như clopromazin hoặc sulfonamid cũng làm tăng phosphatase kiềm. Trong tổn thương gan cấp, mức độ nhẹ ALP ít khi tăng. Trong xơ gan ALP thất thường tuỳ thuộc mức độ còn bù trừ hay không và có kèm theo tắc mật hay không. Trong mô xương sản xuất rất nhiều ALP, do đó, nồng độ men này tăng rõ rệt trong bệnh Paget, còi xương, ưu năng tuyến cận giáp, ung thư xương. ALP tăng sinh lý trong thời kỳ phát triển xương nhanh ở trẻ em, người có thai, hoặc thời kỳ lành gãy xương.

+ Phosphatase acid: hoạt động mạnh ở pH = 5,2, có nhiều ở tuyến tiền liệt, hồng cầu và tiểu cầu.

Bình thường hoạt độ là 0,1 - 0,5µkat/l.

Phosphatase acid tăng trong: ung thư tiền liệt tuyến, ung thư di căn vào xương, xốp xương...

Có thể định lượng phosphatase acid ức chế bởi L (+) tartrat, xét nghiệm này đặc hiệu cho ung thư tuyến tiền liệt.

– *Creatin kinase - CK* (còn gọi là creatin phospho kinase - CPK):

Bình thường 0 - 130 U/l hay 0-2,16 µkat/l.

Creatin kinase xúc tác chuyển phospho creatin thành creatin giải phóng phosphat giàu năng lượng cho cơ tim và cơ xương. CK là một dime gồm 2 tiểu đơn vị M và B. Mô não có khoảng 90% BB (CK_1) và 10% MM (CK_3), mô tim có 40% MB (CK_2) và 60% MM; còn trong huyết thanh có 100% MM như ở cơ xương. Các trường hợp lâm sàng gây tăng CK trong huyết thanh thường là từ cơ tim hoặc cơ xương. Còn loại BB ở não không bao giờ thấy trong huyết thanh kể cả khi bị tai biến mạch máu não vì enzym này không đi qua được hàng rào máu não.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU KHU VỰC TRÌNH KHÁM MỞ RỘNG

Trong nhồi máu cơ tim, CK là enzym tăng sớm nhất, bắt đầu tăng 4-8 giờ sau khi bị cơn, đạt đỉnh cao khoảng 12-24 giờ, duy trì trong khoảng 72 giờ từ khi bắt đầu.

Phần MB cao hơn 6% tổng hoạt độ enzym được coi là dấu hiệu cao của nhồi máu cơ tim.

Hiện nay để theo dõi nghi vấn nhồi máu cơ tim việc định lượng isozym MB từ 8 - 12 giờ một lần cho đến 48 giờ sau thường được sử dụng hơn là đo LDH, ASAT hoặc CK toàn phần. CK còn tăng trong tất cả các trường hợp tổn thương cơ vân: do chấn thương, do hôn mê kéo dài, viêm cơ...

- *Các globulin miễn dịch (Ig):*

Trong huyết tương người bình thường có 5 loại Ig: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE.

Mỗi loại đều có phân tử lượng, vai trò, tính chất và nồng độ trong huyết tương khác nhau.

***Bảng 13.3.** Đặc tính của các globulin Ig người (theo Funder Berg 1976)*

Đặc tính	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Trọng lượng phân tử	150.000	160.000-400.000	900.000	180.000	190.000
Nồng độ mg/dl HT	1.000	200	120	3	0,05
Hoạt tính reagitric	?	0	0	0	+++
Tiêu vi khuẩn	+	+	+++	?	?
Hoạt tính chống virus	+	+++	+	?	?
Cố định bổ thể	+	0	++++	0	0
Chức năng	- Trung hoà độc tố - Ngưng kết vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng	- Trung hoà độc tố - Ngưng kết vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng	- Trung hoà độc tố - Ngưng kết vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng	Receptor ở lympho B	Thay đổi tính thấm thành mạch

Bằng phương pháp điện di miễn dịch người ta còn phát hiện nhiều yếu tố protein tham gia phản ứng miễn dịch như bổ thể, các kháng thể, kháng nguyên đặc hiệu cho một số bệnh.

- *Các chất nitơ phi protein:*

– *Urê:*

Urê là một trong những sản phẩm thoái hoá quan trọng nhất của protein. Urê được tổng hợp ở gan và đào thải qua thận.

Urê huyết của người bình thường là 20 - 40mg/dl hoặc 3,3 - 6,6mmol/l chiếm 50% nitơ phi protein.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Urê tăng trong: viêm thận cấp và mạn tính, đái ít, bí đái do sỏi, thiếu muối do ỉa chảy, nôn kéo dài và ăn nhiều protein.

– *Acid uric:*

Acid uric là sản phẩm thoái hoá cuối cùng của base purin, bình thường acid uric máu toàn phần khoảng 4,5mg/dl hoặc 270µmol/l.

Acid uric tăng trong các bệnh: thống phong (Goutte), viêm thận, tăng bạch cầu điều trị bằng tia, thuốc, bỏng nặng, nhiễm độc chì và thuỷ ngân.

– *Creatin và creatinin:*

Ở người bình thường creatin khoảng 1mg/dl và creatinin khoảng 10mg/dl (hoặc 88,5µmol/l).

Creatinin tăng trong bệnh: viêm thận mạn tính, vô niệu và ngộ độc thuỷ ngân. Creatinin còn có giá trị tiên lượng bệnh viêm thận mạn.

– *Bilirubin:*

Là sản phẩm thoái hoá của hemoglobin. Bình thường bilirubin toàn phần huyết thanh dưới 10mg/l hoặc dưới 17µmol/l, trong đó chủ yếu là bilirubin tự do.

Bilirubin toàn phần tăng trong bệnh vàng da (do tiêu huyết hay viêm gan, tắc mật).

Bilirubin tự do tăng trong vàng da tiêu huyết.

Bilirubin liên hợp tăng trong vàng da tắc mật hay viêm gan virus.

– *Amoniac:*

Bình thường NH_3 dưới 50µg/dl máu toàn phần.

NH_3 máu tăng trong: tiền hôn mê và hôn mê gan, bỏng nặng, chảy máu đường tiêu hoá ở người bị xơ gan.

- *Glucose:*

Glucose máu dao động trong khoảng 80 - 120mg/dl hoặc 4,44-6,66mmol/l.

Glucose tăng trong các trường hợp: bệnh đái tháo đường do các nguyên nhân (tuyến tụy, tuyến yên, tuyến giáp, thượng thận), sau ăn nhiều glucid, cảm động, lạnh, bệnh thiểu năng gan, nhồi máu cơ tim.

Glucose giảm trong: ăn không hấp thụ được, tiết sữa nhiều , thiểu năng tuyến yên, vỏ thượng thận, cắt dạ dày..

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 13.4. *Trị số bình thường của những thành phần chính trong máu (người trưởng thành)*

Hợp chất	Đơn vị thường dùng (cũ)	Đơn vị quốc tế (SI)	Hệ chuyển từ đơn vị cũ sang SI
Natri	3,28 ± 0,09 g/l 142,5 ± 4 mEq/l	142,5 ± 4 mmol/l	43,5 1
Kali	172 ± 12 mg/l 4,4 ± 0,3 mEq/l	4,4 ± 0,3 mmol/l	0,026 1
Calci	100 ± 3 mg/l 5 ± 0,15 mEq/l	2,5 ± 0,075 mmol/l	0,025 0,5
Bicarbonat (dự trữ kiềm)	27± 1 mEq/l	27± 1,0mmol/l	1
Phospho vô cơ	36,0 ± 3 mg/l	1,16 ± 0,12 mmol/l	0,032
Sắt	135 ± 30 µg/l100 ml	24 ± 5 µmol/l	
Glucid			
Glucose:			
Kỹ thuật enzym	0,75 ± 0,07 g/l	4,2 ± 0,3 mmol/l	5,55
Các kỹ thuật khác	0,90 ± 0,07 g/l	5,0 ± 0,4mmol/l	5,55
Lactat	100 ± 22 mg/l	1,1 ± 0,25 mmol/l	0,011
Pyruvat	9 ± 3,85 mg/l	102 ± 44 µmol/l	11,4
Lipid			
Cholesterol toàn phần	2,3 ± 0,2 g/l	5,9 ± 0,6mmol/l	2,58
Cholesterol tự do	0,65 ± 0,16 g/l	1,65 ± 0,22mmol/l	
Cholesteroleste	1,65 ± 0,17 g/l	4,4 ± 0,55 mmol/l	
Tỷ số $\frac{\text{Ch. este}}{\text{Ch. toàn phần}}$	72 ± 5%		
Lipid toàn phần	6 ± 1g/l	6 ± 1g/l	1
Triglycerid	1 ± 0,25g/l	1,15 ± 0,3 mmol/l	1,143
Hợp chất nitơ phi protein			
Amoniac	0,65 ± 0,13mg/l	40 ± 10µmol/l	58,72
Urê	0,30 ± 0,07g/l	5 ± 1,2 mmol/l	16,65
Creatinin	10,0 ± 1,4mg/l	88,5 ± 12 µmol/l	8,84
Acid uric	45 ± 6mg/l	270 ± 35 µmol/l	5,95
Bilirubin: *Toàn phần* *Liên hợp* *Không liên hợp*	 5,5 ± 1,5mg/l < 0,5 5,0 ± 1,6mg/l	 9,5 ± 2,5 µmol/l <1 8,5 ± 28µmol/l	 1,71 1,71 1,71
Protein			
Hemoglobin	160 ± 10 g/l	10 ± 0,7 mmol/l	0,062
Fibrinogen	3,4 ± 0,25g/l huyết tương	9 ± 0,8 mmol/l	
Protein toàn phần huyết thanh	72 ± 2,5g/l		
Albumin huyết thanh	42 ± 2g/l	590 ± 30 µmol/l	14
Globulin huyết thanh	27 ± 2g/l		

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ghi chú: (1) Theo số liệu của G.Schapira.

- *Lipid:*

Huyết thanh người bình thường có 5-7 g/l lipid toàn phần; trong đó có triglycerid, cholesterid, cholesterol, phospholipid.

Lipid máu tăng trong điều kiện sinh lý: sau bữa ăn, có thai và theo tuổi.

Lipid máu tăng trong các bệnh: vữa xơ động mạch, thận hư nhiễm mỡ, phù niêm (myxoedeme), ưu năng vỏ thượng thận. Để chẩn đoán chính xác và đánh giá đúng các thành phần gây bệnh hiện nay thường xác định cholesterol máu.

– Cholesterol toàn phần (1,75 ± 0,2g/l hoặc 4,9 ± 0,5 mmol/l) bao gồm cholesterol tự do (35%) và cholesteroleste (65%). Trong xơ gan tỷ lệ cholesteroleste thấp. Sự biến đổi cholesterol trong máu có ý nghĩa gần giống với ý nghĩa của lipid toàn phần.

Hiện nay đã phân biệt được ý nghĩa lâm sàng của cholesterol trong LDL (1,3-3,3 mmol/l) và cholesterol trong HDL (0,8 - 1,8 mmol/l).

– Cholesterol - LDL càng cao thì nguy cơ mắc bệnh vữa xơ động mạch càng cao. Và ngược lại cholesterol HDL càng cao thì nguy cơ VXĐM càng ít (xem chương 9).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 14

HOÁ SINH GAN

MỤC TIÊU

1. *Nêu được thành phần, vai trò dịch mật của gan*
2. *Giải thích được vai trò điều hoà đường huyết của gan và nêu được các nghiệm pháp thăm dò chức năng gan.*
3. *Nêu được vai trò chuyển hoá lipid của gan, các thử nghiệm đánh giá chức năng này.*
4. *Nêu được vai trò tổng hợp protein của gan và các thử nghiệm đánh giá.*
5. *Nêu được các cơ chế giải độc của gan và các thử nghiệm thăm dò.*
6. *Hệ thống được các thử nghiệm thăm dò chức năng gan theo hội chứng các bệnh về gan.*

Gan là một cơ quan quan trọng về mặt chuyển hoá các chất. Gan nằm trong ổ bụng, dưới hạ sườn phải, có khối lượng khoảng 3% khối lượng cơ thể.

Máu tới gan do hai nguồn cung cấp: động mạch gan được tách ra từ động mạch chủ và tĩnh mạch cửa. Tĩnh mạch cửa bao gồm các tĩnh mạch từ dạ dày, ruột, lách, túi mật và mạc treo hợp thành. Hai nguồn này tới gan đều được phân chia thành hệ mao mạch dày đặc và cuối cùng trộn lẫn nhau đổ lên các tế bào gan. Huyết tương trực tiếp thấm vào các tế bào gan. Các mao tĩnh mạch hợp thành tĩnh mạch trên gan đưa máu vào tĩnh mạch chủ dưới. Đi cạnh các mao mạch gan có các ống mật nhỏ dẫn dịch mật do tế bào gan tiết ra. Dịch mật được dự trữ ở túi mật và đổ vào tá tràng khi cần thiết.

Lượng máu lưu thông qua gan rất lớn (1-2 lít/1 phút) khoảng 1/3 lượng máu lưu thông toàn cơ thể. Gan còn có khả năng dự trữ máu rất lớn.

Về cấu tạo theo Rappaport và Gotvin (1963) các đơn vị hoạt động nhỏ nhất là đơn nang. Đơn nang do nhiều tế bào gan nằm quay quanh một trục gồm tiểu tĩnh mạch cửa, tiểu động mạch gan, mạch bạch huyết, ống dẫn mật nhỏ và thần kinh. Hai ba đơn nang hợp thành nhóm nang. Xung quanh nhóm nang có tổ chức liên kết. Tổ chức liên kết còn bao quanh các thuỳ gan có các tế bào Kupffer làm nhiệm vụ thực bào và tạo γ globulin.

Gan có nhiều chức phận:

- Chuyển hoá các chất: là chức phận quan trọng nhất.
- Khử độc: khử các chất độc ngoại sinh hay nội sinh.
- Tuần hoàn: chuyển hoá máu từ hệ thống tĩnh mạch cửa sang hệ thống tuần hoàn chung, điều hòa thể tích máu.
- Tham gia quá trình đông máu và tạo máu ở thời kỳ bào thai.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1. Thành phần hoá học của nhu mô gan

Thành phần hoá học của nhu mô gan thay đổi theo trạng thái hoạt động của gan. Thành phần theo tỷ lệ phần trăm của gan như sau:

Nước	70%		
Chất khô	30%; trong đó:	Protein	15%
		Glycogen	5%
		Glucose	0,1%
		Mỡ trung tính	2%
		Phosphatid	2,5%
		Cholesterol	0,3%
		Na^+	0,19%
		K^+	0,21%
		Một số muối vô cơ, kim loại, vitamin và enzym...	

– Protein của gan gồm albumin, globulin, một ít nucleoprotein, colagen. Đặc biệt trong gan có ferritin, một số acid amin tự do mà nhiều nhất là acid glutamic.

– Glucid: glycogen gan ở người trưởng thành tới 150 – 200g ở trạng thái no, dự trữ trong các tế bào cơ sở của gan.

– Lipid: gan chứa một lượng lipid bằng 4,8% khối lượng của gan.

– Enzym và vitamin: gan là cơ quan có nhiều enzym hơn cả. Trong gan có nhiều caroten, vitamin A, các vitamin nhóm B. Ngoài ra gan còn là nơi dự trữ vitamin cho cơ thể như vitamin A, vitamin B_{12}.

– Nhiều muối vô cơ và ion kim loại khác.

2. Các chức phận hoá sinh của gan

Các sản phẩm tiêu hoá của thức ăn và cả những chất do vi khuẩn ở ruột được hấp thụ qua máu theo tĩnh mạch cửa vào gan. Ở gan các chất này chịu sự biến đổi khác nhau. Trong gan luôn có hai quá trình tổng hợp và phân ly:

Tổng hợp một số chất phức tạp như: protein, glycogen, phosphatid;

Phân ly một số phân tử phức tạp thành đơn giản để cung cấp cho các cơ quan khác.

Gan còn có khả năng khử độc các chất độc nội sinh (do cơ thể sinh ra) và các chất độc ngoại sinh (bị nhiễm từ ngoài vào).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.1. Chức phận tạo mật

Mật được tiết ra từ những tế bào gan, qua ống dẫn mật và dự trữ ở túi mật. Khi tiêu hoá, mật được tiết vào tá tràng. Lượng mật được tiết ra hàng ngày thay đổi tuỳ theo khối lượng và tính chất của thức ăn. Trung bình lượng mật bài tiết

hàng ngày khoảng 1 lít. Trong túi mật, mật được cô đặc, song sự cô đặc này không phải là sự mất nước đơn thuần bởi vì các thành phần trong mật được cô đặc ở những mức độ khác nhau.

Về tiêu hoá thì thành phần quan trọng của mật là acid mật và muối mật.

Bảng 14.1. *Thành phần mật trong gan và trong túi mật*

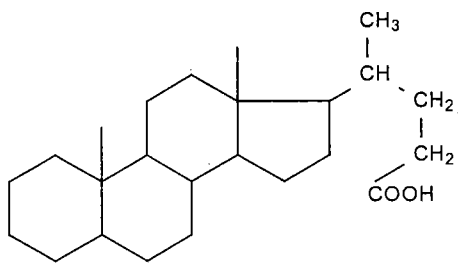
	Mật trong gan %	Mật trong túi mật %
Nước	97	86
Chất khô	2,4	14
Acid mật	0,4	4-7
Mucin và sắc tố mật	0,5	4
Cholesterol	0,15	0,6
pH	7,5	6,8

2.1.1. Acid mật và muối mật (xem thêm chương 9- chuyển hoá cholesterol)

– Acid mật được tạo thành ở gan từ cholesterol. Thực nghiệm trên chuột với cholesterol ghi dấu bằng deuterium (D) vào mạch máu chó thấy acid cholic trong nước tiểu chó chứa D. Về bản chất acid mật là những dẫn xuất của acid cholanic.

Từ mật người, người ta đã phân lập được các acid mật sau đây:

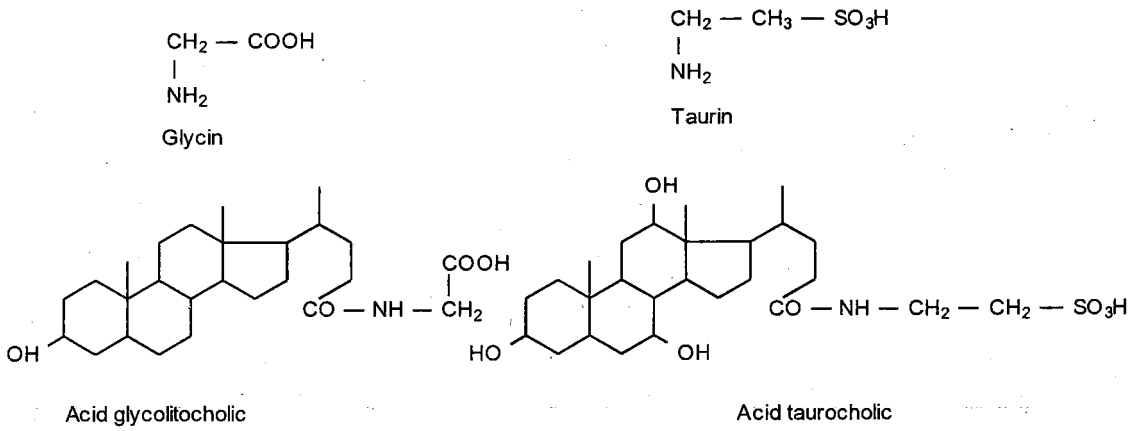
+ Acid litocholic (acid 3-hydroxycholanic)
+ Acid chenodeoxycholic (acid 3-7 dihydroxycholanic).
+ Acid deoxycholic (acid 3-12 dihydroxycholanic).
+ Acid cholic (acid 3-7-12 trihydroxycholanic).



Hình 14.1. Acid cholanic

THƯ VIỆN HUBT
TRI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

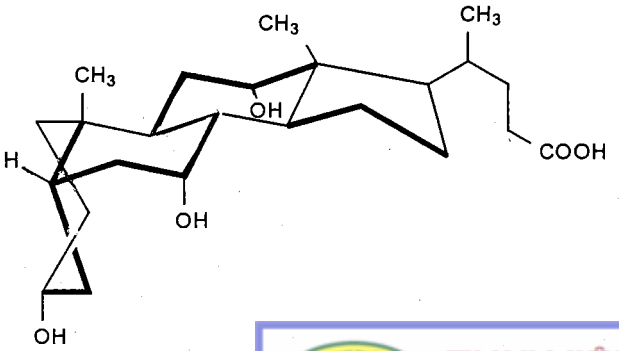
Các acid mật đều không có ở dạng tự do trong mật mà chúng liên kết với glycin hoặc taurin tạo thành các muối mật. Glycin và taurin có nhóm amin, tạo thành liên kết giống như liên kết peptid khi tác dụng với nhóm carboxyl của acid mật. Các muối mật trong mật ở dạng muối natri: glycocholat natri hay taurocholat natri.



Hình 14.2. Muối mật

– Muối mật đóng vai trò quan trọng trong việc tiêu hoá mỡ. Muối mật có tác dụng nhũ tương hoá mỡ. Ở dạng cấu trúc không gian của muối mật tất cả các nhóm có cực ở về một phía, nhóm không cực ở về một phía. Các phân tử này sẽ nằm ở mặt phẳng ranh giới giữa hai pha nước - mỡ để tạo thành trạng thái nhũ tương bền. Ở trạng thái nhũ tương bền, mỡ có đủ diện tích bề mặt để lipase tiếp xúc tác dụng.

Trong 24 giờ có khoảng 5g acid mật được tiết vào ruột, nhưng 90% sẽ được tái hấp thu cùng với lipid trở về gan (thí nghiệm của Josephsôn, Hydin và Frohlicher đã làm sáng tỏ sự tái hấp thụ ở ruột non). Khoảng 10% muối mật được đào thải theo phân ra ngoài. Bình thường không có muối mật trong nước tiểu. Trường hợp tắc mật, lượng muối mật trong huyết thanh và trong nước tiểu tăng cao.



Hình 14.3. Cấu trúc không gian của acid mật

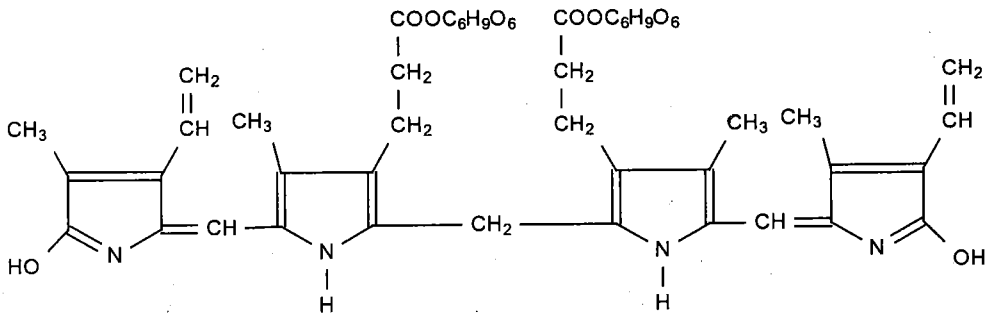
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong viêm gan vàng da muối mật tăng ít hơn. Trong vàng da tiêu huyết không thấy sự tăng muối mật.

2.1.2. Sắc tố mật

Sắc tố mật chủ yếu là bilirubin và bilivecdin. Bilirubin do tế bào liên võng và tế bào Kuffer của gan sản xuất từ hemoglobin trong quá trình tiêu huỷ hồng

cầu ở gan: bilirubin được tạo ra ở gan kết hợp với acid glucuronic tạo thành bilirubin liên hợp tan trong nước. Bình thường trong huyết thanh có khoảng 0,2 - 0,8mg/100ml bilirubin ở dạng tự do, bilirubin liên hợp chỉ có ở dạng vết. Bilirubin tăng trong máu ở các trường hợp vàng da tan huyết, tắc mật, viêm gan do virus.



Hình 14.4. Bilirubin diglucuronat

Có trường hợp do thiếu nhất thời enzym glucuronat transferase gan, bilirubin không được liên hợp gây vàng da sinh lý ở trẻ sơ sinh. Trường hợp này là do lượng bilirubin tạo ra từ hồng cầu thoái hoá vượt quá khả năng liên hợp với acid glucuronic ở gan. Sắc tố mật còn có urobilin và stercobilin (sản phẩm thoái hoá của hemoglobin). Những sản phẩm này được tái hấp thu qua màng ruột đi vào gan qua tĩnh mạch cửa, ở gan một phần urobilin và stercobilin tái tạo thành bilirubin, phần còn lại đào thải qua mật và xuất hiện ở phân, một phần rất nhỏ đi vào đường tuần hoàn chung qua thận xuất hiện trong nước tiểu (dưới 24mg/24h).

Khi bị viêm gan hoặc suy gan sẽ ảnh hưởng tới tính thấm tế bào, làm cho sắc tố mật và muối mật thấm vào máu nhiều hơn.

Bilirubin trong máu tăng, sắc tố mật và muối mật trong nước tiểu dương tính.

Trong tắc mật, áp lực trong ống mật tăng, bilirubin trực tiếp trong máu tăng rất cao, sắc tố mật và muối mật trong nước tiểu cũng tăng cao, stercobilin trong phân rất ít nên phân mất màu vàng.

2.1.3. Cholesterol

Khác với tất cả các dịch khác trong cơ thể, dịch túi mật chứa nhiều cholesterol hơn cả, đôi khi đạt tới 1%. Cholesterol không tan trong nước nhưng muối mật ngăn cản sự kết tủa của cholesterol. Cholesterol được tiết ra cùng với mật cũng được tái hấp thu và người ta cho rằng cũng như muối mật, cholesterol giúp cho sự hấp thu lipid. Khi túi mật bị viêm, chỗ viêm tạo thành một tâm kết tủa, tại chỗ đó hình thành sỏi mà thường cholesterol tới 80-90%.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Chức phận chuyển hoá glucid, lipid, protein

Gan có chức phận toàn diện trong chuyển hoá các chất. Gan có khả năng tiếp nhận, chọn lọc, biến đổi, dự trữ, phân phối và thải trừ các chất. Hầu hết các chất được hấp thu qua đường tiêu hoá theo tĩnh mạch cửa vào gan (trừ một số

lipid theo đường bạch mạch). Một số chất trong chuyển hoá của cơ thể cũng được đưa về gan như acid lactic, NH_3... để chuyển hoá tiếp hay thải trừ. Các chất được gan chọn lọc biến đổi để cung cấp cho các cơ quan khác hoặc thải trừ ra ngoài bằng đường mật tuỳ theo nhu cầu của cơ thể.

Có một số chất được dự trữ ngay ở gan như: glycogen, muối khoáng, vitamin v.v...

2.2.1. Chức phận chuyển hoá glucid

Gan có khả năng tham gia vào hầu hết các con đường chuyển hoá của glucid nói chung và mức độ chuyển hoá mạnh hơn nhiều cơ quan khác.

- *Tổng hợp glycogen dự trữ cho cơ thể:*

Gan có khả năng tổng hợp glycogen từ glucose, từ các ose khác và từ nhiều sản phẩm chuyển hoá trung gian khác. Còn ở cơ chỉ tổng hợp được glycogen từ glucose. Tổn thương tế bào gan sẽ dẫn đến rối loạn chuyển hoá galactose thành glycogen. Nghiệm pháp galactose phát hiện tổn thương này.

- *Phân ly glycogen:*

Ở gan có hai cách phân ly glycogen:

– Thuỷ phân glycogen với sự tham gia của amylase và maltase. Sự thủy phân này giống như sự thủy phân tinh bột trong bộ máy tiêu hoá để cung cấp glucose cho máu.

– Phosphoryl thuỷ phân với sự tham gia của phosphorylase cắt liên kết 1 - 4 glycosid ở phân tử glucose nằm đầu chuỗi tạo glucose - 1 phosphat, quá trình này giống như ở tổ chức (xem chương chuyển hoá glucid).

Glucose - 1 phosphat và glucose - 6 phosphat sẽ được tách phosphat dưới tác dụng của phosphatase giải phóng glucose. Glucose thấm qua màng tế bào vào máu (phản ứng này không xảy ra ở cơ và các tổ chức).

Ngoài ra, gan còn có khả năng tổng hợp glucose từ các ose khác; từ các acid amin, acid lactic, acid pyruvic và nhiều chất khác, khả năng này ở cơ không có. Chính nhờ khả năng chuyển hoá glucid rất mạnh và phong phú mà gan tham gia tích cực vào sự điều hoà đường huyết cùng với các yếu tố khác như thần kinh, hormon: insulin, adrenalin. Bình thường nồng độ glucose trong máu là 80-120mg/100ml, khi nồng độ glucose trên 120mg/100ml thì gan giảm sản xuất glucose và tăng tổng hợp glycogen. Khi nồng độ glucose trong máu dưới 80mg/100ml thì gan tăng cường phân ly glycogen. Để đánh giá chức năng chuyển hoá glucid của gan người ta dùng nghiệm pháp gây tăng đường huyết; nghiệm pháp thực hiện như sau: cho bệnh nhân uống lúc đói 1 gam glucose cho 1 kg thể trọng, lấy máu để định lượng glucose trước khi uống và sau đó cứ 30 phút lấy một lần, lấy máu trong vòng 2-3 giờ. Bình thường glucose máu tăng lên đến 150 mg/100ml trong vòng nửa giờ đầu rồi giảm dần và sau 2 giờ thì trở về bình thường. Người suy gan, glucose tăng cao hơn có thể tới 200mg/100ml và trở về bình thường cũng chậm hơn, thường sau 3 giờ. Nghiệm pháp này ít đặc hiệu cho gan do tuyến thượng thận và tụy có thể ảnh hưởng kết quả và khó thực hiện. Hiện nay nghiệm pháp gây bài tiết galactose niệu hay được dùng hơn, tiện lợi hơn.

THƯ VIỆN HUBT

Nguyên tắc của nghiệm pháp là: galactose được gan chuyển thành glucose và glycogen để dự trữ. Khi gan bị suy thì tốc độ chuyển hoá chậm hơn, đường huyết sẽ cao hơn và thải ra ngoài nước tiểu nhiều hơn.

Cách tiến hành nghiệm pháp: sáng sớm bệnh nhân chưa ăn uống gì, được uống 40g galactose trong 200ml nước, nằm nghỉ lấy nước tiểu sau 2 giờ (mẫu 1) và sau 4 giờ (mẫu 2). Xác định thể tích và nồng độ đường trong từng mẫu.

Bình thường: mẫu 1 có nồng độ dưới 6g/l, mẫu 2 có nồng độ dưới 1,5g/l.

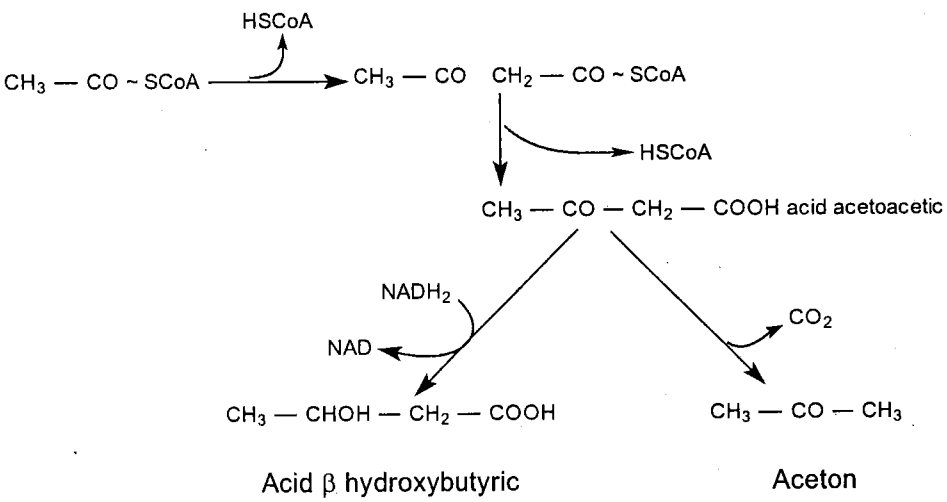
Tổng lượng đường thải ra trong 4 giờ nhỏ hơn 4g .

2.2.2. Chuyển hoá lipid

Gan có vai trò quan trọng trong chuyển hoá lipid.

– Gan là nơi duy nhất sản xuất ra mật để nhũ tương hoá lipid. Sau khi hấp thụ dù qua đường tĩnh mạch cửa hoặc qua đường bạch huyết lipid đều qua gan, được giữ lại ở gan rồi chuyển tới các mô khác sau nhiều biến đổi trong gan.

– Sự thoái hoá acid béo xảy ra mạnh mẽ trong gan tạo thành acetyl CoA, nhưng chỉ một phần rất nhỏ acetyl CoA này bị đốt cháy trong chu trình Krebs để cung cấp năng lượng cho gan sử dụng. Phần lớn acetyl CoA chuyển thành các chất cetonic rồi chuyển tới các mô khác để sử dụng. Ở các mô, các chất cetonic này lại biến thành acetyl CoA để đốt cháy hoàn toàn thành CO_2, H_2O và năng lượng.



Bình thường nồng độ các chất cetonic trong máu thấp, khi nhịn đói lâu ngày hay ở bệnh nhân đái tháo đường nồng độ các chất cetonic tăng cao trong máu và thải ra nước tiểu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Gan tổng hợp được acid béo nhưng không mạnh bằng mô mỡ.

– Gan tổng hợp rất mạnh glycerid, phosphatid, lipoprotein. Đặc biệt phosphatid và lipoprotein được tổng hợp ở gan là chủ yếu. Gan dự trữ lipid rất ít so với mô mỡ, phần lớn lipid được tổng hợp được vận chuyển tới các tổ chức khác dưới dạng lipoprotein. Khi gan bị tổn thương nặng hay thiếu các chất hướng mỡ như: cholin, methionin, inositol, v v... Sự tổng hợp phosphatid không đủ để tổng

hợp lipoprotein, triglycerid không được vận chuyển tới các tổ chức, gan bị ứ đọng mỡ, lâu ngày dẫn đến xơ gan.

Các chất hướng mỡ có tác dụng bổ gan trên cơ chế tăng cường sự tổng hợp phosphatid đặc biệt lecithin để vận chuyển bớt triglycerid ra khỏi gan làm cho nhu mô gan được phục hồi.

– Gan đóng vai trò quan trọng trong tổng hợp cholesterol, quá trình tổng hợp cholesterol ở gan mạnh hơn nhiều lần so với thận, thượng thận, ruột non và phổi. Đặc biệt cholesterol este của máu chỉ được tổng hợp ở gan. Vì vậy xác định tỷ lệ cholesterol este/cholesterol toàn phần trong huyết tương có thể đánh giá được chức năng gan. Bình thường tỷ lệ trên lớn hơn 65%, khi nhu mô gan tổn thương tỷ lệ này giảm xuống dưới 50%.

– Gan là cơ quan chủ yếu tổng hợp lipoprotein. Hầu hết VLDL, HDL do gan tổng hợp để vận chuyển cholesterol và triglycerid từ gan tới các tổ chức khác. HDL còn tham gia vận chuyển cholesterol từ tế bào ngoại vi về gan để đào thải bằng đường mật dưới dạng acid mật hay cholesterol tự do (xem chương 9).

Trong viêm gan do virus HDL huyết thanh rất thấp cho nên tỷ lệ β/α lipoprotein rất cao.

2.2.3. Chuyển hoá protein

– Gan có khả năng tổng hợp peptid và protein rất lớn cho gan và huyết tương. Gan tổng hợp toàn bộ albumin của huyết tương, có nhiệm vụ tạo áp lực keo cho máu, vận chuyển acid béo, bilirubin và một số kim loại. Toàn bộ ferritin cũng được tổng hợp ở gan để dự trữ sắt (sắt chiếm 20% ferritin).

Tổ chức liên kết của gan tổng hợp một phần globulin của máu. Chức năng này được tăng cường trong một số trường hợp bị kích ứng, viêm nhiễm.

Vì vậy trong viêm gan, xơ gan nồng độ albumin giảm, globulin tăng trong máu dẫn đến tỷ lệ A/G giảm. Phương pháp điện di, các thử nghiệm lên bông: Gros, Maclagan.. có thể đánh giá sự biến đổi trên.

– Gan là cơ quan sản xuất nhiều yếu tố tham gia quá trình đông máu như: fibrinogen, prothrombin, proaccelerin (yếu tố V), proconvertin (yếu tố VII). Trong tổn thương gan, các yếu tố này trong máu thấp, quá trình đông máu chậm, thời gian đông máu kéo dài.

– Gan còn có khả năng tổng hợp nhiều loại enzym tham gia quá trình chuyển hoá các chất. Khi gan bị tổn thương làm thay đổi tính thấm của tế bào gan dẫn đến hoạt độ nhiều enzym trong máu thay đổi theo. Xác định hoạt độ enzym trong máu có thể chẩn đoán một số bệnh:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Transaminase: glutamic pyruvic transaminase (GPT) còn gọi alanin aminotransferase (ALAT) tăng trong huyết thanh ở các bệnh gan cấp tính. Trong viêm gan do virus GPT tăng rất sớm và rất cao, có thể tới 100 lần so với bình thường.

+ Phosphatase kiềm trong huyết thanh tăng trong trường hợp tắc đường dẫn mật.

+ Lactat dehydrogenase trong huyết thanh tăng cao trong trường hợp có sự huỷ hoại nhu mô gan trong viêm gan cấp, vàng da tắc mật, ung thư di căn gan. Tỷ lệ isozym LDH_5/LDH_1 tăng cao trong trường hợp ung thư tiên phát ở gan.

+ Aldolase giảm trong các bệnh về gan.

+ Cholinesterase giảm trong viêm gan.

+ Ornithin carbamyl transferase (OCT) tăng trong nhiều bệnh liên quan tới gan.

– Gan tham gia tổng hợp và chuyển hoá các acid amin, đặc biệt là quá trình khử hay trao đổi amin của các acid amin.

2.3. Chức phận khử độc

Gan đóng vai trò chủ yếu trong việc khử chất độc nội sinh và ngoại sinh.

Quá trình khử độc có hai cơ chế: cố định, thải trừ và biến đổi hoá học.

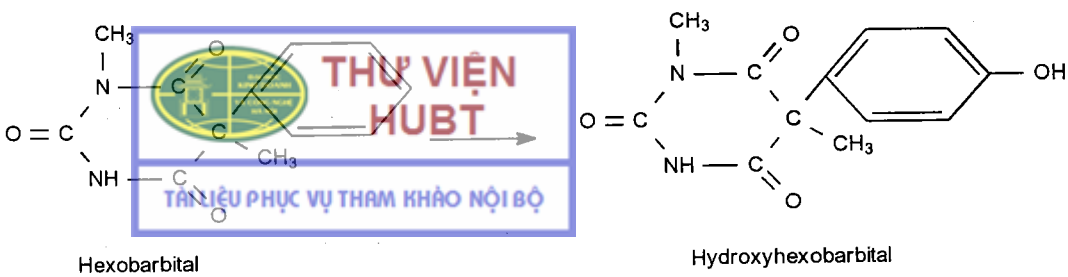
2.3.1. Cơ chế cố định và thải trừ

Một số lớn kim loại (muối, đồng, chì...) các chất màu (dẫn xuất của phtalein) vào cơ thể bị gan giữ lại rồi thải trừ nguyên vẹn qua mật. Vì thế người ta dùng chất màu như bromosulphophtalein (BSP), hồng Bengal để thăm dò chức phận gan. Nghiệm pháp BSP được tiến hành như sau: tiêm 5mg BSP/kg thể trọng theo đường tĩnh mạch cánh tay, 15 và 45 phút sau lấy máu ở cánh tay đối diện để định lượng BSP. Bình thường sau 15 phút BSP còn lại dưới 50% và sau 45 phút dưới 10%. Trong suy gan, tắc mật các chỉ số trên đều cao hơn.

2.3.2. Cơ chế biến đổi hoá học

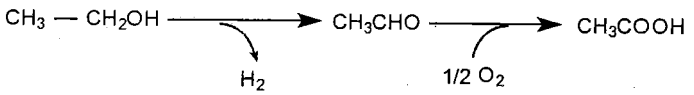
Quá trình khử độc bằng biến đổi hoá học có thể theo nhiều kiểu phản ứng khác nhau để tạo thành các chất ít độc hơn và đào thải ra ngoài:

- Các phản ứng tạo urê từ NH_3: khả năng này của gan rất lớn và xảy ra thường xuyên trong cơ thể. Khi loại bỏ trên 70% tổ chức gan mới ảnh hưởng tới sự tổng hợp urê. Cho nên nồng độ urê máu ít phản ánh chức năng gan, trừ trường hợp xơ gan nặng, urê máu mới giảm và NH_3 máu tăng.
- Phản ứng phân giải: gan có rất nhiều catalase để phân giải H_2O_2 thành H_2O và oxy nguyên tử.
- Khử độc bằng hydroxyl hoá: các chất có cấu trúc nhân thơm đều bị gan hydroxyl hoá nhân thơm để thành chất có phenol dễ đào thải hơn. Ví dụ như hexobarbital, phenyl butazon, imipramin...



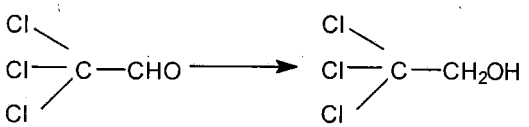
Hình 14.5. Sự hydroxyl hoá hexobarbital

• Khử độc bằng cách oxy hoá. Thí dụ alcol etylic bị oxy hoá dưới tác dụng của enzym alcol dehydrogenase thành aldehyd acetic rồi acid acetic.



Một số chất khác nhau cũng bị khử độc ở gan theo con đường này như alcol methylic, aldehyd benzylic, indol, paludrin. Thuốc chống sốt rét tổng hợp cũng được oxy hoá bằng cách đóng vòng tạo thành dihydrotriazin.

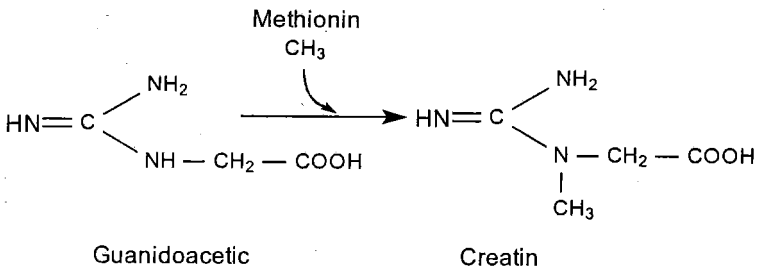
• Khử độc bằng cách khử oxy: các aldehyd và ceton có thể bị khử oxy thành các alcol, thí dụ cloral bị khử oxy thành tricloroethanol.



• Khử độc bằng cách methyl hóa:

Quá trình methyl hoá là quá trình phổ biến trong cơ thể.

Thí dụ acid guanidoacetic methyl hoá thành creatin.

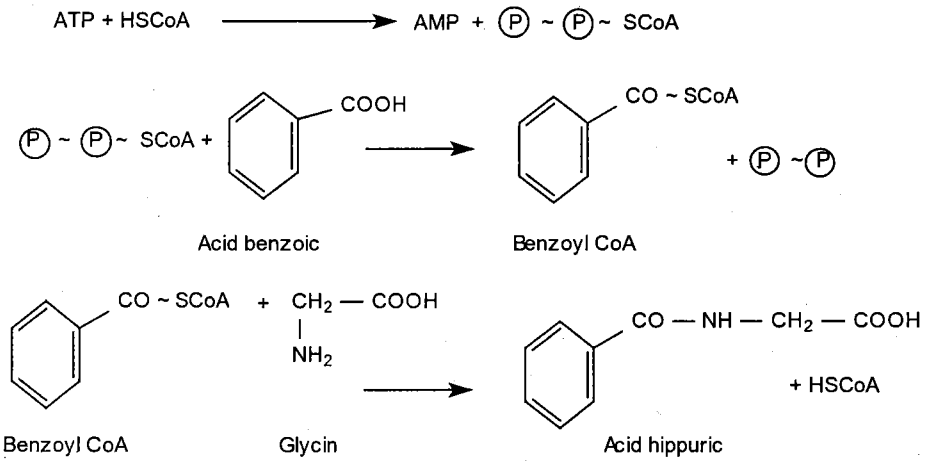


• Khử độc bằng cách liên hợp:

– Liên hợp với glycin: chất độc liên hợp với glycin bằng liên kết giữa nhóm - COOH của chất độc với nhóm - NH_2 của glycin. Thí dụ sự liên hợp giữa acid benzoic và glycin phải được hoạt hoá dưới dạng benzoyl CoA nhờ coenzym A và ATP: Ở dạng hoạt hoá, benzoyl CoA chứa liên kết giàu năng lượng đủ cung cấp cho phản ứng với liên hợp glycin tạo thành acid hippuric.

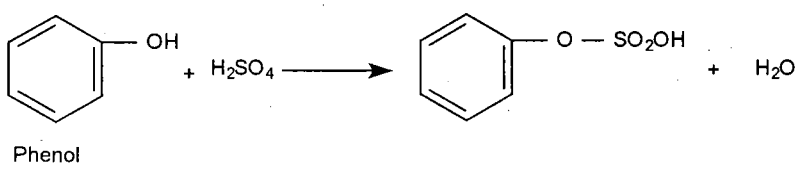
Người ta dùng phản ứng này để thăm dò chức năng gan, gọi là nghiệm pháp Quick (hay nghiệm pháp Hippuric). Cho bệnh nhân uống 6g natri benzoat trong 200ml nước, lấy nước tiểu sau 4 giờ, định lượng acid hippuric. Bình thường tổng lượng acid hippuric bài tiết ra trong 4 giờ là trên 3g. Khi gan bị suy, lượng acid hippuric bài tiết giảm. Thận cũng có khả năng tạo thành acid hippuric nên nghiệm pháp này đánh giá chức năng gan không chính xác bằng nghiệm pháp galactose niệu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 14.6. Cơ chế phản ứng liên hợp glycin

– Liên hợp với sulfonic: các chất độc phenol, indol sinh ra trong quá trình thối rữa ở ruột được hấp thụ một phần qua gan rồi đào thải ra nước tiểu ở dạng muối kiềm của este sulfuric..



Hình 14.7. Phản ứng liên hợp với sulfonic

Phản ứng xảy ra trước hết do ATP tác dụng với ion sulfat tạo ra adenosin 5' phospho sulfat (APS) nhờ enzym sulfurase và ion Mg^{++}.

$$ATP + Sulfat \rightleftharpoons APS + P \sim P$$

Sau đó APS tác dụng với phân tử ATP thứ hai nhờ enzym ATP kinase tạo 3'phospho adenosin 5' phospho sulfat (PAPS).

$$APS + ATP \rightleftharpoons PAPS + ADP$$

Cuối cùng enzym transferase (hoặc sulfokinase) xúc tác sự gắn ion sulfat với phenol và giải phóng acid 3' phospho adenylic (PAP)

$$ROH + PAPS \longrightarrow R\text{-}O\text{-}S + PAP$$

THƯ VIỆN HUST
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Liên hợp glucuronic: rất nhiều chất được đào thải ra ngoài dưới dạng liên hợp với acid glucuronic. Phenol, dẫn xuất phenolic, alcol thơm, alcaloid, steroid cũng đào thải dưới dạng liên hợp đó.

Bilirubin + 2 acid glucuronic ⟶ Bilirubin liên hợp

Phenol + acid glucuronic ⟶ Acid phenyl glucuronic

Hệ thống xúc tác sự liên hợp glucuronic có sự tham gia của acid uridin diphosphat glucuronic (UDPGA). UDPGA được tạo ra từ UTP tác dụng với glucose - 1 - phosphat để thành uridin diphosphat glucose (UDPG) và pyrophosphat. Sau đó, UDPG bị khử hydro ở C-1 và C - 6 nhờ enzym UDPG dehydrogenase có coenzym NAD để tạo thành UDPGA giải phóng $NADH_2$.

$$UTP + G1P \rightleftharpoons UDPG + P\sim P$$

$$UDPG + NAD \rightleftharpoons UDPGA + NADH_2$$

UDPGA tác dụng lên phenol hoặc alcol nhờ enzym glucuronyl transferase tạo nên liên hợp glucuronic và UDP.

$$UDPGA + R\text{-}OH \rightleftharpoons R\text{-}O\text{-}GA + UDP$$

Người ta thấy sự liên hợp glucuronic đi đôi với sự liên hợp sulfonic. Thí dụ: phenol có thể tạo este sulfonic, có thể tạo acid phenolglucuronic. Indoxyl có thể tạo indoxyl sulfat hoặc indoxyl glucuronic.

- Ngoài những cách khử độc ở trên, gan còn có cách khử độc như mở vòng, thuỷ phân, khử methyl, tạo thành sulfocyanua ...

Gan có nhiều chức phận quan trọng như tham gia một cách tích cực vào hầu hết các chuyển hoá của các chất. Vì vậy có nhiều xét nghiệm để đánh giá từng chức phận của gan, nhưng không có một xét nghiệm nào để đánh giá toàn bộ các chức phận của gan. Muốn đánh giá gan một cách toàn diện cần phải phối hợp nhiều xét nghiệm, nhiều nghiệm pháp.

3. Thăm dò hoá sinh hệ thống gan mật

Do hoạt động hoá sinh của gan rất phong phú nên rất nhiều thử nghiệm hoá sinh về gan đã được phát hiện. Các thử nghiệm đó khác nhau về độ nhạy và mức độ đặc hiệu. Sự lựa chọn các thử nghiệm tuỳ thuộc vào bản chất và giai đoạn phát triển của bệnh.

Gan có khả năng hồi phục rất lớn, vì vậy, các thử nghiệm kém nhạy có thể cho những kết quả bình thường ngay khi chỉ còn 20% nhu mô gan hoạt động.

Trong gan có hai loại tế bào khác nhau: tế bào Kupffer (tế bào trung mô) và tế bào gan. Hai loại tế bào đó có thể tổn thương một cách riêng biệt.

Để giúp cho việc sử dụng các xét nghiệm hoá sinh về gan được thuận lợi, thông thường người ta chia các xét nghiệm thành 4 hội chứng khác nhau.

3.1. Hội chứng suy tế bào gan

Sự tổng hợp các chất, khả năng khử độc của gan và tách các chất khỏi máu giảm. Do đó có thể xác định:

- Albumin huyết thanh
- Tỷ lệ cholesterol $\frac{\text{ESTE}}{\text{T.F}}$
- Fibrinogen huyết tương
- Tỷ lệ prothrombin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đồng thời có thể làm các nghiệm pháp thanh lọc ở gan, bao gồm các nghiệm pháp:

- BSP
- Acid hippuric
- Galactose niệu

3.2. Hội chứng huỷ tế bào

Sự huỷ tế bào dẫn đến sự giải thoát một số chất trong tế bào gan vào máu. Các thử nghiệm về hội chứng này bao gồm việc định lượng:

- Transminase huyết thanh (SGPT)
- OCT (ornitin carbamin tranferase) huyết thanh
- LDH (lactat dehydrogenase) huyết thanh
- Aldolase huyết thanh
- Sắt huyết thanh
- Bilirubin liên hợp và toàn phần huyết thanh, tìm bilirubin nước tiểu.
- Muối mật trong nước tiểu.

3.3. Hội chứng viêm gan trung mô

Bảng 14.2. *Biến đổi của các chỉ tiêu hoá sinh trong các hội chứng bệnh gan - mật*

Các thử nghiệm	Chất thử	Hội chứng suy tế bào	Hội chứng huỷ tế bào	Hội chứng viêm trung mô	Hội chứng tắc mật
Fibirinogen	Huyết tương	↓			
Prothrombin	"	↓			
Albumin	Huyết thanh	↓			↑
Cholesterol este/ toàn phần	"	↓			↑
BSP	"	+			
Acid hippuric	"	+			
Galactose	"	+	↑		
SGOT	"		↑		
SGPT	"		↑		
OCT	"		↑		
LDH	"		↑		
Aldolase	"		↑		
Sắt	"			+	
Các phản ứng lên bông	"			↑	
γ, β - globulin	"				↑
Phosphatase kiềm	"		↑		↑
Bilirubin toàn phần	"		↑		↑
Bilirubin liên hợp	Nước tiểu		↑		↑
Bilirubin liên hợp	Huyết thanh	↑			↑
Muối mật	Nước tiểu	↑			↑

(⊥: bình thường; ↑: tăng; ↓: giảm; +: dương tính)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU CHỈ DÙNG THAM KHẢO NỘI BỘ

Vai trò của tế bào trung mô (Kupffer) tham gia vào quá trình bệnh lý, làm tăng globulin huyết thanh. Các thử nghiệm về hội chứng này gồm: điện di protein huyết thanh (phát hiện sự tăng globulin nhất là γ và β globulin) và những thử nghiệm lên bông protein huyết thanh (phản ứng Gros, Mac-Lagan).

3.4. Hội chứng tắc mật

Tắc mật làm tăng trong máu những thành phần chính của mật. Các thử nghiệm về hội chứng này bao gồm:

- Định lượng bilirubin liên hợp huyết thanh và tìm bilirubin nước tiểu.
- Cholesterol huyết thanh
- Phosphatase kiềm huyết thanh
- Muối mật trong huyết thanh và nước tiểu.

Các thử nghiệm hoá sinh hệ thống gan mật rất phong phú, khác nhau rất nhiều về độ nhậy, về tính đặc hiệu... nên không có một thử nghiệm thăm dò hoàn chỉnh. Do đó, cần biết phối hợp các thử nghiệm hoá sinh, các thử nghiệm sinh học khác nhau và cần căn cứ vào các dấu hiệu lâm sàng để có thể xác định được một cách chính xác các bệnh của hệ thống gan mật.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chương 15

HÓA SINH THẬN VÀ NƯỚC TIỂU

MỤC TIÊU

1. *Trình bày khái quát được 4 chức năng của thận.*
2. *Giải thích được các cơ chế hình thành nước tiểu.*
3. *Nêu được tính chất lý hoá của nước tiểu.*
5. *Nêu được ý nghĩa lâm sàng của các chất bất thường trong nước tiểu.*
4. *Nêu được thành phần và ý nghĩa của nước tiểu.*
6. *Trình bày được nguyên tắc và ý nghĩa các thử nghiệm thăm dò chức năng của thận.*

Thận là cơ quan quan trọng nhất bài xuất các chất có hại (hay không cần thiết) trong quá trình chuyển hoá ra ngoài cơ thể dưới dạng nước tiểu. Thận đóng vài trò tích cực trong điều hoà thăng bằng nội môi thông qua điều hoà chuyển hoá muối nước, bài tiết một số hormon. Thận còn tham gia vào một số khâu trong chuyển hoá các chất. Qua đó thận góp phần điều hoà hoạt động của cơ thể. Khi chức năng thận bị suy giảm sẽ ảnh hưởng tới chất lượng của máu, nước tiểu và sự hoạt động của cơ thể.

Cơ thể người có hai thận, nặng khoảng 300g (chiếm khoảng 0,5% khối lượng cơ thể). Tuy chỉ chiếm một tỷ lệ rất bé của cơ thể nhưng lượng máu đi qua thận lại rất lớn. Trong 24 giờ lượng máu đi qua thận khoảng: 1.000 - 1.500 lít. Trong đó 90% máu để lọc và đào thải các chất, 10% để cung cấp năng lượng cho thận hoạt động. Điều đó chứng tỏ thận cần một năng lượng rất lớn để hoạt động.

Mỗi thận có khoảng 1 triệu đơn vị thận. Đơn vị thận (Néphron) là nơi thực hiện nhiệm vụ lọc và bài tiết các chất để tạo thành nước tiểu.

Mỗi Néphron bao gồm:

– Cầu thận: cầu thận gồm một bó mao động mạch hình cầu gọi là quản cầu thận, được bao bọc bằng túi hai màng gọi là bọc Bowman.

– Ống thận: các ống thận bao gồm ống lượn gần nối với bọc Bowman, quai Henle (Henlé) và ống lượn xa. Ống lượn xa nối với ống góp và cuối cùng là bể thận.

Động mạch thận đi vào mỗi thận, phân thành những nhánh nhỏ thâm nhập vào các bộ phận thận, các nhánh nhỏ tạo thành quản cầu thận (xem hình 15.1).

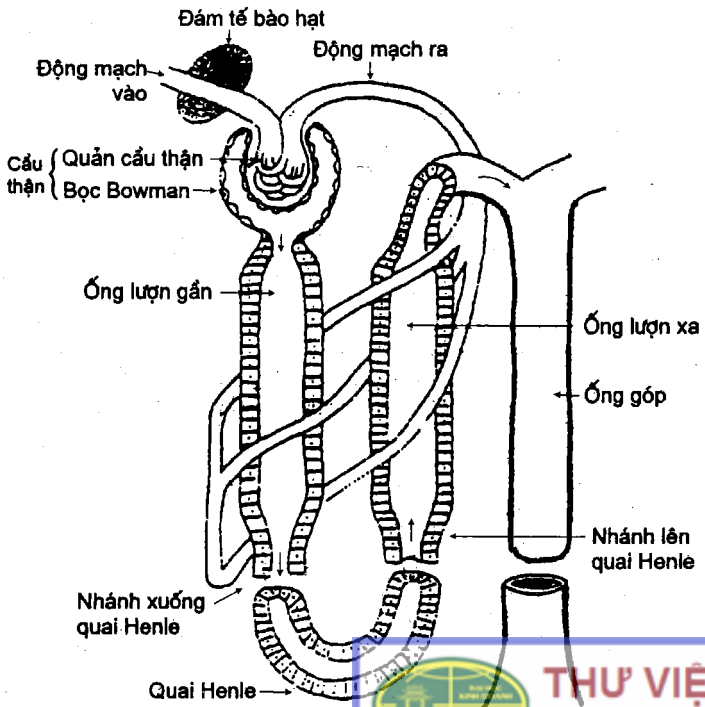
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1. Chức năng lọc và bài tiết của thận

Chức năng sinh lý của thận là bài tiết các chất cặn bã hay không cần thiết trong cơ thể ra ngoài bằng con đường nước tiểu. Sự hình thành nước tiểu là tổng hợp của các quá trình siêu lọc xảy ra ở cầu thận, quá trình tái hấp thụ và quá trình bài tiết xảy ra ở ống thận.

1.1. Quá trình siêu lọc

Lưu lượng máu qua thận rất lớn (khoảng 1200ml/phút), chiếm khoảng 20% lưu lượng máu toàn cơ thể. Lưu lượng máu thận lớn gấp 8 lần lưu lượng máu vành tim. Sự phân bố lưu lượng máu trong thận không đồng đều, ở vùng vỏ nhiều hơn vùng tuỷ, cho nên hoạt động của các Néphron vùng vỏ mạnh hơn vùng tuỷ. Khoảng 10% lưu lượng máu thận tham gia vào sự tạo thành nước tiểu ban đầu (khoảng 120 ml/phút). Có một cơ chế tự điều chỉnh lưu lượng máu thận nhằm duy trì áp suất động mạch trong khoảng 80-200mmHg. Tuần hoàn thận được điều hoà bởi các yếu tố thần kinh và nội tiết. Thần kinh giao cảm giải phóng adrenalin có tác dụng lên tiểu động mạch, làm thay đổi nhanh chóng lưu lượng máu thận. Nó kiểm soát một phần sự giải phóng renin của bộ phận cạnh cầu thận. Angiotensin II có tác dụng co mạch, có liên quan đến thay đổi bilan natri của cơ thể. Mọi hiện tượng giảm natri kéo theo sự co tiểu động mạch thận song song với sự tăng nồng độ angiotensin II huyết tương. Tác dụng này bị mất khi có một chất ức chế cạnh tranh hormon hoặc chất ức chế enzym chuyển angiotensin I thành angiotensin II.



THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 15.1. Cấu tạo đơn vị thận (Néphron)

Quá trình siêu lọc xảy ra ở cầu thận để lọc huyết tương thành nước tiểu ban đầu. Thành phần của nước tiểu ban đầu giống như của huyết tương, chỉ khác là không có protein có trọng lượng trên 70.000dt.

Sự tạo thành nước tiểu ban đầu phục thuộc hai yếu tố:

– Áp suất lọc:

Áp suất lọc (Pf) là hiệu số của áp suất thuỷ tĩnh trong quản cầu thận (Ph) và tổng áp suất keo thẩm thấu của máu (Po) với áp suất thuỷ tĩnh trong bọc Baoman (Pc).

$$Pf = Ph - (Po + Pc)$$

Bình thường Pf khoảng 25mm Hg.

Ph khoảng 75 mmHg (phụ thuộc vào huyết áp).

Po khoảng 30 mmHg (phụ thuộc vào áp suất thẩm thấu).

Pc khoảng 20 mmHg (phụ thuộc vào sự bài xuất nước tiểu)

– Sự thẩm thấu của màng mao động mạch cầu thận: màng cầu thận có các lỗ nhỏ đường kính 75 - 100 Å và chiếm 5-10% diện tích cầu thận, do đó sự thẩm thấu của cầu thận có chọn lọc, những phân tử nhỏ dưới 70.000 có thể chui qua được. Hầu hết protein có phân tử trên 70.000 không chui qua được. Hình dạng phân tử cũng ảnh hưởng đến sự lọc, những phân tử hình dài chui qua dễ dàng hơn phân tử hình cầu, các phân tử mang điện dương dễ chui qua hơn các phân tử mang điện âm.

1.2. Quá trình tái hấp thu

Quá trình tái hấp thu là quá trình liên tục xảy ra ở ống thận.

Tuỳ theo từng chất mà có mức độ tái hấp thu khác nhau. Ở các vị trí khác nhau của ống thận, khả năng tái hấp thu từng chất cũng khác nhau. Có nhiều mức độ tái hấp thu:

1.2.1. Tái hấp thu hoàn toàn

Glucose là chất được tái hấp thu hoàn toàn chủ yếu ở ống lượn gần. Cơ chế tái hấp thu glucose cần sự phosphoryl hoá nhờ ATP, khả năng tái hấp thu hoàn toàn glucose của ống thận chỉ thực hiện được khi đường huyết dưới 1,75g/l. Nồng độ 1,75g/l gọi là ngưỡng tái hấp thu của thận. Ở người bình thường khi đường huyết lớn hơn 1,75g/l đều có đường niệu là do tái hấp thu không hoàn toàn. Tuy nhiên cũng có một số người có ngưỡng tái hấp thu glucose thấp hơn 1,75g/l thì đường niệu xuất hiện ở mức đường huyết thấp hơn. Sự tái hấp thu glucose kèm theo sự tái hấp thu natri ở tế bào ống thận.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA CỨU NỘI BỘ

1.2.2. Tái hấp thu hầu hết

Rất nhiều chất được tái hấp thu hầu hết để đảm bảo sự cân bằng nội môi:

– Nước được tái hấp thu khoảng 99% chủ yếu ở ống lượn gần.

– Kali được tái hấp thu khoảng 98%.

- Phosphat được tái hấp thu khoảng 95%.
- Bicarbonat được tái hấp thu trên 90% chủ yếu ở ống lượn gần.
- Các acid amin cũng được tái hấp thu gần hết.

1.2.3. Tái hấp thu phần lớn

Na^+, Cl^- và nhiều muối khác được tái hấp thu phần lớn ở ống lượn gần.

Sự tái hấp thu Na^+ có liên quan đến tái hấp thu nước và glucose.

1.2.4. Tái hấp thu một phần

Một số chất chỉ được tái hấp thu một phần như: urê, urat, vitamin C... Chỉ được hấp thu dưới 50%.

1.2.5. Không tái hấp thu

Một số chất không được tái hấp thu ở ống thận như: inulin, mannitol, natri hyposulfid... Các chất này được dùng để nghiên cứu chức năng lọc của cầu thận.

1.2.6. Cơ chế của quá trình tái hấp thu

Tuỳ theo bản chất hoá học của từng chất mà có những cơ chế tái hấp thu khác nhau dẫn tới khả năng tái hấp thu của ống thận cũng khác nhau. Lượng tối đa của một chất được tái hấp thu trong một phút được gọi là độ tái hấp thu tối đa của ống thận đối với chất đó.

- Tái hấp thu nước ở ống lượn gần theo cơ chế thụ động trên nguyên tắc cân bằng áp suất thẩm thấu, nhưng ở ống lượn xa thì theo cơ chế chủ động.

- Sự tái hấp thụ Na^+ xảy ra theo cơ chế vận chuyển tích cực. Để duy trì sự trung hoà điện ở hai phía của màng tế bào đòi hỏi sự đi qua cùng chiều của một anion (Cl^-, HCO_3^-...) và chiều ngược lại của một cation (H^+, K^+...) cho nên sự tái hấp thụ Na^+ phụ thuộc nhiều yếu tố như nồng độ H^+, K^+, Cl^-, HCO_3^-, corticoid, aldosteron.. Corticoid của tuyến thượng thận và đặc biệt là aldosteron có tác dụng tăng cường tái hấp thu Na^+ và bài xuất K^+.

Sự tái hấp thu này có sự tham gia của ADH (antidiuretic chormon) và ATP...

- Cơ chế tái hấp thu tích cực xảy ra đối với glucose, acid amin, acid uric. Nếu hai chất khác nhau được tái hấp thu theo cùng một cơ chế thì lúc nồng độ của một chất tăng cao sẽ ngăn cản tái hấp thu chất kia.

- Sự tái hấp thu có thể xảy ra đối với một chất như glucose, phosphat hoặc phối hợp nhiều chất như các acid amin mặc dù nồng độ của chúng trong máu bình thường.

THƯ VIỆN HUBT

1.3. Quá trình bài tiết

Quá trình bài tiết là quá trình các chất từ huyết tương được tế bào ống thận bài tiết vào nước tiểu: K^+, acid uric, creatinin, H^+, NH_4^+... được bài tiết vào ống thận khi có nồng độ cao ở trong máu. Các chất được đưa vào cơ thể để điều trị hay chẩn đoán như: phenolsulphophtalein (PSP), acid p.aminohippuric (PAH), penicillin... cũng được bài tiết ở ống thận.

Tế bào ống lượn xa vận chuyển tích cực ion K^+ từ dịch quanh ống thận vào dịch ống thận để thay thế cho ion Na^+ được tái hấp thu. Như vậy sự trao đổi ngược chiều của Na^+ và K^+ cùng một cơ chế và được điều hoà bởi aldosteron. Chất này thúc đẩy sự trao đổi giữa ion Na^+ và K^+. Khi thiếu aldosteron cơ thể mất một lượng Na^+ rất lớn và ứ đọng K^+ do Na^+ ít được tái hấp thu và K^+ ít được bài tiết. Mặc dù ở ống lượn gần K^+ được tái hấp thu nhiều hơn Na^+ nhưng lại được bài tiết tích cực ở ống lượn xa cho nên trong nước tiểu vẫn chứa một lượng K^+ đáng kể ngay cả khi ion này không được đưa vào cơ thể. Ống thận còn bài tiết H^+, NH_4^+ theo một cơ chế tích cực để tham gia điều hoà thăng bằng acid - base.

Qua 3 quá trình: siêu lọc, tái hấp thu và bài tiết, nồng độ các chất trong nước tiểu càng tăng cao đặc biệt là các chất cặn bã, nước tiểu càng được cô đặc. Đó cũng là cơ chế cho sự thải trừ có chọn lọc của thận.

Rất nhiều chất có nồng độ trong nước tiểu cuối cùng cao hơn trong huyết tương nhiều lần. Áp suất thẩm thấu của nước tiểu cũng cao hơn, điều này ngược lại với cơ chế tái hấp thu nước thụ động. Cho nên ở những vị trí xa cầu thận, nước được tái hấp thu theo cơ chế tích cực, có sự tham gia của các hormon, ATP, enzym.

2. Chức năng điều hoà thăng bằng acid - base

Một trong những chức năng của thận là điều hoà thăng bằng acid - base nhờ cơ chế bài tiết ion H^+ và giữ base, chủ yếu là cation Na^+.

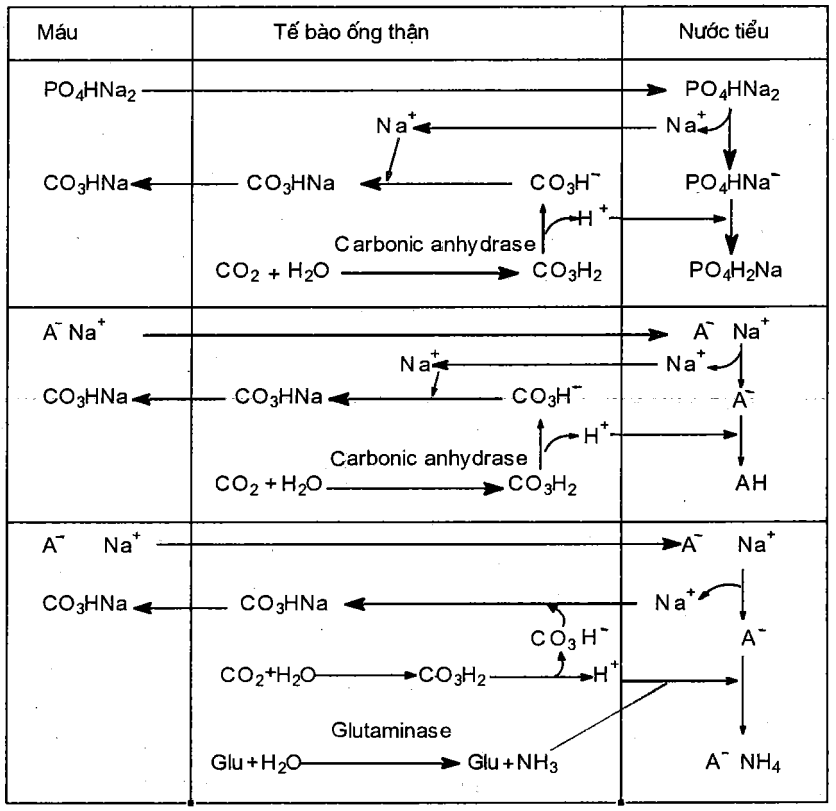
Máu động mạch có pH hằng định từ 7,38 - 7,42. Sự hằng định này bị thay đổi bởi sự sản sinh hàng ngày khoảng 1mEq/kg ion H^+. Thận là cơ quan độc nhất bài tiết sự thừa acid, do đó pH của nước tiểu bình thường bao giờ cũng thấp hơn so với pH máu. Tuy nhiên khả năng điều hoà của thận bắt đầu có hiệu lực sau vài giờ, không nhanh bằng các hệ đệm trong máu.

Có ba cơ chế chính của thận để điều hoà thăng bằng acid - base nhằm duy trì lượng bicarbonat có trong khu vực ngoài tế bào (cơ chế xảy ra trong nội tế bào chưa được biết) (hình 15.2).

– Thận tái hấp thụ bicarbonat: 90% bicarbonat tái hấp thu ở ống thận, còn lại ở quai Henle và ống lượn xa. Quá trình tái hấp thụ này bị ức chế bởi chất ức chế anhydrase carbonic, ví dụ: acetazolamid.

– Thận tái tạo lại bicarbonat bằng cách đào thải ion H^+ dưới dạng acid định lượng được. Ở người bình thường, độ acid này từ 10-30 mEq/24 giờ. Các phosphat diacid ($PO_4H_2^-$) có ý nghĩa đặc biệt trong quá trình này: trong trường hợp nhiễm acid, chỉ có dạng phosphat này có trong nước tiểu. Sự biến đổi của phosphat monoacid thành phosphat diacid kéo theo sự tái tạo lại ion bicarbonat.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 15.2. Vai trò của thận trong việc điều hoà thăng bằng acid - base

– Thận tái tạo lại bicarbonat bằng cách bài xuất amonium. Ở trong tế bào thận, sự sản sinh amoniac chủ yếu do thuỷ phân glutamin, amoniac khuếch tán thụ động trong nước tiểu ở ống thận. Sau khi gắn ion H^+, NH_3 biến thành ion NH_4^+. Đệm NH_3/NH_4^+ là đệm chủ yếu của nước tiểu. Cơ thể đào thải 30-50 mEq/24 giờ ion H^+ qua nước tiểu.

Như vậy, phần lớn bicarbonat lọc được tái hấp thụ ở ống lượn gần và không có sự thay đổi đáng kể của dịch lọc.

3. Chức năng nội tiết của thận

Ngoài những chức năng kể trên của thận ra thì thận còn có một chức năng nội tiết liên quan đến việc điều hoà sự hằng định nội môi, thăng bằng nước điện giải và huyết áp qua trục renin - angiotensin và aldosteron. Chức phận nội tiết của thận được biết đầy đủ. Dưới đây là những hệ thống mà hiện nay được biết nhiều hơn cả

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.1. Thận với hệ thống renin - angiotensin - aldosteron

Bộ phận bên cạnh cầu thận tổng hợp và bài tiết ra một enzym thuỷ phân protein gọi là renin có TLPT 40.000. Renin được đổ vào tĩnh mạch thận. Trong máu, renin tác dụng đặc hiệu lên một protein của máu, protein được tổng hợp từ gan và có tên là angiotensinogen.

3.1.1. Cơ chế tác dụng của renin

Renin cắt liên kết leucyl - leucyl của angiotensinogen, giải phóng một peptid có 10 acid amin gọi là angiotensin I. Angiotensin I không có hoạt động sinh học đặc biệt.

Một enzym khác của máu (enzym chuyển) cắt hai acid amin C tận: histidin và leucin của angiotensin I để tạo thành angiotensin II (là một peptid có tác dụng sinh học rất mạnh) làm:

- Co mạch và tăng huyết áp, tác dụng mạnh gấp 50 lần noradrenalin.
- Co cơ trơn và
- Tăng bài tiết aldosteron của vỏ thượng thận.

Angiotensin II có đời sống rất ngắn ngủi, nó cũng nhanh chóng được cắt ngắn một acid amin N đầu (acid aspactic) bởi aminopeptidase tạo thành angiotensin III. Angiotensin II và III có chất nhận ở màng tế bào vùng cầu của vỏ thượng thận chính chúng kiểm soát sự tổng hợp và bài tiết aldosteron.

Angiotensinogen (α globulin):

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser-R

↑ **Renin (thận)**

Angiotensin I (peptid có 10 acid amin):

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu

↑ **Enzym chuyển**

Angiotensin II (peptid có 8 acid amin):

1 2 3 4 5 6 7 8

Asp- Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

↑ **Aminopeptidase**

Angiotensin III (peptid có 7 acid amin):

2 3 4 5 6 7 8

Arg - Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

↑ Angiotensinase

Các sản phẩm không hoạt động:

3 4 5 6 7 8 3 4

Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe Val-Tyr

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình 15.3. Hoạt hoá và thoái hoá các angiotensin I, II và III

3.1.2. Cơ chế điều hoà bài xuất renin (hình 15.4)

– Sự bài tiết và giải phóng renin được điều hoà bởi 4 yếu tố:

+ Hệ thống thần kinh giao cảm cùng catecholamin điều hoà và giải phóng renin qua trung gian của chất cảm thụ beta adrenergic (giải phóng adrenalin).

+ Những thay đổi áp suất ở tiểu động mạch vào của cầu thận điều hoà bài tiết renin: huyết áp hạ làm tăng bài xuất renin.

+ Thay đổi nồng độ natri trong ống thận: sự tăng liều lượng Na^+ ở tế bào làm giảm bài tiết renin và ngược lại.

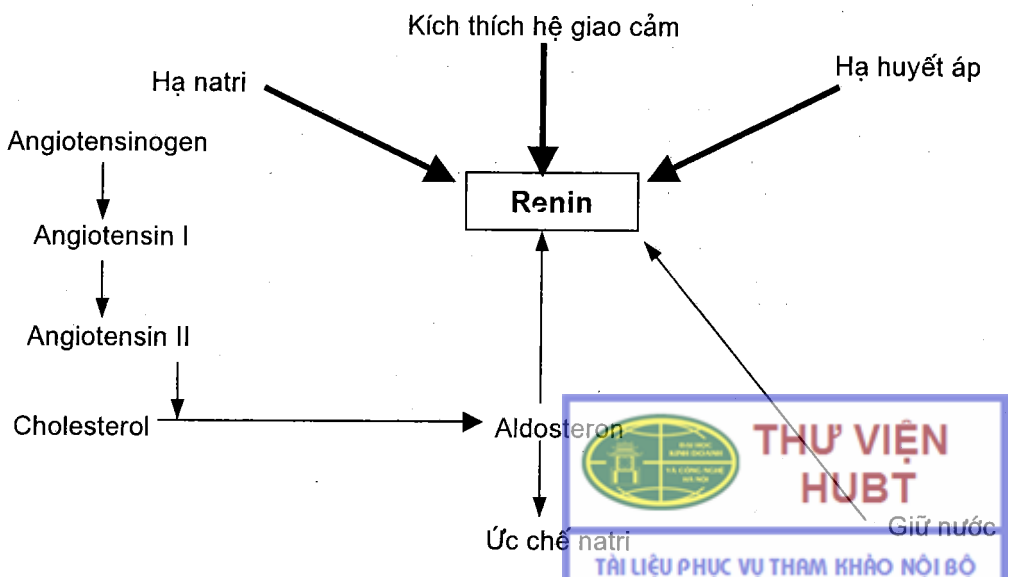
+ Angiotensin II ức chế ngược lại sự bài tiết renin. Hiện tượng ức chế ngược này có vai trò quan trọng trong điều hoà hệ thống renin - angiotensin.

– Aldosteron được điều hoà bởi 3 yếu tố: nồng độ natri, kali và ACTH (hình 15.5).

+ Natri: sự tổng hợp aldosteron tăng khi natri hạ, chủ yếu qua trung gian hệ thống renin - angiotensin. Natri máu hạ 100 mEq/l - tăng aldosteron bằng cách chuyển corticosteron thành aldosteron.

+ Kali: sự bài tiết aldosteron giảm khi kali hạ và ngược lại. Kali chỉ tác dụng ở vùng cầu, kích thích chuyển hoá cholesterol thành pregnenolon và hoạt hoá 11 beta hydrolase.

+ ACTH: tác dụng của ACTH lên aldosteron yếu hơn so với cortisol. ACTH làm tăng AMPv, chuyển cholesterol thành pregnenolon.

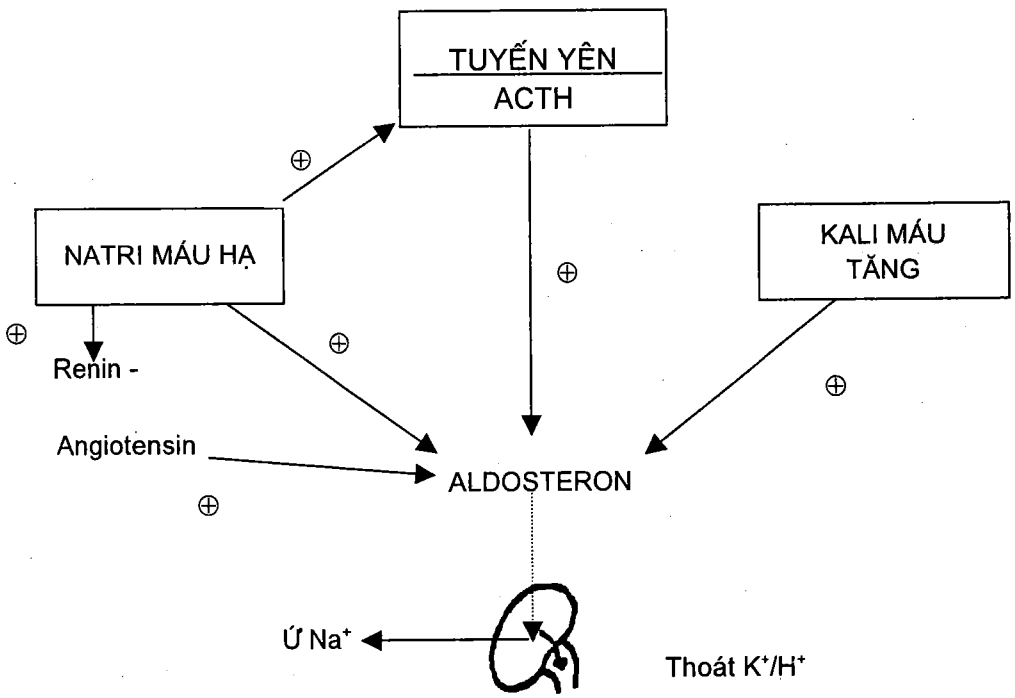


Hình 15.4. Cơ chế điều hoà bài xuất renin

3.2. Sự bài xuất chất tạo hồng cầu

Lượng Hb lưu thông phụ thuộc chủ yếu vào sự cung cấp oxy ở tế bào. Sự thiếu oxy ở tổ chức kích thích tạo hồng cầu. Vào năm 1950 người ta đã xác định được mối liên quan trực tiếp giữa tình trạng thiếu oxy và nồng độ một hormon mới trong huyết tương, chất tạo hồng cầu (erythropoietin-Ep).

Sự tổng hợp và vai trò của yếu tố tạo hồng cầu của thận (REF - renal erythropoietic factor).



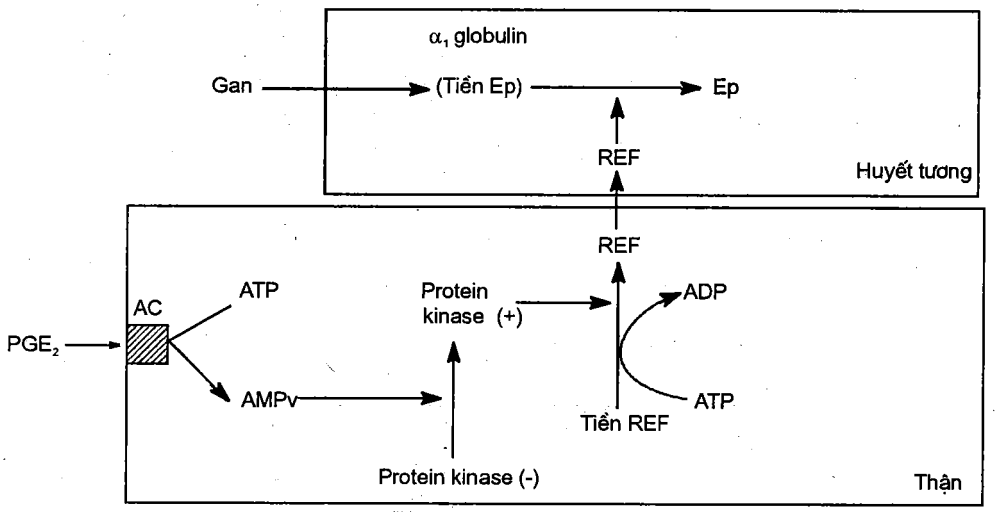
Hình 15.5. Điều hoà bài tiết aldosteron

Theo thuyết "yếu tố tạo hồng cầu của thận", tế bào cơ biểu mô của thận tổng hợp được yếu tố bản chất protein gọi là REF. REF chuyển α_1 globulin nguồn gốc gan của huyết tương là tiền erythropoietin thành erythropoietin hoạt động.

Thực tế, những tế bào giải phóng REF ban đầu tạo ra một phân tử protein không hoạt động (tức chất tiền REF). Tiền REF sau khi được phosphoryl hoá nhờ protein kinase tạo thành REF. Protein kinase lại phụ thuộc vào AMPv nội bào nhờ hoạt động của adenyl cyclase (AC), enzym này lại bị hoạt hoá bởi prostaglandin E_2 (PGE_2).

THƯ VIỆN HUBT
LƯU HÀNH NỘI BỘ
PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ngoài thận ra, tế bào Kupffer của gan cũng tổng hợp được REF.



Hình 15.6. Tổng hợp REF bởi những tế bào cơ biểu mô của bộ phận cạnh cầu thận

3.3. Thận và các prostaglandin (PG)

Tế bào kẽ của tuỷ tổng hợp ra các prostaglandin (trước đây gọi là medullin). Trong số các prostaglandin thì prostaglandin E_2 (PGE_2) được biết rõ hơn. PGE_2 có 3 tác dụng ở thận:

– Tác dụng lên sự tổng hợp REF.

– Tác dụng lên mạch thận, PGE_2 tăng lưu lượng máu thận.

– Tác dụng trực tiếp lên ống thận. PGE_2 có tác dụng làm đào thải natri và lợi tiểu nhẹ. Sự giảm tái hấp thụ Na^+ ở quai Henle có thể do giãn mạch tại chỗ.

4. Chức năng chuyển hoá các chất của thận

Cũng như các cơ quan khác, thận cũng tham gia vào chuyển hoá các chất nhưng đây không phải là vai trò chính. Thận tham gia chuyển hoá các chất chủ yếu là quá trình thoái hoá glucid, lipid để cung cấp năng lượng cho thận hoạt động. Sự hoạt động của thận rất mạnh và cần rất nhiều năng lượng cho nên trong tế bào thận rất giàu các enzym của chu trình Krebs, các enzym thoái hoá glucid theo con đường hexosediphosphat và các enzym thoái hoá acid béo.

Đặc biệt ở thận có nhiều enzym khử amin: L-aminoacid-dehyrogenase của glycin, L-glutamin và các transaminase. Nhờ các enzym trên mà có nhiều sản phẩm acid α-cetonic, chủ yếu là acid α-cetoglutaric, và NH_3. NH_3 ở thận được bài xuất vào nước tiểu dưới dạng NH_4^+.

Ngoài ra thận còn tham gia quá trình tổng hợp acid hippuric từ glycin và acid benzoic (nhưng yếu hơn ở gan) và khử nước của creatin tạo thành creatinin.

Thận là một cơ quan quan trọng điều hoà chuyển hoá muối nước.

THƯ VIỆN HUBT

5. Nước tiểu người

Nước tiểu là dịch bài xuất quan trọng nhất, nó chứa phần lớn những cặn bã của cơ thể. Những thay đổi về chỉ số hoá lý và đặc biệt những thay đổi về thành phần hoá học của nước tiểu phản ánh những rối loạn chuyển hoá bệnh lý của cơ thể. Từ xa xưa, các thầy thuốc đều đã có thể rút ra nhiều giá trị quý báu khi nghiên cứu về nước tiểu. Tuy nhiên, muốn cho việc xét nghiệm nước tiểu có giá trị, việc đầu tiên là lấy mẫu nước tiểu để làm xét nghiệm phải chính xác, đúng quy cách cho từng loại xét nghiệm (xem phần thực hành hoá sinh).

5.1. Tính chất chung của nước tiểu

5.1.1. Thể tích nước tiểu

Thể tích trung bình của nước tiểu 24h của một người lớn khoảng 1000-1400ml tương đương với thể tích từ 18-20ml cho mỗi kg thể trọng.

Nhiều nguyên nhân sinh lý và bệnh lý làm thay đổi thể tích nước tiểu:

- Về tuổi: trẻ em đái nhiều hơn người lớn, theo kg thể trọng.
- Thức ăn: lượng nước trong thức ăn (trung bình 2500ml/ngày ở người lớn) càng nhiều, nước tiểu càng nhiều.
- Lượng nước thoát ra bởi hơi thở, mồ hôi càng nhiều thì nước tiểu càng ít.
- Nhiệt độ và độ ẩm của không khí ở môi trường.

Trường hợp bệnh lý, thể tích nước tiểu có thể trên 2500/24h (ví dụ trong đái tháo đường, đái tháo nhạt) hoặc có thể dưới 750ml/24h, ví dụ trong các trường hợp thiểu niệu hoặc vô niệu do rối loạn bài tiết (viêm cầu thận, viêm ống thận, mất máu, bỏng nặng hoặc do rối loạn bài xuất xảy ra do ngăn chặn cơ học hoặc chức năng ở ống thận: sỏi...).

5.1.2. Màu của nước tiểu

Màu của nước tiểu người bình thường từ màu vàng nhạt tới màu hổ phách tuỳ thuộc vào lượng nước tiểu bài xuất và đậm độ của nước tiểu. Những sắc tố chính trong nước tiểu là urochrom, sản phẩm có nitơ. Ngoài ra, còn có những chất như:

- Urobilin sản phẩm oxy hoá của urobilinogen, chất này không màu. Urobilinogen là sản phẩm thoái hóa trung gian của hemoglobin, được đào thải trong nước tiểu, khi ra khí trời biến thành urobilin có màu vàng đậm.
- Dẫn xuất của indoxyl.
- Porphyrin là những sắc tố có 4 nhân pyrol, tiền thân của protoporphyrin. Các sắc tố trên có thể tăng trong một số trường hợp bệnh lý như: bệnh về gan, mật...

Nhiều thuốc được đào thải qua nước tiểu có màu khác nhau tuỳ theo màu của thuốc.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.1.3. Độ trong suốt

Nước tiểu bình thường (lấy trong điều kiện đúng quy cách) phải trong suốt. Sau một thời gian ngắn, để lắng sẽ thấy trong nước tiểu tạo thành những vẩn đục

như đám mây nhẹ lơ lửng ở giữa hoặc ở đáy ống đựng nước tiểu tuỳ thuộc vào tỷ trọng của nước tiểu. Những vẩn đục trên là những tế bào bình thường của nội mô các đường tiết niệu và các dạng nhầy (uromucoid). Nước tiểu bình thường sau khi bài xuất để trong lọ ở chỗ mát hay lạnh vẫn có thể bị tủa hoặc lắng xuống đáy lọ; đó có thể là cặn acid uric, muối urat natri hoặc phosphat. Có thể phân biệt dễ dàng hai loại muối này bằng cách đun nước tiểu gần sôi thì muối urat tan, nước tiểu trở thành trong. Cặn phosphat không tan trong môi trường trung tính và kiềm chỉ tan trong môi trường acid nhẹ (acid acetic).

5.1.4. Độ sánh

Nước tiểu bình thường có độ sánh cao hơn nước một chút. Trong một số trường hợp bệnh lý, tính chất của nước tiểu có thay đổi do sự có mặt của một số chất: mủ, máu, protein, mucoprotein, dưỡng chấp, mỡ... Những chất này làm cho nước tiểu hôi, sánh, có nhiều bọt.

5.1.5. Mùi

Nước tiểu bình thường có mùi đặc biệt. Trong một số trường hợp bệnh lý, nước tiểu có thể có mùi aceton (đái đường), mùi thối (sốt cao, ung thư thận, bàng quang).

5.1.6. Sức căng mặt ngoài

Sức căng mặt ngoài của nước tiểu bình thường bao giờ cũng thấp hơn nước, từ 64-69 dynes/cm^2 (sức căng mặt ngoài của nước là 72). Một số chất đưa vào cơ thể mục đích làm thuốc ví dụ: alcol, ête, chlorôfoc làm giảm sức căng mặt ngoài.

Trong một số trường hợp bệnh lý, muối mật có trong nước tiểu làm giảm sức căng mặt ngoài.

5.1.7. Tỷ trọng

Tỷ trọng nước tiểu bình thường ở nhiệt độ 15°C đo trên nước tiểu 24h ở người lớn có chế độ ăn hỗn hợp dao động từ 1.005 - 1.030. Trong một số trường hợp bệnh lý, ví dụ đái đường do tụy tỷ trọng nước tiểu tăng có khi tới 1.030 - 1.040.

5.1.8. Độ pH của nước tiểu

Nước tiểu bình thường có phản ứng hơi acid, pH từ 5-6 và thường là 5,8.

Nếu định lượng độ acid của nước tiểu bằng dung dịch kiềm, người ta thấy nước tiểu 24h của người bình thường tương ứng với 30-40 mEq ion hydrogen tức tương đương với 2g acid sulfuric.

Độ acid của nước tiểu là do sự có mặt của những acid ở dạng tự do (acid acetyl acetic, acid uric... phosphat acid ($PO_4H^-_2$) và sự bài xuất một lượng quan trọng những hợp chất acid dưới dạng muối amoni. Quá trình này gắn liền với vai trò của thận trong sự duy trì thăng bằng acid - base. Độ acid của nước tiểu thay đổi theo điều kiện sinh lý, nước tiểu càng acid khi bữa ăn càng giàu thịt. Nước tiểu ở chế độ ăn nhiều rau ít acid (có khi trung tính hoặc kiềm), sở dĩ như vậy do thức ăn thực vật có nhiều muối kiềm. Lao động mạnh về cơ, hoạt động thể thao làm tăng độ acid nước tiểu.

THƯ VIỆN HUBT

Trong những bệnh về dạ dày, độ acid nước tiểu thay đổi ngược lại với độ acid dịch vị: ở những bệnh nhân thừa acid dịch vị, nước tiểu sau bữa ăn có pH kiềm. Ở những bệnh nhân ung thư dạ dày, pH nước tiểu hầu như không thay đổi ở các thời điểm trong ngày.

Trong các trường hợp viêm bể thận, viêm bàng quang, pH nước tiểu thường rất kiềm do phản ứng lên men amoniac.

Ở bệnh nhân đái tháo đường nặng thể cetonic niệu, pH nước tiểu acid (do bài xuất acetyl - acetic và β-hydroxybutyric ở dạng tự do và dưới dạng muối amoni).

5.2. Thành phần các chất của nước tiểu bình thường

Làm bốc hơi nước tiểu 24h ở nhiệt độ 100-110°C tới trọng lượng không thay đổi được cặn khô của nước tiểu. Cặn khô này vào khoảng 55-57g/nước tiểu 24h, chứa các chất vô cơ và hữu cơ. Khi nung cặn khô ta được tro.

***Bảng 15.1.** Thành phần một số chất trong nước tiểu 24h*

Các thành phần vô cơ có khoảng 15-25g, trong đó:			
Natri (Na^+)	3-5g	Kẽm (Zn^{2+})	600mg
Kali (K^+)	2-4g	Iod (I^-)	50-250µg
Calci (Ca^{2+})	0,1-0,2g	Đồng (Cu^{2+})	100µg
Magnesi (Mg^{2+})	0,05-0,2g	Arsenic (As)	50 µg
Clo (Cl^-)	5-9g	Chì (Pb)	50 µg
Phosphat (PO_4^{3-})	2-2,5g		
Sulphat (SO_4^{2-})	0,7-3,5g		
Amoniac (NH_3)	0,3-1g		
Các thành phần hữu cơ có khoảng 30-45 g/24h, trong đó:			
Urê	25-30g	Acid oxalic	0,015-0,02g
Creatinin	1-1,8g	Acid citric	0,2-1,2g
Creatin	0,06-0,15g	Acid amin	0,15-0,2g
Acid uric	0,5-0,8g	Acid lactic	0,05-0,20g
Acid glucuronic	0,3-1,0g	Acid béo	0,05g
Acid hippuric	0,1-1,0g		

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ TRA CỨU NỘI BỘ

5.1.2. Các thành phần vô cơ

– Natri và kali: bình thường mỗi ngày có khoảng 3-5g natri và 2-4g kali được đào thải trong nước tiểu. Lượng ion Na^+ và K^+ đào thải trong nước tiểu thay đổi theo chế độ ăn, tình trạng cân bằng acid - base của cơ thể và được điều hoà bởi hormon vỏ thượng thận.

– Calci và magnesi:, phần lớn calci và magnesi được đào thải ở ruột. Bình thường có khoảng 15-30% calci và 20-50% magnesi trong toàn bộ lượng calci và megnesi đào thải được bài xuất trong nước tiểu. Trong một vài trạng thái bệnh lý, đặc biệt bệnh chuyển hoá xương lượng đó có thể thay đổi.

– Clo: lượng clo trong nước tiểu đứng thứ hai sau urê. Trong số những thành phần hoà tan clo có vào khoảng 5-9g trong ngày (xấp xỉ lượng clo trong thức ăn). Sự bài xuất clo có thể giảm trong sốt, các trạng thái viêm thận.

– Phosphat: phosphat được bài xuất trong phân và nước tiểu chủ yếu là dạng phosphat vô cơ. Phosphat acid ($H_2PO_4^-$) và phosphat base (HPO_4^{2-}) tạo thành hệ thống đệm chính của nước tiểu và quyết định phần lớn pH nước tiểu. Các muối phosphat ít tan (calci và magnesi phosphat) xuất hiện trong nước tiểu kiềm và thường là một thành phần của sỏi nước tiểu.

Bình thường mỗi ngày có khoảng 2,0-2,5g phosphat được bài xuất trong nước tiểu, lượng này thay đổi theo chế độ ăn.

– Sulfat: lượng sulfat có trong nước tiểu chủ yếu từ thoái hoá hoàn toàn acid amin chứa lưu huỳnh. Nó thay đổi theo lượng protein trong thức ăn. Có hai dạng lưu huỳnh chính trong nước tiểu bình thường là:

+ Sulfat vô cơ, tỷ lệ với protein trong thức ăn, là chỉ số của sự thoái hoá protein.

+ Sulfat liên hợp (khoảng 10%) chứa trong các thành phần hữu cơ của lưu huỳnh như các sulphon, cresol, indoxyl... Ngoài ra còn có một lượng nhỏ trong các acid amin tự do có lưu huỳnh.

– Lượng lưu huỳnh tổng cộng được bài xuất trong nước tiểu mỗi ngày tính theo SO_3 khoảng 0,7-3,5g.

– Amoniac: đào thải dưới dạng ion NH_4^+, chủ yếu do sự khuếch tán NH_3 từ tế bào ống thận ra và kết hợp với ion H^+. Lượng amoniac trong nước tiểu khoảng 0,3-1g mỗi ngày, phụ thuộc vào tình trạng huyết tương và nước tiểu.

– Bicarbonat (HCO_3^-): nếu phản ứng nước tiểu acid thì bicarbonat không thể có trong nước tiểu. Trường hợp bicarbonat trong máu cao hơn bình thường thì lượng thừa bicarbonat vẫn ở lại trong nước tiểu làm cho nước tiểu trở nên kiềm.

Bên cạnh những thành phần vô cơ kể trên, trong nước tiểu có thể có lượng nhỏ các nguyên tố vi lượng như kẽm, iod, arsenic, sắt, đồng, chì...

5.2.2. Các thành phần hữu cơ (có khoảng 30-40g/24h)

– Urê: được tổng hợp ở gan từ NH_3. Đây là thành phần chất tan chiếm tỷ lệ cao nhất của nước tiểu (bình thường 25-30g/ngày), lượng này phụ thuộc nhiều vào tỷ lệ protein trong thức ăn. Urê tăng trong một số bệnh có sự tăng thoái hoá protein như sốt, đái tháo đường... và có thể giảm do cơ thể nhiễm acid, trong viêm cầu thận hoặc ở giai đoạn nặng của suy gan. Trong viêm cầu thận, lượng urê nước tiểu thường tỷ lệ nghịch với lượng urê máu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Acid uric: là sản phẩm cuối cùng của sự thoái hoá các base purin, được đào thải qua nước tiểu mỗi ngày khoảng 0,5-0,8g. Sự bài xuất acid uric trong nước tiểu chịu ảnh hưởng của hormon vỏ thượng thận.

Nước tiểu có pH khoảng 5-6 hay cao hơn. Acid uric thường tồn tại chủ yếu dưới dạng natri và kali urat. Nếu pH nước tiểu có độ acid cao thì dạng acid tự do chiếm ưu thế (dạng này kém hoà tan có thể kết tủa). Urat, acid uric là một trong những biểu hiện khác nhau của bệnh Goutte, lượng acid uric đào thải trong nước tiểu có thể tăng.

– Creatin và creatinin: creatinin là sản phẩm của sự phân giải creatinphosphat của cơ và các cơ quan khác. Lượng creatinin trong nước tiểu rất hằng định trong những điều kiện sinh lý khác nhau. Lượng đó phụ thuộc chủ yếu vào khối lượng cơ (đối với nam giới bằng 20-26mg/kg/ngày, còn nữ giới hơi thấp hơn 14-22mg/kg/ngày).

Sự bài xuất creatinin giảm nhiều trong bệnh thận và tăng trong một số trạng thái bệnh lý khác: teo cơ kèm theo thoái hoá cơ, cường tuyến cận giáp.

Creatin có rất ít trong nước tiểu người trưởng thành (khoảng 0,06-0,15g/ngày). Lượng đó có thể tăng khi có thai, viêm cơ, cường giáp trạng; giảm khi suy giáp trạng.

– Acid hippuric: được tạo thành do sự kết hợp của acid benzoic và glycin ở gan, thận, rồi đào thải trong nước tiểu, trung bình 0,1-1,0g/ngày.

– Acid oxalic: một lượng rất nhỏ oxalat được bài xuất trong nước tiểu. Calcioxalat kết tủa trong nước tiểu acid. Oxalat là một thành phần quan trọng của sỏi đường niệu.

– Acid lactic: là sản phẩm cuối cùng của sự đường phân yếm khí. Nó có thể được chuyển trở lại glycogen hoặc glucose. Trong điều kiện bình thường, acid lactic nước tiểu khoảng 0,05-0,2g/ngày. Sự co cơ kéo dài quá mức, tình trạng thiếu oxy, lượng acid lactic đào thải tăng.

– Amylase: bình thường có lượng tương ứng với 16-32 đơn vị Vongemuth trong 1ml nước tiểu. Amylase tăng trong bệnh quai bị và viêm tụy cấp tính.

– Ngoài ra trong nước tiểu còn có một lượng nhỏ các acid amin, các vitamin: B_1, PP, C... Các hormon steroid và sản phẩm chuyển hoá của nó thường được đánh giá chung dưới dạng các chất 17 cetosteroid.

5.3. Những chất bất thường trong nước tiểu

Những chất bất thường trong nước tiểu là những chất chỉ xuất hiện trong nước tiểu của người có bệnh. Thực tế ở nước tiểu của người bình thường cũng có một lượng rất nhỏ các chất bất thường mà các phương pháp xét nghiệm thông thường không phát hiện được. Nhưng ở nước tiểu người bệnh các chất bất thường có lượng lớn hơn mà các xét nghiệm thông thường có thể phát hiện được.

THƯ VIỆN HUBT

5.3.1. Glucid

Nước tiểu bình thường bao giờ cũng có chất khử yếu, do sự có mặt của một lượng rất nhỏ các đường (ose): glucose, fructose, arabinose, ribose. Các ose thường

được bài xuất nhiều trong nước tiểu là glucose, vì vậy được gọi là glucose niệu. Glucose niệu thường liên quan đến sự tăng glucose máu, ví dụ trong đái đường tụy. Trong trường hợp này máu đưa vào dịch cầu thận một lượng glucose cao hơn khả năng tái hấp thụ của ống thận.

Cũng có nhiều trường hợp có glucose niệu không kèm theo tăng glucose máu do rối loạn hoặc thiểu năng quá trình tái hấp thụ ống thận.

Trong một số trường hợp bệnh lý cũng xuất hiện một số đường ose như fructose, galactose do rối loạn enzym bẩm sinh. Những trường hợp ăn quá nhiều đường cùng một lúc cũng gây glucose niệu.

5.3.2. Protein

Thuật ngữ protein niệu đúng ý nghĩa hơn và thay thế thuật ngữ albumin niệu vì thường có trong nước tiểu bệnh lý các thành phần protein giống như các thành phần protein của huyết tương.

Điều kiện sinh lý bình thường, nước tiểu người lớn có ít nhất 0,05g protein trong một lít. Sự có mặt của protein trong nước tiểu có thể do nhiều cơ chế. Người ta phân biệt protein niệu nguồn gốc cầu thận và protein niệu nguồn gốc ống thận:

– Protein niệu nguồn gốc cầu thận: có thể do sự tăng độ lọc hoặc do sự tăng độ khuếch tán.

+ Độ lọc tăng khi trong huyết tương có protein bất thường, có kích thước nhỏ hơn abumin huyết thanh (hemoglobin, chuỗi nhẹ của globulin trong u tuỷ....). Trong trường hợp này, cầu thận hoàn toàn bình thường và được gọi là protein niệu trên thận. Đặc biệt trong trường hợp tổn thương cầu thận, có sự tăng độ thẩm thấu của thận (viêm cầu thận, viêm thận nhiễm mỡ, v.v...).

+ Độ khuếch tán tăng khi nồng độ protein ở máu cầu thận tăng hoặc khi có sự ứ đọng lưu lượng cầu thận tiếp giáp ở màng lọc, ví dụ: protein niệu trong suy tim, tắc tĩnh mạch thận, người có thai, vv....

– Protein niệu do ống thận: ít gặp hơn do rối loạn tái hấp thụ protein đã được lọc bình thường bởi cầu thận (tổn thương bẩm sinh ống thận ở trẻ em, một số hội chứng thận ở trẻ, ngộ độc bởi kim loại nặng, v.v...

Cũng có protein niệu do viêm hoặc tổn thương đoạn dưới của đường tiết niệu, bàng quang hay niệu quản, protein niệu này gọi là protein niệu sau thận.

Về phương diện triệu chứng học: cần xác định tính chất liên tục (hay thường xuyên) hoặc không liên tục (gián đoạn) của protein niệu. Loại thứ nhất có tính chất bệnh lý; loại sau thường gắn liền với một rối loạn chức phận, ví dụ: protein niệu do gắng sức hoặc lao động cơ nặng, protein niệu do đứng lâu, protein niệu do vận mạch, rét, cảm động.

THƯ VIỆN HUBT

Một số trường hợp protein niệu liên tục thuần tuý do chức năng, ví dụ nhiễm khuẩn cấp, suy tim, tăng huyết áp, một số rối loạn chuyển hoá, v.v.... Nhưng phần lớn protein niệu liên tục là dấu hiệu của một bệnh về thận, nói chung là cầu thận, hãn hữu do ống thận và kẽ thận hoặc do tổn thương đường tiết niệu. Protein niệu có khi riêng rẽ, nhưng cũng có khi kèm theo huyết sắc tố và mủ. Trong một

số trường hợp cần phối hợp kèm theo xét nghiệm điện di protein sau khi cô đặc nước tiểu. Bằng kết quả của điện di protein niệu, người ta phân làm 4 loại protein niệu bệnh lý (Debray-Sach):

– Protein niệu toàn phần, có mặt tất cả các thành phần protein huyết thanh (viêm cầu thận nặng).

– Protein niệu chọn lọc, chủ yếu có thành phần albumin huyết thanh và β-globulin (siderophilin) trong hội chứng thận có tổn thương nhỏ ở cầu thận.

– Globulin niệu chọn lọc, chủ yếu có thành phần α_2 và β globulin, tỷ lệ phần albumin huyết thanh tương đối thấp. Protein niệu dạng này thường do nguồn gốc ống thận (viêm ống thận kẽ cấp, viêm ống thận bẩm sinh, bệnh Wilson, galactose niệu).

Protein niệu Bence - Jones, đặc trưng bởi sự có mặt β, γ globulin có dính liền hoặc không có albumin huyết thanh. Protein Bence Jones còn được gọi là protein nhiệt tan vì nó chỉ kết tủa ở 60-70°C, thường gặp trong đa u tuỷ xương.

5.3.3. Chất cetonic

Nước tiểu bình thường chứa khoảng vài mg acid acetyl acetic/1lít và vài trăm mg acid β-hydroxybutyric. Các chất cetonic trong nước tiểu tăng trong các rối loạn chuyển hoá glucid (đái tháo đường), đói, tăng chuyển hoá lipid, sau một số trường hợp dùng thuốc mê.

5.3.4. Sắc tố mật - muối mật

Những thành phần của mật như bilirubin và muối mật lưu thông trong huyết tương và được đào thải bởi thận trong một số trường hợp tổn thương gan, tổn thương đường mật (nhất là trong hoàng đảm do viêm gan, hoàng đảm do tắc mật). Bilirubin trong nước tiểu là bilirubin liên hợp (bilirubin trực tiếp).

Tuy nhiên trong rối loạn chức năng hoặc có tổn thương ở gan, nước tiểu cũng có một lượng tăng urobilinogen tạo thành từ ruột do gan không có khả năng giữ lại được.

5.3.5. Máu và Hb

Nước tiểu có thể có máu và Hb. Trường hợp nước tiểu chứa huyết sắc tố đơn thuần (trong hoàng đảm do tiêu huyết, trong sốt rét, bỏng nặng v.v...). Trong trường hợp tổn thương niệu đạo, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư thận, lao thận, sỏi thận, sỏi bàng quang thì có máu trong nước tiểu.

5.3.6. Porphyrin

Người ta gọi rối loạn chuyển hoá porphyrin (porphyrie) khi porphyrin hoặc một số dẫn xuất của porphyrin có nhiều ở một số tổ chức và được đào thải nhiều qua nước tiểu (trường hợp này gọi là porphyrin niệu) hoặc phân. Những triệu chứng lâm sàng của rối loạn porphyrin chủ yếu gồm 3 hội chứng ở bụng (đau), thần kinh (liệt) và da (có sắc tố). Người trưởng thành bình thường bài xuất mỗi ngày khoảng 50-200mg porphyrin (coproporphyrin I và II).

THƯ VIỆN HUBT

Rối loạn chuyển hoá porphyrin được chia thành hai loại:

– Rối loạn porphyrin triệu chứng hay thứ phát do có sự ức chế tổng hợp hem bởi những chất độc, do đó có sự ứ đọng những sản phẩm đầu của quá trình tổng hợp (trường hợp này cũng được gọi là porphyrin niệu vì porphyrin được bài xuất nhiều ở nước tiểu).

– Rối loạn porphyrin vô căn do rối loạn chuyển hoá porphyrin, rối loạn di truyền một enzym của quá trình tổng hợp porphyrin xảy ra ở tuỷ xương hoặc gan.

5.3.7. Dưỡng chấp

Dưỡng chấp là các thành phần của dịch bạch huyết tràn vào nước tiểu khi mạch bạch huyết vùng thận hay bàng quang bị vỡ. Dưỡng chấp làm cho nước tiểu bị đục trắng như nước vo gạo do có nhiều lipid.

Dưỡng chấp thường có trong nước tiểu của người bị giun chỉ.

5.3.8. Cặn và sỏi

Cặn là phần lắng xuống của nước tiểu mới bài xuất, thường là acid uric và các muối urat, carbonat, oxalat, phosphat calci hay kim loại kiềm thổ khác. Đôi khi gặp cặn là acid amin cystin, tyrosin, leucin...

Các cặn trên lắng kết lâu ngày gây nên sỏi. Tuỳ theo vị trí lắng có thể gây nên sỏi thận, sỏi bàng quang. Hay gặp nhất là sỏi calci oxalat (80%) và sỏi acid uric hay urat (10%).

Một số cặn lắng trong ống thận một thời gian tạo nên trụ niệu. Tuỳ theo chất lắng đọng mà có các loại trụ niệu khác nhau: trụ hạt, chất lắng là protein; trụ trong, chất lắng là chất nhầy, lipid; trụ tế bào do các tế bào thận kết lắng. Trụ niệu xuất hiện sau khi ống thận bị tổn thương bắt đầu hồi phục.

6. Thử nghiệm thăm dò chức năng thận

Các xét nghiệm nước tiểu và máu có thể sơ bộ đánh giá chức năng thận mà rất nhiều phòng xét nghiệm có thể thực hiện được.

Các xét nghiệm protein niệu, soi cặn để xác định hồng cầu và trụ hạt là xét nghiệm rất đơn giản để nghĩ đến thận có bệnh lý hay không. Sự tăng nồng độ ure hay creatinin máu là một dấu hiệu hoá sinh để nghi vấn chức năng lọc của thận. Theo dõi biến đổi urê hay creatinin máu còn có thể tiên lượng sự tiến triển của bệnh đặc biệt là viêm thận mạn tính.

Tuy nhiên các xét nghiệm trên không hoàn toàn đặc hiệu cho thận mà chúng còn phụ thuộc nhiều ảnh hưởng của bệnh khác và chế độ thức ăn, dùng thuốc.

Để đánh giá chức năng thận một cách chính xác và cụ thể cần phải tiến hành các nghiệm pháp thăm dò từng chức năng trình bày dưới đây.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.1. Độ thanh thải

Độ thanh thải (clearance) của một chất là số ml huyết tương được lọc hết chất đó qua nước tiểu trong thời gian một phút. Thực tế thể tích trên là thể tích ảo bởi vì một lít máu qua thận để lọc chỉ tạo được 120ml nước tiểu ban đầu, cho nên không có một chất nào được thải hết khỏi huyết tương khi qua cầu thận.

Cách tính độ thanh thải:

$$C = \frac{u.v}{P}$$

C: Độ thanh thải, tính theo đơn vị ml/phút

u: Nồng độ chất trong nước tiểu

P: Nồng độ trung bình của chất đó trong máu (được đo vài lần trong thời gian lấy nước tiểu)

v: Số ml nước tiểu đào thải trong một phút.

Đối với người bình thường mỗi chất đều có độ thanh thải riêng.

– Những chất được lọc qua cầu thận, không bị tái hấp thu và không được bài tiết thêm ở ống thận có độ thanh thải khoảng 120ml/phút. Các chất này thường là các chất ngoại lai đưa vào cơ thể để điều trị hay chẩn đoán, ví dụ như: inulin (một polysaccharid) không bị chuyển hóa ở thận hay mannitol cũng không bị chuyển hoá trong cơ thể. Độ thanh thải của inulin hay mannitol phản ánh độ lọc của cầu thận.

– Những chất được lọc qua cầu thận bị tái hấp thu và không được bài tiết thêm có độ thanh thải dưới 120ml/phút. Hiện nay creatinin được dùng phổ biến nhất bởi vì creatinin ít bị tái hấp thu và bài tiết thêm.

Bình thường độ thanh thải creatinin 75-120ml/phút tuỳ theo tuổi và trọng lượng cơ thể. Độ thanh thải < 75ml/phút mới được đánh giá là chức năng lọc của cầu thận kém.

Creatinin còn là một chỉ số có ý nghĩa rất lớn trong sinh dược học và dược lâm sàng.

Khả năng lọc của thận ảnh hưởng rất lớn đến sự thải trừ của thuốc, quyết định thời gian duy trì nồng độ hiệu lực của thuốc trong máu cho nên tuỳ theo chức năng lọc của cầu thận mà chỉ định liều lượng và cách dùng của thuốc khác nhau.

Ngoài ra có thể xác định độ thanh thải của PAH (para amino hippuric) để đo lưu lượng máu thận bởi vì PAH vừa được lọc qua cầu thận, vừa được bài tiết thêm ở ống thận. Bình thường độ thanh thải của PAH từ 600-700ml/phút. Độ thanh thải dưới 500ml/phút trong các trường hợp lưu lượng máu qua thận kém như: tổn thương cầu thận, ống thận, nghẽn động mạch thận.

6.2. Nghiệm pháp Zimnisky (nghiệm pháp 8 cốc)

Nghiệm pháp Zimnisky dùng để đánh giá khả năng thích nghi của thận theo trạng thái sinh hoạt của cơ thể. Đó là khả năng thải nhiều nước tiểu khi cơ thể ăn nhiều, uống nhiều, hoạt động nhiều của người bình thường.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nghiệm pháp được tiến hành bằng cách lấy nước tiểu của bệnh nhân sinh hoạt bình thường từ 6 giờ sáng ngày hôm trước đến 6 giờ sáng ngày hôm sau và nước tiểu trong 3 giờ được lấy thành một mẫu, đo thể tích từng mẫu (và đo tỷ trọng nếu có điều kiện). Kết quả những mẫu ban ngày (ăn uống nhiều và hoạt

động mạnh) có thể tích lớn hơn nhưng mẫu ban đêm (nghỉ ngơi và không ăn uống). Nếu sự khác nhau trên là không đáng kể thì thận thích nghi kém, đặc biệt trong viêm thận mạn tính, suy thận.

6.3. Nghiệm pháp PSP (phenolsulphophtalein)

Nghiệm pháp PSP dùng để thăm dò chức năng bài tiết của ống thận nhưng vì không đặc hiệu cho nên ngày càng ít dùng.

Ngoài ra ở các cơ sở chuyên khoa có thể dùng các thăm dò phức tạp hơn như:

- Thăm dò điều hoà acid - base của thận
- Định lượng hoạt độ renin huyết tương.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1- Trường Đại học Dược Hà Nội - Bộ môn Hoá sinh. Vi sinh. Hoá sinh 1 (Lý thuyết hoá sinh cấu trúc). Trường Đại học Dược Hà Nội, 1996.

2- Trường Đại học Dược Hà Nội - Bộ môn Hoá sinh. Vi sinh. Hoá sinh 2 (Lý thuyết hoá sinh chuyển hoá và lâm sàng). Trường Đại học Dược Hà Nội, 1996.

3- Bộ môn Hoá sinh - Trường Đại học Y Hà Nội. Hoá sinh. NXB Y học, 1991.

4- Bộ môn Hoá sinh - Học viện Quân y. Hoá sinh tập II. NXB Quân đội, 1988.

5- Phạm Thị Trân Châu, Trần Thị Áng - Đại học Sư phạm. Hoá sinh học. NXB Giáo dục, 1992.

6- Nguyễn Hữu Chấn. Enzym và xúc tác sinh học. NXB Y học Hà Nội, 1996.

7- Nguyễn Xuân Thắng. Hoá sinh dược lý phân tử. NXB Khoa học kỹ thuật, 2003.

8- Harper's Biochemistry. 21thedition. A lange medical book. Appleton - Lange, 1988.

9- Meisenberg, G; Simmons, W, H. Principles of medical Biochemistry. Mosby publisher, 1998.

10- Lehninger, A, L; Nelson, D, L; Cox, M, M. Principles of Biochemistry. Second edition, World publisher, New York, 1993.

11- Stryer, L: Biochemistry. 4thedition, W.H. Freeman and company, San Francisco, 1995.

12- Benjamin Lewin. Genes. Oxford University press. Oxford-New York, Tokyo, 1997.

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

HOÁ SINH HỌC

Chịu trách nhiệm xuất bản

HOÀNG TRỌNG QUANG

Biên tập viên: BS. ĐINH THỊ THU
Sửa bản can: BS. ĐINH THỊ THU
Trình bày bìa: CHU HÙNG
Kỹ thuật vi tính: NGÔ MINH CƯỜNG

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

THƯ VIỆN
HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

In 500 cuốn, khổ 19 x 27 cm, tại Nhà xuất bản Y học .
Giấy phép xuất bản số: 22 – 2007/CXB/735 – 151/YH.
In xong và nộp lưu chiểu Quý III năm 2007.