



APPROVED

số trang -6

Lời giới thiệu

Lời nói đầu

Mục lục

Giới thiệu môn học Hóa sinh

PHẦN I: CẤU TẠO CHẤT

Chương 1. Hóa học glucid

1. Monosaccarid
2. Oligosaccarid
3. Polysaccarid

Chương 2. Hóa học lipid

1. Thành phần cấu tạo của lipid
2. Lipid thuần
3. Lipid tạp

Chương 3. Hóa học acid amin, protein và hemoglobin

1. Acid amin
2. Peptid
3. Protein
4. Hemoglobin
5. Myoglobin

Chương 4. Hóa học acid nucleic

1. Thành phần hóa học của acid nucleic
2. Cấu trúc phân tử DNA
3. Cấu trúc phân tử RNA

Chương 5. Enzym

1. Cách gọi tên và phân loại enzym

MỤC LỤC

Lời giới thiệu	3
Lời nói đầu	5
Mục lục	7
Giới thiệu môn học Hóa sinh	11
PHẦN I: CẤU TẠO CHẤT	
Chương 1. Hóa học glucid	
1. Monosaccarid	17
2. Oligosaccarid	17
3. Polysaccarid	17
Chương 2. Hóa học lipid	
1. Thành phần cấu tạo của lipid	21
2. Lipid thuần	22
3. Lipid tạp	26
Chương 3. Hóa học acid amin, protein và hemoglobin	
1. Acid amin	26
2. Peptid	30
3. Protein	31
4. Hemoglobin	37
5. Myoglobin	52
Chương 4. Hóa học acid nucleic	
1. Thành phần hóa học của acid nucleic	55
2. Cấu trúc phân tử DNA	58
3. Cấu trúc phân tử RNA	60
Chương 5. Enzym	
1. Cách gọi tên và phân loại enzym	62
Nguyễn Nghiêm Luật	
Lời giới thiệu	17
Lời nói đầu	17
Mục lục	17
Giới thiệu môn học Hóa sinh	17
PHẦN I: CẤU TẠO CHẤT	
Chương 1. Hóa học glucid	
1. Monosaccarid	17
2. Oligosaccarid	17
3. Polysaccarid	17
Chương 2. Hóa học lipid	
1. Thành phần cấu tạo của lipid	21
2. Lipid thuần	22
3. Lipid tạp	26
Chương 3. Hóa học acid amin, protein và hemoglobin	
1. Acid amin	26
2. Peptid	30
3. Protein	31
4. Hemoglobin	37
5. Myoglobin	52
Chương 4. Hóa học acid nucleic	
1. Thành phần hóa học của acid nucleic	55
2. Cấu trúc phân tử DNA	58
3. Cấu trúc phân tử RNA	60
Chương 5. Enzym	
1. Cách gọi tên và phân loại enzym	62
Tạ Thành Văn	
Lời giới thiệu	42
Lời nói đầu	42
Mục lục	43
Giới thiệu môn học Hóa sinh	43
PHẦN I: CẤU TẠO CHẤT	
Chương 1. Hóa học glucid	
1. Monosaccarid	49
2. Oligosaccarid	49
3. Polysaccarid	49
Chương 2. Hóa học lipid	
1. Thành phần cấu tạo của lipid	52
2. Lipid thuần	52
3. Lipid tạp	52
Chương 3. Hóa học acid amin, protein và hemoglobin	
1. Acid amin	55
2. Peptid	58
3. Protein	60
4. Hemoglobin	62
5. Myoglobin	62
Chương 4. Hóa học acid nucleic	
1. Thành phần hóa học của acid nucleic	63
2. Cấu trúc phân tử DNA	63
3. Cấu trúc phân tử RNA	63
Chương 5. Enzym	
1. Cách gọi tên và phân loại enzym	63

2. Cấu trúc phân tử enzym	66
3. Cấu trúc và chức năng của coenzym	70
4. Cơ chế xúc tác của enzym	74
5. Động học enzym	76
6. Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt động của enzym	79
Chương 6. Năng lượng sinh học	84
<i>Phạm Thị Hiền Ngọc</i>	
1. Bản chất của sự hô hấp tế bào	86
2. Sự phosphoryl - oxy hóa	95
3. Chu trình acid citric	97
PHẦN II: CHUYỂN HÓA CHẤT	102
Chương 7. Chuyển hóa glucid	102
<i>Hoàng Thị Bích Ngọc</i>	
1. Sự thoái hóa của glucose	102
2. Sự tổng hợp glucose	113
3. Chuyển hóa glycogen	117
4. Điều hòa chuyển hóa glucid	120
5. Rối loạn chuyển hóa glucid	120
Chương 8. Chuyển hóa lipid và lipoprotein	126
<i>Nguyễn Thị Hà</i>	
1. Thoái hóa của lipid ở tế bào	126
2. Tổng hợp lipid ở tế bào	136
3. Chuyển hóa cholesterol	143
4. Lipoprotein-dạng lipid vận chuyển	144
Chương 9. Chuyển hóa acid amin	147
<i>Đỗ Thị Thu</i>	
1. Sự thuỷ phân protein thành acid amin	147
2. Sự thoái hóa acid amin	149
3. Sự tổng hợp các acid amin	157
4. Bệnh lý acid amin	161
Chương 10. Chuyển hóa hemoglobin	163
<i>Đỗ Thị Thu</i>	
1. Sự thoái hóa hemoglobin và ý nghĩa lâm sàng	163
2. Sự tổng hợp hemoglobin	167

Chương 11. Chuyển hóa acid nucleic	170
<i>Tạ Thành Văn</i>	
1. Chuyển hóa nucleotid	170
2. Chuyển hóa acid nucleic	179
Chương 12. Sinh tổng hợp protein	189
<i>Phạm Thiện Ngọc</i>	
1. Sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ	189
2. Sự sinh tổng hợp ở tế bào nhân thực	196
3. Sự hoàn thiện chuỗi protein sau phiên mã	197
4. Điều hòa sinh tổng hợp protein	197
Chương 13. Hóa sinh màng tế bào	203
<i>Nguyễn Thị Hà</i>	
1. Cấu trúc của màng tế bào	203
2. Sự vận chuyển các chất qua màng bào tương tế bào	210
Chương 14. Hóa sinh hormon	222
<i>Phạm Thiện Ngọc</i>	
1. Phân loại hormon	224
2. Cơ chế tác dụng của hormon	225
3. Những thông tin thứ hai	228
4. Những hormon protein, polypeptid	233
5. Hormon là dẫn xuất của acid amin	239
6. Các hormon steroid	244
PHẦN III: HÓA SINH MÔ VÀ CƠ QUAN	250
Chương 15. Sự trao đổi muối-nước	250
<i>Đỗ Thị Thu</i>	
1. Nước trong cơ thể	250
2. Các chất vô cơ	253
3. Sự trao đổi muối-nước	258
4. Điều hòa trao đổi muối-nước	260
5. Rối loạn nước - điện giải	262
Chương 16. Khí máu và sự thăng bằng acid – base	263
<i>Nguyễn Nghiêm Luật</i>	
1. Sự vận chuyển khí	263
2. Sự thăng bằng acid-base	266

3. Rối loạn thăng bằng acid-base	272
Chương 17. Hóa sinh gan	276
<i>Phạm Thiện Ngọc</i>	
1. Thành phần hóa học của nhu mô gan	276
2. Các chức năng chuyển hóa glucid, lipid và protein của gan	277
3. Chức năng tạo mật	279
4. Chức năng khử độc	281
5. Một số xét nghiệm hóa sinh về gan	285
Chương 18. Hóa sinh thận và nước tiểu	290
<i>Hoàng Thị Bích Ngọc</i>	
1. Thận	290
2. Nước tiểu	300
Chương 19. Hóa sinh máu	305
<i>Tạ Thành Văn</i>	
1. Các chức năng sinh lý của máu	305
2. Tính chất lý hóa của máu	306
3. Thành phần của máu	307
Chương 20. Hóa sinh cơ	318
<i>Nguyễn Nghiêm Luật</i>	
1. Cấu trúc của cơ vân	318
2. Sự co cơ vân	321
3. Sự co cơ trơn	325
4. Sự vận động của các tế bào khác	326
Chương 21. Hóa sinh thần kinh	328
<i>Nguyễn Nghiêm Luật</i>	
1. Chuyển hóa các chất trong mô thần kinh	328
2. Sự dẫn truyền xung động thần kinh qua synap	330
3. Các chất dẫn truyền thần kinh	333
Chương 22. Hóa sinh các dịch sinh vật	341
<i>Hoàng Thị Bích Ngọc</i>	
1. Dịch não tủy	341
2. Sữa	345
3. Dịch vị	347
4. Bạch huyết	349
Tài liệu tham khảo	350

GIỚI THIỆU MÔN HỌC HÓA SINH

1. ĐỊNH NGHĨA VÀ MỤC TIÊU CỦA MÔN HỌC HÓA SINH

Hóa sinh là môn học nghiên cứu về cơ sở phân tử của sự sống, nghĩa là nghiên cứu các chất hóa học cấu tạo nên cơ thể sống và sự chuyển hóa của chúng trong cơ thể sống.

Mục tiêu của chương trình giảng dạy Hóa sinh đối với sinh viên hệ đa khoa của Trường Đại học Y là để sinh viên có thể trình bày được những kiến thức cơ bản và có hệ thống về hóa sinh, những nguyên tắc cơ bản và ý nghĩa của một số xét nghiệm hóa sinh thông dụng để có thể áp dụng được vào thực tế lâm sàng và nghiên cứu về sinh y học.

2. SƠ LƯỢC LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA MÔN HỌC HÓA SINH

2.1. Thời kỳ trước thế kỷ XX

Từ hàng ngàn năm trước đây, mặc dù chưa có những hiểu biết về cơ ở lý thuyết của hóa sinh, con người đã biết sử dụng một số quá trình hóa sinh để phục vụ cuộc sống của mình: sử dụng tinh bột ủ men nấu rượu, muối dưa, làm sữa chua, ...

Vào thế kỷ thứ XVIII, Lavoisier A (1743-1794) đã đưa ra quan niệm cổ điển *về hô hấp tể bào* rằng các động vật có thể chuyển các nhiên liệu hóa học (của thức ăn) thành nhiệt và rằng quá trình hô hấp này là cần thiết cho sự sống.

Năm 1890, Fischer E đã đề ra *thuyết “ổ khóa và chìa khóa”* để giải thích tính đặc hiệu tuyệt đối của enzym đối với cơ chất.

2.2. Thời kỳ từ đầu thế kỷ XX đến trước 1953

Chỉ đến đầu thế kỷ XX, nhờ sự tiến bộ vượt bậc về khoa học kỹ thuật, nhiều phương pháp nghiên cứu mới về hóa học, vật lý và sinh học ra đời, ngành hóa sinh mới bắt đầu thu được những thành tựu to lớn.

Vào cuối những năm 1930, Pauling L và Corey R đã sử dụng phương pháp nhiễu xạ tia X xác định được *cấu trúc bậc hai xoắn α và xoắn β của phân tử protein*.

Năm 1947, Cori G, Cori C và Houssay BA đã được giải Nobel vì phát hiện *ra sự chuyển hóa của glycogen*.

Năm 1953, Sanger F tìm ra *cấu trúc của phân tử insulin* (Nobel 1957).

Năm 1953 Krebs H và Lipmann AF đã được nhận giải Nobel vì phát hiện *ra chu trình acid citric*.

GIỚI THIỆU MÔN HỌC HÓA SINH

1. ĐỊNH NGHĨA VÀ MỤC TIÊU CỦA MÔN HỌC HÓA SINH

Hóa sinh là môn học nghiên cứu về cơ sở phân tử của sự sống, nghĩa là nghiên cứu các chất hóa học cấu tạo nên cơ thể sống và sự chuyển hóa của chúng trong cơ thể sống.

Mục tiêu của chương trình giảng dạy Hóa sinh đối với sinh viên hệ đa khoa của Trường Đại học Y là để sinh viên có thể trình bày được những kiến thức cơ bản và có hệ thống về hóa sinh, những nguyên tắc cơ bản và ý nghĩa của một số xét nghiệm hóa sinh thông dụng để có thể áp dụng được vào thực tế lâm sàng và nghiên cứu về sinh y học.

2. SƠ LƯỢC LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA MÔN HỌC HÓA SINH

2.1. Thời kỳ trước thế kỷ XX

Từ hàng ngàn năm trước đây, mặc dù chưa có những hiểu biết về cơ ở lý thuyết của hóa sinh, con người đã biết sử dụng một số quá trình hóa sinh để phục vụ cuộc sống của mình: sử dụng tinh bột ủ men nấu rượu, muối dưa, làm sữa chua, ...

Vào thế kỷ thứ XVIII, Lavoisier A (1743-1794) đã đưa ra quan niệm cổ điển *về hô hấp tể bào* rằng các động vật có thể chuyển các nhiên liệu hóa học (của thức ăn) thành nhiệt và rằng quá trình hô hấp này là cần thiết cho sự sống.

Năm 1890, Fischer E đã đề ra *thuyết “ô khóa và chìa khóa”* để giải thích tính đặc hiệu tuyệt đối của enzym đối với cơ chất.

2.2. Thời kỳ từ đầu thế kỷ XX đến trước 1953

Chỉ đến đầu thế kỷ XX, nhờ sự tiến bộ vượt bậc về khoa học kỹ thuật, nhiều phương pháp nghiên cứu mới về hóa học, vật lý và sinh học ra đời, ngành hóa sinh mới bắt đầu thu được những thành tựu to lớn.

Vào cuối những năm 1930, Pauling L và Corey R đã sử dụng phương pháp nhiễu xạ tia X xác định được *cấu trúc bậc hai xoắn α và xoắn β của phân tử protein*.

Năm 1947, Cori G, Cori C và Houssay BA đã được giải Nobel vì phát hiện ra *sự chuyển hóa của glycogen*.

Năm 1953, Sanger F tìm ra *cấu trúc của phân tử insulin* (Nobel 1957).

Năm 1953 Krebs H và Lipmann AF đã được nhận giải Nobel vì phát hiện ra *chu trình acid citric*.

2.3. Thời kỳ từ 1953 đến nay: thời đại sinh học phân tử

Vào năm 1953, việc khám phá ra *cấu trúc xoắn kép của phân tử DNA* - một đai phân tử quyết định tính chất di truyền của sự sống - của Watson J (người Mỹ, sinh năm 1928) và Crick F (người Anh, sinh năm 1916) (Nobel 1962) đã mở đầu cho cuộc cách mạng về sinh học phân tử.

Năm 1957, Kendrew J đã tìm ra *cấu trúc bậc ba của myoglobin* (giải Nobel 1962).

Năm 1959, Ochoa S và Kornberg A đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *cơ chế tổng hợp của DNA và RNA*.

Năm 1960, Perutz M đã tìm ra *cấu trúc bậc bốn của hemoglobin* (giải Nobel 1962).

Năm 1965, Jacob F và Monod J đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *sự kiểm soát ở mức độ gen của sự tổng hợp protein enzym*.

Năm 1968, Holley WR, Khorana, HG và Nirenberg MW đã được nhận giải Nobel về *mã di truyền và chức năng của chúng trong sự tổng hợp protein*.

Năm 1971, Sutherland EWJ đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *cơ chế tác dụng của các hormon*.

Năm 1972, Edelman GM và Porter RR đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *cấu trúc hóa học của các protein kháng thể*.

Năm 1977, Guillemin R và Schally A đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *sự sản xuất hormon peptid ở não*.

Năm 1991, Neher E và Sakmann đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *chức năng của các kênh ion ở tế bào*.

Năm 1994, Gilman GA và Rodbell M đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *các protein G và vai trò của chúng trong việc truyền tín hiệu ở tế bào*.

Năm 1997, Prusier SB đã nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *các prion-một loại protein nhỏ hơn virus- có cách truyền bệnh mới: không qua chất liệu di truyền*.

Năm 1998, Furchtgott RF, Ignaro LJ và Murad F đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *NO có tác dụng kích thích guanylat cyclase tăng tạo cAMP, làm giãn cơ trơn trong hệ thống tim mạch*.

Năm 1999, Globel G đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra rằng *các protein có các tín hiệu đặc biệt để kiểm soát sự vận chuyển và khu trú của chúng trong tế bào*.

Năm 2000, Carlsson A, Greengard P và Kandel E đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *sự truyền tín hiệu trong hệ thống thần kinh*.

Năm 2001, Hartwell LH, Hunt RT và Nurse PM đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *các yếu tố điều hoà chủ chốt trong chu trình tế bào*.

Năm 2002, Brenner S, Horvitz HR và Sulston JE đã được nhận giải Nobel do đã phát hiện ra *sự điều hòa gen của sự phát triển cơ quan và sự chết tế bào theo chương trình*.

Năm 2006, Fire A và Mello CC đã được nhận giải Nobel do tìm ra kỹ thuật can thiệp RNA để khóa hoạt động của gen ở mức độ mRNA.

3. CÁC KHÁI NIỆM VỀ KHÔNG GIAN, THỜI GIAN VÀ NĂNG LƯỢNG TRONG HÓA SINH

3.1. Về không gian

Kích thước các phân tử sinh học được đo bằng các đơn vị độ dài vô cùng nhỏ: độ dài các liên kết hóa học trong phân tử hóa sinh được đo bằng đơn vị Å° ($1\text{Å}^\circ = 10^{-10}\text{m}$), kích thước các phân tử hóa sinh như glucose, acid amin, acid béo được đo bằng vài đơn vị Å° và các đại phân tử như các protein, enzym được đo bằng các đơn vị hàng chục Å°.

3.2. Về thời gian

Các phản ứng hóa sinh xảy ra trong cơ thể sống với tốc độ rất nhanh, thời gian xảy ra phản ứng hóa sinh được tính bằng mili giây (10^{-3} giây) hoặc micro giây (10^{-6} giây).

3.3. Về năng lượng

Năng lượng sinh học được khu trú trong các liên kết hóa học của các phân tử sinh học, dưới dạng các liên kết nghèo và giàu năng lượng, quan trọng nhất là phân tử ATP (adenosin triphosphat). ATP và các chất mang năng lượng sinh học khác có vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học.

4. VỊ TRÍ VÀ VAI TRÒ CỦA HÓA SINH TRONG CÁC NGÀNH KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ TRONG Y HỌC

4.1. Vị trí và vai trò của Hóa sinh trong các ngành khoa học tự nhiên

Hóa sinh là một môn học của ngành sinh học, nó có liên quan đến một số các môn khoa học khác như hóa học, sinh học, di truyền, sinh lý học, sinh lý bệnh học, miễn dịch học, dược lý học, ...

Những thành tựu nghiên cứu của các môn khoa học trên đã góp phần thúc đẩy các thành tựu khoa học của hóa sinh phát triển, ngược lại, các thành tựu nghiên cứu khoa học của hóa sinh lại có tác dụng thúc đẩy các ngành khoa học trên phát triển.

Ngày nay, hóa sinh đã trở thành một ngành khoa học với nhiều chuyên ngành khác nhau: hóa sinh virus, hóa sinh vi khuẩn, hóa sinh thực vật, hóa sinh động vật, hóa sinh y học, ...

4.2. Vị trí và vai trò của Hóa sinh trong y học

Hóa sinh là *một môn học cơ sở của y học*, hiện đang thu hút sự đầu tư nghiên cứu của nhiều nhà nghiên cứu khoa học, đặc biệt là các nhà y học, của nhiều viện nghiên cứu trên toàn thế giới, và cũng là một trong những ngành khoa học đạt nhiều giải Nobel vì các lý do sau đây:

1- Hóa sinh góp phần giải thích cơ sở phân tử của sự sống, sự sắp xếp và sự tương tác của chúng. Các cơ thể khác nhau, từ vi khuẩn *E. coli* đến con người đều sử dụng những phân tử hóa học cơ bản để xây dựng nên những đại phân tử của sự sống. Adenosin triphosphat (ATP) là dạng năng lượng phổ biến trong các hệ thống sinh học được sản sinh bởi các cách tương tự ở tất cả các dạng của sự sống.

2- Hóa sinh góp phần giải thích cơ chế hóa học của nhiều quá trình chủ yếu của sự sống. Sự phát hiện ra cấu trúc xoắn đôi của deoxyribonucleic acid (DNA), sự làm sáng tỏ dòng thông tin từ gen đến protein, sự xác định được cấu trúc không gian ba chiều của phân tử protein, cơ chế hoạt động của nhiều phân tử protein và những con đường chuyển hóa của các chất chủ yếu trong cơ thể sống. Sự phát triển của kỹ thuật tái tổ hợp DNA đã và đang giúp cho sự hiểu biết đầy đủ về toàn bộ cấu trúc của bộ gen người. Điều này giúp con người có khả năng hiểu biết nhiều hơn nữa về quá trình tiến hóa của loài người, về bản chất của quá trình sống, đồng thời cũng giúp con người có khả năng chữa được những bệnh nan y ở mức độ phân tử.

3- Hóa sinh hiện đang tác dụng sâu sắc đến y học. Hóa sinh cũng đóng góp nhiều cho các chẩn đoán lâm sàng. Các xét nghiệm hóa sinh được sử dụng rộng rãi trong y học để chẩn đoán, tiên lượng, theo dõi điều trị và sàng lọc. Ví dụ, mức độ tăng lên về hoạt độ trong huyết tương của một số enzym nguồn gốc tế bào có thể cho phép chẩn đoán cơ quan tương ứng bị tổn thương: nhồi máu cơ tim, viêm gan, viêm tuy, tổn thương cơ,... Những sai sót ở mức độ phân tử có thể gây nên bệnh thiếu máu hồng cầu liêm, gây nên sự xơ hóa hệ thống, bệnh Hemophilia hoặc nhiều bệnh di truyền khác. Những hiểu biết về những sai sót di truyền cho phép con người có thể phát hiện và điều trị bệnh có hiệu quả hơn. Các mẫu DNA có thể đóng một vai trò nhất định giúp chẩn đoán chính xác các rối loạn di truyền, bệnh nhiễm trùng hoặc một số bệnh ung thư. Các chủng vi khuẩn được tạo ra nhờ kỹ thuật tái tổ hợp DNA có khả năng sản xuất ra các protein có giá trị điều trị như insulin, hormon sinh trưởng và các kích tố phát triển tế bào máu. Hóa sinh đóng vai trò rất quan trọng trong việc nghiên cứu và ứng dụng tế bào gốc (stem cells) trong y học. Hóa sinh cũng có khả năng giúp nghiên cứu các thuốc mới.

4- Hóa sinh đã và đang giúp các nhà khoa học giải quyết một số vấn đề cơ bản và nhạy cảm nhất trong y học. Đó là các vấn đề về sự nhận biết của các tế bào khác nhau trong sự hình thành một cơ quan phức tạp, sự trưởng thành của tế bào được kiểm soát như thế nào, các nguyên nhân của ung thư, cơ chế phân tử của trí nhớ, cơ chế phân tử của các rối loạn trí não như bệnh Alzheimer hoặc bệnh tinh thần phân lập (Schizophrenia), ...

5. PHƯƠNG PHÁP HỌC TẬP VÀ NGHIÊN CỨU HÓA SINH

5.1. Phương pháp học tập Hóa sinh. Để học tốt môn Hóa sinh, học viên cần phải:

– Nắm vững những kiến thức cơ bản về hóa học như hóa vô cơ, hóa hữu cơ, hóa lý, cũng cần phải có những kiến thức cơ bản về các môn học khác có liên quan như sinh học, tế bào, di truyền, sinh lý học, sinh lý bệnh-miễn dịch, dược lý, ...

– Hiểu được các chuyển hóa trong cơ thể sống là không ngừng, không nghỉ, các con đường chuyển hóa các phân tử của sự sống có sự liên quan chặt với nhau và sự hoạt động của chúng được điều hòa một cách chặt chẽ bởi những cơ chế thần kinh, thể dịch, phù hợp với sự hoạt động của một cơ thể thống nhất cùng với điều kiện môi trường.

– Nắm được những kiến thức cơ bản và có hệ thống về hóa sinh để giải thích được những kiến thức của các môn học có liên quan ở mức độ phân tử, áp dụng được vào thực tế lâm sàng và nghiên cứu về y sinh học.

5.2. Phương pháp nghiên cứu Hóa sinh

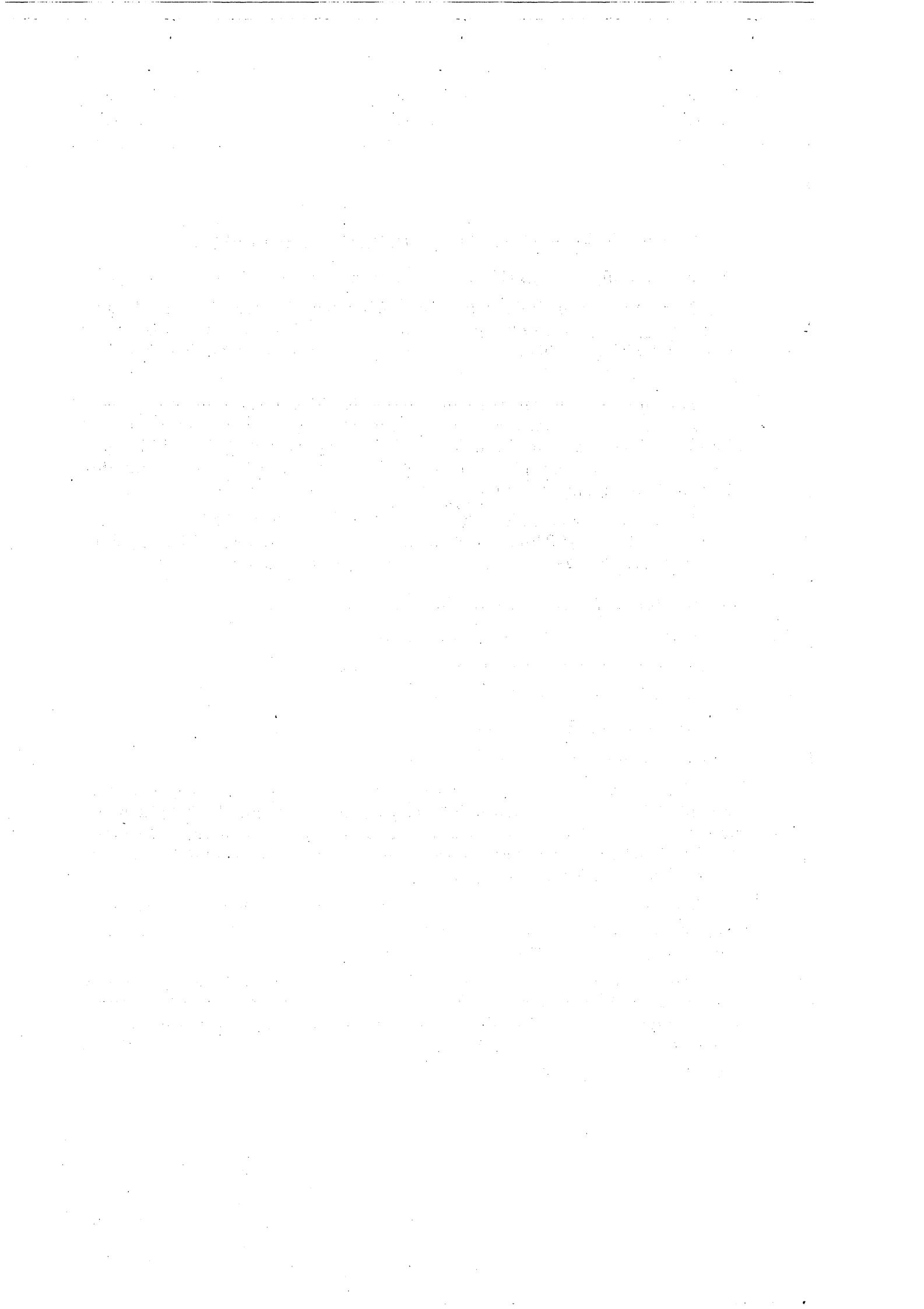
Phương pháp nghiên cứu hóa sinh y học gồm:

- Nghiên cứu trong ống nghiệm (*in vitro*)
- Nghiên cứu trong cơ thể toàn vẹn (*in vivo*)
- Nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng
- Nghiên cứu lâm sàng

Mỗi loại hình nghiên cứu hóa sinh đòi hỏi những đối tượng, mô hình, phương pháp và phương tiện nghiên cứu phù hợp. Mỗi loại hình nghiên cứu cũng đòi hỏi các bằng chứng khoa học chẳng những bằng chứng về hóa sinh mà còn có thể cả các bằng chứng về các khoa học liên quan như sinh học, tế bào, mô học, miễn dịch, dược lý, ...

Tóm lại, Hóa sinh là môn học nghiên cứu về cơ sở phân tử của sự sống, nghĩa là nghiên cứu các chất hóa học cấu tạo nên cơ thể sống và sự chuyển hóa của chúng trong cơ thể sống.

Nắm được những kiến thức cơ bản và có hệ thống về hóa sinh, những nguyên tắc cơ bản và ý nghĩa của một số xét nghiệm hóa sinh thông dụng, sinh viên để có thể giải thích được những hiện tượng khoa học của các môn học có liên quan ở mức độ phân tử, áp dụng được vào thực tế lâm sàng và vào nghiên cứu về y sinh học.



PHẦN 1

CẤU TẠO CHẤT

Chương 1

HÓA HỌC GLUCID

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa, phân loại, danh pháp của monosaccarid, viết được công thức một số monosaccarid thường gặp ở dạng cấu tạo vòng.
2. Trình bày được tính khử của monosaccarid.
3. Trình bày được công thức, tính chất khử và nguồn gốc của saccarose, lactose, maltose.
4. So sánh được tinh bột, glycogen và cellulose.

Danh từ glucid mà ta hay dùng là carbohydrate hay saccarid. Cái tên có lịch sử từ công thức thô của carbohydrate là $(C.H_2O)_n$, $n \geq 3$. Carbohydrat gồm: monosaccarid, oligosaccarid, polysaccarid.

- Monosaccarid (đường đơn) là đơn vị cơ cấu tạo của carbohydrate..
- Oligosaccarid được tạo thành từ 2 - 14 monosaccarid, chúng thường liên kết với protein (glycoprotein), với lipid (glycolipid)
- Polysaccarid là những phân tử lớn, được tạo thành từ nhiều monosaccarid.

1. MONOSACCARID

Monosaccarid được gọi là đường đơn, là dẫn xuất aldehyd, ceton của polyalcol chứa ít nhất 3 nguyên tử carbon, thí dụ D-glucose, ribulose, chúng không thể bị thuỷ phân thành những phân tử nhỏ hơn.

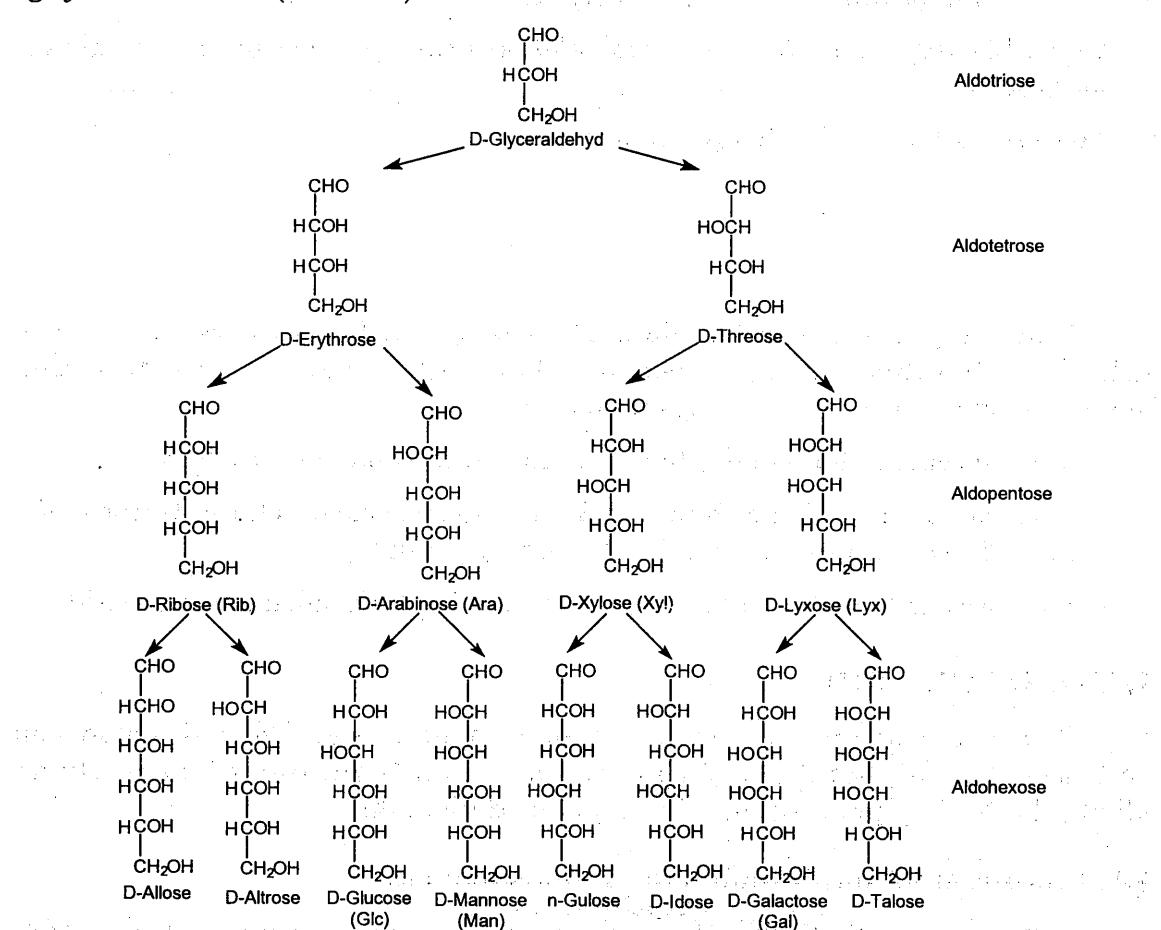
1.1. Phân loại và danh pháp của monosaccarid

Monosaccarid được phân loại và gọi tên theo bản chất hóa học của nhóm carbonyl và số lượng nguyên tử carbon của chúng.

– Theo nhóm carbonyl: nếu nhóm carbonyl là aldehyd thuộc loại aldose (aldehyd alcol), ví dụ: glucose. Nếu nhóm carbonyl là ceton thì monosaccaid thuộc loại cetose (ceton alcol), ví dụ: fructose.

– Theo số lượng carbon: monosaccharid nhỏ nhất có 3 nguyên tử carbon là triose, tương ứng với 4, 5, 6, 7... nguyên tử carbon là tetrose, pentose, hexose, heptose, ... Cũng có thể thêm tiếp đầu ngữ aldo hoặc ceto biểu thị hóa chất aldehyd hoặc ceton và còn có tên riêng, ví dụ: aldochexose (glucose), cetopentose (ribulose).

– Theo quy ước Fischer, các monosaccharid thuộc dãy D có nhóm –OH của carbon bất đối (C*) cuối cùng (C ở cách xa nhóm carbonyl nhất) ở bên phải giống như phân tử D-glyceraldehyd, dãy L có nhóm – OH ở bên trái. Các monosaccharid thuộc dãy L có tính chất sinh học kém đôi đùa hơn monosaccharid dãy D. Các monosaccharid chỉ khác nhau bởi cấu hình hóa học của một nguyên tử carbon được thừa nhận là một đồng phân epimer. Thí dụ D-glucose và D-mannose là hai đồng phân epimer với sự khác biệt ở C2; D-glucose và D-galactose là hai đồng phân epimer với sự khác nhau ở C4. D-mannose và D-galactose không phải là đồng phân epimer của nhau vì có sự khác biệt ở hai nguyên tử carbon (hình 1.1)



Hình 1.1. Sự liên quan hóa học lập thể của các D-aldose có 3 - 6 nguyên tử carbon (aldotriose - aldochexose), sự tạo thành từng cặp với sự khác biệt của C2

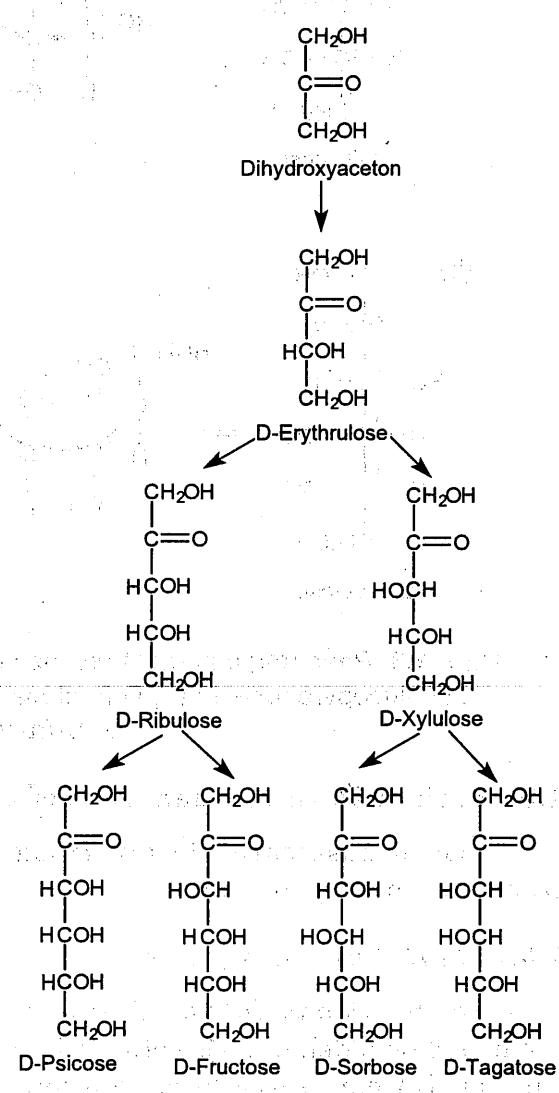
Sự liên quan hóa học lập thể của các D – cetose trình bày ở hình 1.2.

Do vị trí của nhóm carbonyl khác nhau trong aldose và cetose làm cho số C* khác nhau. Các aldose có số C* là n-2 sẽ có 2^{n-2} đồng phân quang học. Các cetose có số C* là n-3, sẽ có 2^{n-3} đồng phân quang học.

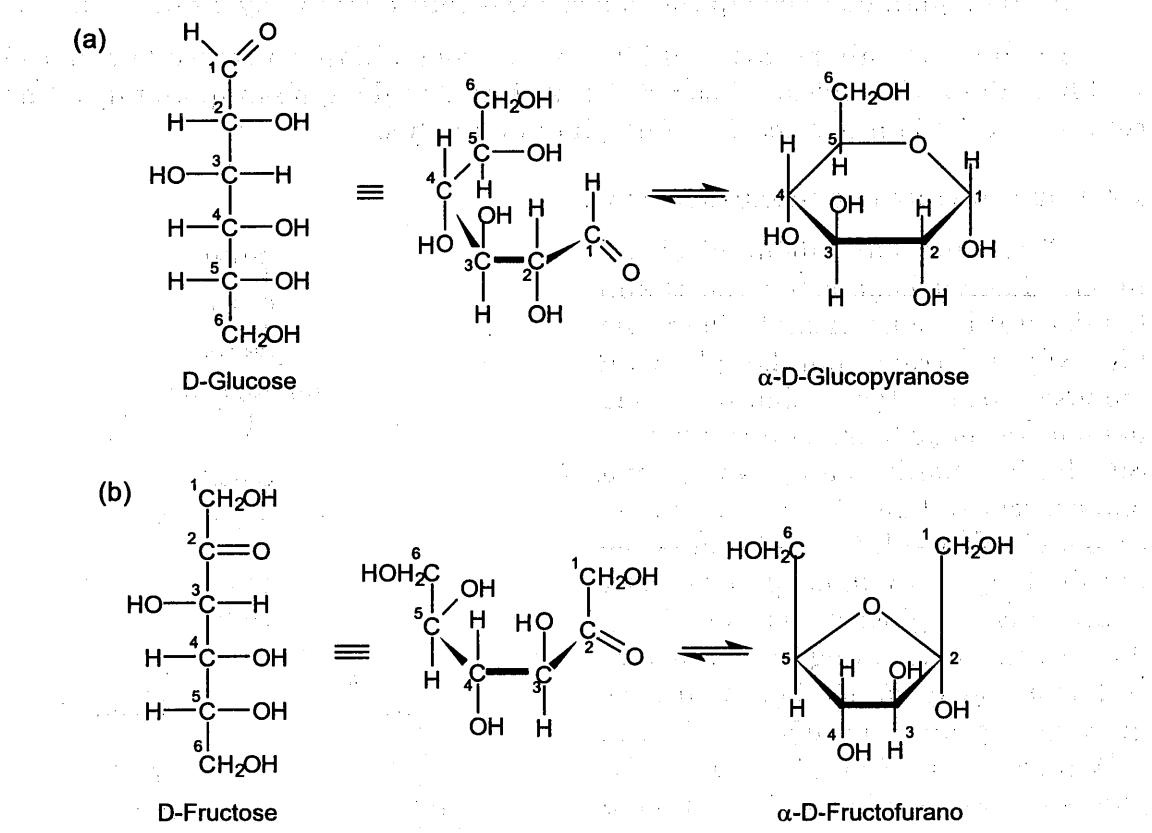
1.2. Cấu tạo vòng của monosaccarid

Phản ứng của nhóm alcol với nhóm aldehyd hoặc keton tạo thành hemiacetal hoặc hemicetal. Phản ứng này xảy ra trong nội bộ phân tử monosaccarid tạo thành vòng hemiacetal hoặc hemicetal (hình 1.3). Sự hình thành dạng vòng của monosaccarid làm cho C của nhóm carbonyl trở thành C*. Kết quả là tạo thành dạng α và dạng β . Hai đồng phân của D-glucose là một cặp diastereoisomer, chúng khác nhau về tính chất vật lý và hóa học. Ví dụ góc quay quang học đặc hiệu $[\alpha]^{20}_D$ của α -D-glucose là $+112,2^\circ$, của β -D-glucose là $+18,7^\circ$ (dấu + chỉ khả năng làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực sang phải, dấu - là ngược lại). Khi hòa tan một trong hai dạng tinh khiết trên nước cất, góc quay quang học đặc hiệu thay đổi dần và ở giá trị ổn định $[\alpha]^{20}_D$ là $+52,7^\circ$, tại đó một cân bằng động được thiết lập với α -D-glucose là 36,4% và β -D-glucose là 63,6% chỉ khoảng 0,1% là dạng thẳng.

Hexose và pentose có thể đóng vòng thành dạng pyranose và furanose. Glucose duy nhất chuyển thành dạng pyranose trong dung dịch. Fructose có 67% ở dạng pyranose và 33% ở dạng furanose. Ribose có 75% dạng pyranose và 25% ở dạng furanose.



Hình 1.2. Sự liên quan hóa học lập thể của các D-cetose có 3 - 6 nguyên tử carbon (cetotriose - cetohexose), sự tạo thành từng cặp với sự khác biệt của C3



Hình 1.3. Phản ứng của (a) D-glucose dạng thẳng thành dạng vòng hemiacetal α -D-glucopyranose và (b) D-fructose dạng thẳng thành dạng vòng hemiacetal α -D-fructofuranose.

1.3. Tính chất và các dẫn xuất của monosaccharid

Các monosaccharid dễ tan trong nước, ít tan trong alcol và không tan trong ete, thường có vị ngọt.

1.3.1. Tính khử (bị oxy hóa)

– *Tạo thành dẫn xuất là các acid aldonic:* các monosaccharid có tính khử do có các hóa chất aldehyd hoặc ceton. Khi tác dụng với các muối kim loại nặng (muối Cu, Hg, Bi) monosaccharid sẽ khử ion kim loại, giải phóng kim loại tự do hoặc muối kim loại có hóa trị thấp hơn; còn bản thân các monosaccharid sẽ bị oxy hóa thành acid aldonic, như glucose thành gluconic.

Ví dụ:

- Bismut nitrat kiềm trong thuốc thử Nylander bị monosaccharid khử thành bismut kim loại màu đen.
- Hydroxyd đồngII ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) bị khử tạo thành kết tủa oxyd đồng I (Cu_2O) màu đỏ gạch.

- *Tạo thành dẫn xuất là các acid uronic*: sự oxy hóa đặc biệt của nhóm alcol bậc 1 của các aldose tạo thành các acid uronic như D-glucuronic acid, D-galacturonic acid, D-mannuronic acid.

1.3.2. *Tạo glycosid*

Nhóm -OH bán acetal trong phân tử monosaccarid có khả năng tạo thành hợp chất với alcol bằng liên kết glycosid, hợp chất được gọi là các glycosid. Nhóm -OH bán acetal liên kết với -OH alcol của monosaccarid khác là các trường hợp tạo thành oligo- và polysaccarid.

1.3.3. *Sự chuyển dạng lẩn nhau của monosaccarid*

Glucose, fructose và mannose có thể chuyển dạng lẩn nhau trong môi trường kiềm yếu như $\text{Ba}(\text{OH})_2$ hoặc $\text{Ca}(\text{OH})_2$ qua dạng trung gian enediol

1.3.4. *Dẫn xuất este*

Nhóm -OH alcol trong phân tử monosaccarid phản ứng với các acid tạo thành các este tương ứng. Một số dẫn xuất este quan trọng trong cơ thể sinh vật như: Phospho glyceraldehyd, phosphodihydroxyaceton, ribose-5-phosphat, D-xylulose-5-phosphat, glucose-1-phosphat, glucose-6-phosphat, β -D-fructose-6-phosphat, D-sedoheptulose-7-phosphat.

2. OLIGOSACCARID

Oligosaccarid thường gặp nhất trong tự nhiên là các disaccarid

2.1. Saccarose (Sucrose)

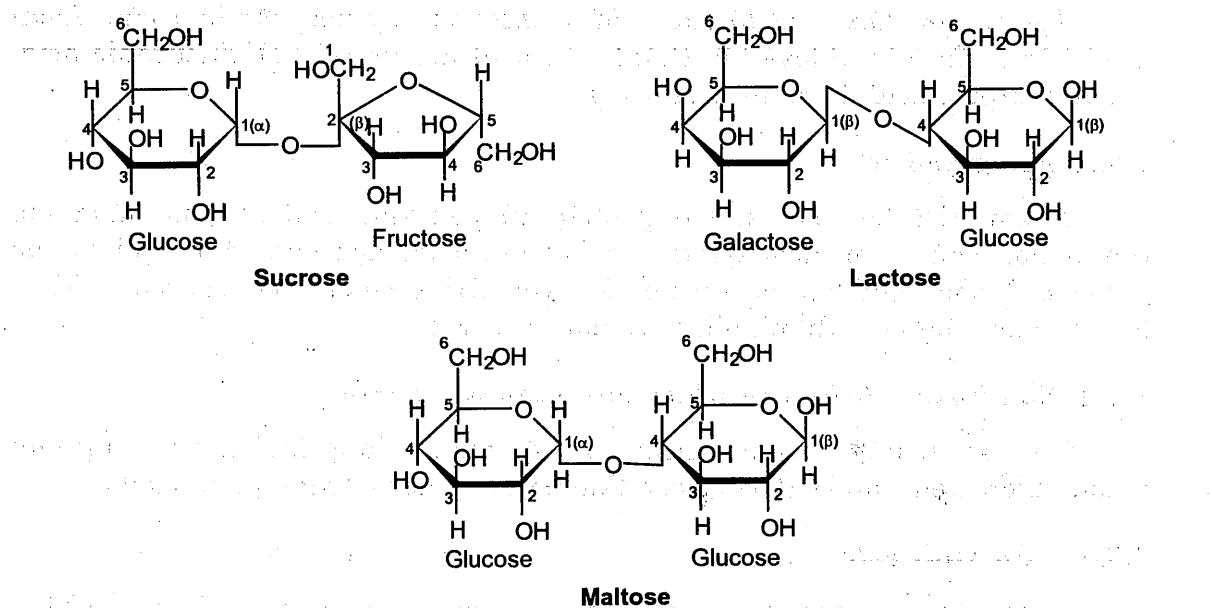
Saccarose là [$O\text{-}\alpha\text{-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-D-fructofuranosid}}$]. Ký hiệu (1→2) chỉ ra rằng liên kết glucosid C1 của glucose với C2 của fructose, vì vậy saccarose không còn tính khử. Saccarose tan trong nước, có góc quay đặc hiệu +66,5°. Khi thuỷ phân tạo thành D-glucose có góc quay +52,7° và fructose có góc quay -92,4° nên hỗn hợp này làm quay mặt phẳng ánh sáng phản cực sang trái, gây hiện tượng “đảo cực”. Enzym thuỷ phân là saccarase. Saccarose có nhiều trong mía và củ cải đường.

2.2. Lactose

Lactose là [$O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl-(1\rightarrow4)\text{-D-glucopyranose}}$], lactose còn một hóa chúc khử của phân tử glucose nên lactose có tính khử, góc quay đặc hiệu là +55,5°. Lactose có trong sữa người và động vật nên còn được gọi là đường sữa.

2.3. Maltose

Maltose là [$O\text{-}\alpha\text{-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow4)\text{-glucopyranose}}$], có tính khử, maltose có trong mầm lúa, kẹo mạch nha, là sản phẩm thuỷ phân của tinh bột.

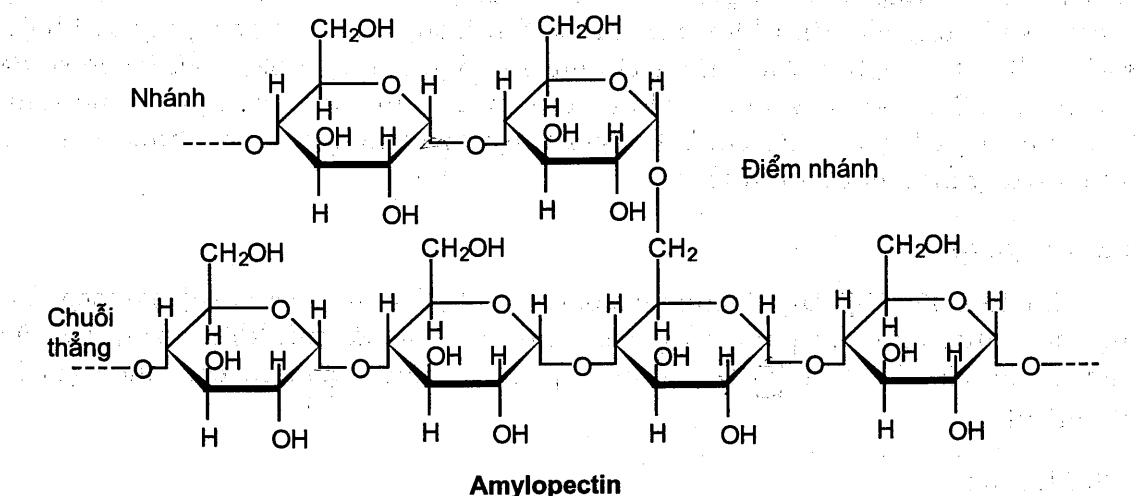


Hình 1.4. Công thức của saccarose, lactose và maltose

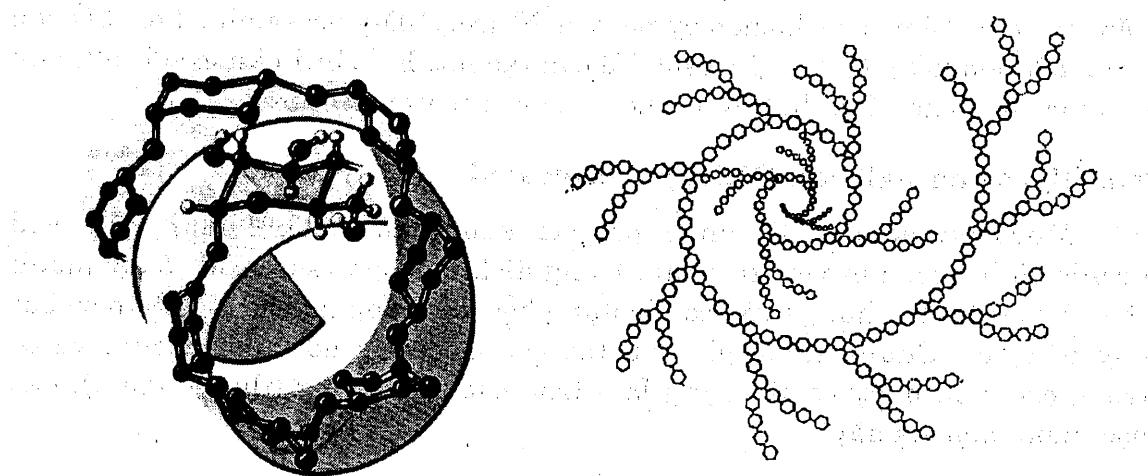
3. POLYSACCARID

3.1. Tinh bột

Tinh bột là thức ăn dự trữ của động vật. Tinh bột có trong bào tương của tế bào thực vật, là những hạt nhỏ không tan gồm α -amylose và amylopectin. α -amylose chiếm từ 12 – 25% tinh bột, tan trong nước, là chuỗi polyme của hàng ngàn gốc glucose liên kết với nhau bằng liên kết α -(1 \rightarrow 4)glucosid. Chuỗi polyme được vòng xoắn lặp lại đều đặn theo dạng quay trái (left-handed helix).



Hình 1.5. Liên kết α -(1 \rightarrow 4) và liên kết (1 \rightarrow 6) glucosid trong phân tử amylopectin



Hình 1.6. Amylose (Hình của Irving Geis)

Hình 1.7. Amylopectin

Amylopectin chiếm từ 75 – 85% trong tinh bột, gồm khoảng 10^6 gốc glucose, không tan trong nước, có cấu trúc như bụi cây, là phân tử có mạch nhánh, liên kết chủ yếu là $(1 \rightarrow 4)$ glucosid và tại mạch nhánh là liên kết $(1 \rightarrow 6)$ glucosid. Mỗi nhánh gồm từ 24 – 30 gốc glucose. Các loại tinh bột từ nguồn gốc khác nhau có tỷ lệ amylose và amylopectin khác nhau.

3.2. Glycogen (tinh bột động vật)

Glycogen là polysaccharid, gồm 2.400 đến 24.000 gốc glucose được tổng hợp ở động vật, có mặt trong mọi tế bào nhưng nhiều nhất ở tế bào gan, tới 10% theo trọng lượng và cơ xương tới 0,9%, glycogen ở trong các hạt trong bào tương. Cấu trúc bậc 1 của glycogen giống như amylopectin nhưng nhiều nhánh hơn và mạch nhánh ngắn hơn, chỉ từ 8 - 12 gốc glucose.

3.3. Cellulose

Cellulose là thành phần chính của mô nang đỡ thực vật, là chuỗi polyme của khoảng 15.000 gốc β -D-glucose, liên kết bằng liên kết $\beta(1 \rightarrow 4)$ glucosid, được coi là đồng phân của amylose. Cellulose không tan trong nước, bị thuỷ phân trong môi trường acid sulfuric nóng, không có giá trị dinh dưỡng đối với người và với đa số động vật. Ở động vật ăn cỏ, các vi sinh vật trong ống tiêu hóa sản sinh ra các enzym cellulase thuỷ phân cellulose thành các β -D-glucose nên tiêu hóa được cellulose.

3.4. Chitin

Chitin là thành phần quan trọng của các động vật không xương sống như loại giáp xác, sâu bọ và nhện, nó cũng có trong các tế bào vách của các loại

nấm và tảo. Chitin là homopolyme của N-acetyl-D-glucosamin, liên kết với nhau bởi liên kết β (1→4) glucosid. Về cấu tạo hóa học chitin khác với cellulose là ở các C2 nhóm –OH được thay thế bằng gốc acetamid.

3.5. Glycosaminglycan (Mucopolysaccharid)

Mucopolysaccharid là chuỗi polyme không có mạch nhánh của acid uronic và hexosamin xen kẽ nhau. Dung dịch mucopolysaccharid có độ quánh cao và có tính đàn hồi, vì vậy có tác dụng bảo vệ chống lại các tác nhân cơ học hay hóa học. Chúng tham gia cấu tạo các mô nâng đỡ (xương, sụn) và có trong các dịch nhầy có tác dụng làm trơn các thành ống (thực quản...), bao bọc niêm mạc dạ dày.

3.5.1. Acid hyaluronic

Acid hyaluronic được tạo thành từ 250 – 25000 đơn vị lặp đi lặp lại của disaccarid liên kết với nhau bằng liên kết 1→4 glucosid, mỗi disaccarid bao gồm gốc acid β -D-glucuronic và N-acetyl β -glucosamin liên kết với nhau bằng liên kết 1→3 glucosid. Hyaluronic có trong mô liên kết thuỷ tinh thể của mắt, cuống rốn, nang của một số vi khuẩn. Enzym hyaluronidase có trong một số vi khuẩn, tinh dịch, nọc rắn, có khả năng phân giải acid hyaluronic.

3.5.2. Chondroitin sulfat

Chondroitin sulfat gồm 2 loại chondroitin-4-sulfat và chondroitin-6-sulfat, được cấu tạo từ 50-1000 đơn vị lặp lại là sulfat disaccarid, mỗi đơn vị bao gồm gốc acid β -D-glucuronic và N-acetyl β -glucosamin-4-sulfat hoặc N-acetyl β -glucosamin-6-sulfat liên kết với nhau bằng liên kết 1→3 glucosid. Chondroitinsulfat có trong sụn, mô liên kết, mô bảo vệ (da, gan, van tim, thành động mạch...)

3.5.3. Heparin

Heparin được tìm thấy ở những hạt bài tiết của những tế bào ở lớp bề mặt của mạch máu, có nhiều ở phổi, gan và da. Heparin được cấu tạo bởi các đơn vị là α -D-glucuronat-2-sulfat và N-sulfo-D-glucosamin-6-sulfat liên kết với nhau bằng liên kết α 1→4 glucosid. Heparin có khả năng ức chế quá trình đông máu, được dùng để điều trị những trường hợp nghẽn mạch do huyết khối.

3.5.4. Keratan sulfat

Keratan sulfat cấu tạo gồm các đơn vị là β -D-galactose và N-acetyl-D-glucosamin-6-sulfat.

3.6. Glycoprotein

Glycoprotein là mucopolysaccharid liên kết với protein bằng liên kết đồng hóa trị hoặc liên kết không đồng hóa trị. Các mucopolysaccharid thường là keratan sulfat, chondroitin sulfat được liên kết đồng hóa trị với protein. Có nhiều loại protein thường có trọng lượng phân tử 200 – 300kD tham gia trong cấu tạo glycoprotein.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Viết tên hóa học và công thức cấu tạo của α -D-glucose, β -D-fructose.
2. Trình bày tính chất khử của monosaccharid.
3. Trình bày sự giống nhau và khác nhau của saccarose và lactose.
4. Trình bày sự giống nhau và khác nhau của tinh bột, glycogen, cellulose.

Chương 2

HÓA HỌC LIPID

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa và đặc điểm các thành phần cấu tạo chính của lipid.
2. Trình bày được phân loại lipid theo cấu tạo hóa học và công thức cấu tạo của mỗi loại.

MỞ ĐẦU

Cũng như glucid và protein, lipid là thành phần cơ bản của sinh vật. Lipid có giá trị cao về mặt năng lượng (1g lipid cung cấp 9,3Kcal); chứa nhiều loại vitamin tan trong lipid (như vitamin A, D, E và K) và nhiều loại acid béo không bão hòa cần thiết mà cơ thể không tự tổng hợp được.

Về cấu tạo hóa học, hầu hết các loại lipid đều có acid béo và alcol. Trong thành phần cấu tạo, lipid không có hoặc có rất ít các nhóm ưa nước như -OH, -NH₂, -COOH và có rất nhiều các nhóm kỵ nước; bởi vậy, lipid không hoặc rất ít tan trong nước nhưng tan nhiều trong dung môi có độ phân cực thấp như các dung môi hữu cơ (ether, benzen, chloroform...).

Lipid hình thành lớp mỡ dưới da và lớp mỡ bao quanh một số cơ quan, có tác dụng bảo vệ cho cơ thể và các cơ quan. Phức hợp của lipid với protein – gọi là lipoprotein – là thành phần cấu tạo quan trọng của tế bào, có ở các màng tế bào và trong ty thể tế bào. Các lipoprotein còn giữ vai trò vận chuyển lipid trong máu tuần hoàn.

Trong ngôn ngữ thông thường, lipid được gọi là chất béo và bao gồm dầu, mỡ, sáp. Ở nhiệt độ thường, mỡ và sáp ở thể đặc và dầu ở thể lỏng. Lipid gồm nhiều loại và có thể sắp xếp theo nhiều cách, người ta thường phân loại lipid như sau: lipid thuần và lipid tạp.

1. THÀNH PHẦN CẤU TẠO CỦA LIPID

Lipid là những este hoặc amid của acid béo với alcol hoặc aminoalcol.

1.1. Acid béo

Acid béo là những acid carboxylic với chuỗi hydrocarbon chứa từ 4 đến 36 carbon. Một số acid béo có chuỗi hydrocarbon bão hòa (không chứa liên kết

đôi) và không có nhánh; một số acid béo có chuỗi hydrocarbon không bão hoà (chứa một hay nhiều liên kết đôi), hoặc có nhánh, hoặc vòng, hoặc chứa nhóm chức hydroxyl.

Theo quy ước quốc tế, acid béo được gọi tên theo tên của chuỗi hydrocarbon có cùng số lượng nguyên tử carbon và thêm đuôi -oic, ví dụ: chuỗi hydrocarbon có 8 nguyên tử carbon có tên là octan thì acid béo tương ứng được gọi là acid octanoic (acid caprylic), chuỗi hydrocarbon có 18 nguyên tử carbon và một liên kết đôi có tên là octadecen thì acid béo tương ứng được gọi là acid octadecenoic (acid oleic). Nguyên tử carbon của nhóm carboxyl được dùng làm mốc và mang số 1, nguyên tử carbon số 2 được gọi là carbon α , nguyên tử carbon số 3 được gọi là carbon β ,... và nguyên tử carbon của nhóm methyl tận cùng được gọi là carbon ω . Ngoài ra, người ta còn dùng các ký hiệu để chỉ số lượng và vị trí của liên kết đôi trong phân tử acid béo: acid oleic có 18 carbon, 1 liên kết đôi giữa carbon số 9 và số 10, có thể ký hiệu là 18:1; 9 hay 18:1 (Δ^9); acid linoleic có 18 carbon, 2 liên kết đôi giữa carbon số 9 - số 10 và giữa carbon số 12 - số 13, ký hiệu là 18:2; 9,12 hay 18:2 ($\Delta^9, 12$); acid palmitic có 16 carbon và không có liên kết đôi, ký hiệu là 16:0.

1.1.1. Acid béo bão hoà

Bảng 2.1. Một số acid béo bão hoà thường gặp

Tên acid	Công thức	Tên hệ thống	Độ nóng chảy (°C)	Có trong thiên nhiên
Lauric	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Acid n-dodecanoic	+ 44,2	Dầu dừa
Myristic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Acid n-tetradecanoic	+53,9	
Palmitic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Acid n-hexadecanoic	+ 63,1	Mỡ động vật và dầu thực vật
Stearic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Acid n-octadecanoic	+ 69,6	
Arachidic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Acid n-eicosanoic	+ 76,5	Dầu lạc, sáp động vật và thực vật
Lignoceric	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	Acid tetracosanoic	+ 86,0	

1.1.2. Acid béo không bão hoà

Là những acid béo chuỗi thẳng (đôi khi có nhánh), thường ở dạng đồng phân cis, được chia thành nhiều loại tuỳ theo mức độ không bão hoà.

Bảng 2.2. Một số acid béo không bão hoà thường gặp

Tên acid	Khung carbon	Công thức cấu tạo	Điểm nóng chảy
Acid palmitoleic	16 : 1 (Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	- 0,5
Acid oleic	18 : 1 (Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	13,4
Acid linoleic	18 : 2 ($\Delta^{9,12}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	- 5
Acid linolenic	18 : 3 ($\Delta^{9,12,15}$)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	- 11
Acid arachidonic	20: 4($\Delta^{5,8,11,14}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	- 49,5

– Acid béo có một liên kết đôi (monounsaturated fatty acid): công thức tổng quát là $C_nH_{2n-1}COOH$. Acid oleic là acid béo không bão hòa rất phổ biến; có trong tất cả dầu và mỡ động vật, thực vật: mỡ dự trữ của bò và lợn (40%), dầu olive (80%).

– Acid béo có nhiều liên kết đôi (polyunsaturated fatty acid):

+ Loại có hai liên kết đôi: công thức tổng quát là $C_nH_{2n-3}COOH$; ví dụ như acid linoleic có trong nhiều loại hạt có dầu như hạt ngũ cốc, hạt lạc, hạt bông và hạt đậu nành.

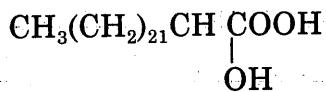
+ Loại có ba liên kết đôi: công thức tổng quát là $C_nH_{2n-5}COOH$; ví dụ như acid linolenic thường có mặt cùng với acid linoleic nhưng đặc biệt có trong đậu nành.

+ Loại có bốn liên kết đôi: công thức tổng quát là $C_nH_{2n-7}COOH$; ví dụ như acid arachidonic, thấy chủ yếu trong dầu lạc.

Một số acid béo không bão hòa rất cần thiết cho cơ thể nhưng cơ thể không thể tự tổng hợp được, phải đưa từ ngoài vào, ví dụ: acid linoleic, acid linolenic,...

1.1.3. Acid béo mang chức alcol

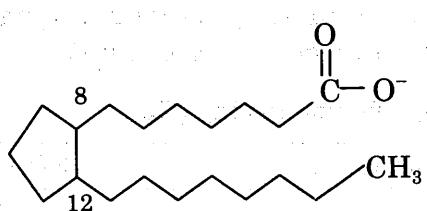
Acid cerebronic có trong lipid tạp của não



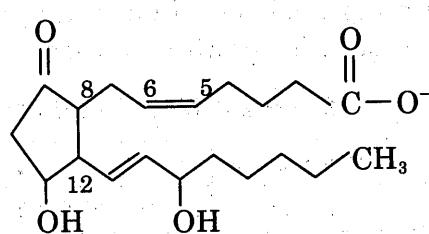
Hình 2.1. Acid cerebronic

1.1.4. Acid béo có vòng

Acid prostanoic là acid có vòng 5 cạnh với 20 carbon và mang 2 chuỗi thẳng. Acid prostanoic có dẫn xuất là prostaglandin, một nhóm hợp chất có tầm quan trọng về mặt dược lý và hóa sinh. Trong cơ thể, prostaglandin được tổng hợp từ acid arachidonic, ví dụ: prostaglandin E₂ (PGE₂).



Acid prostanoic



Prostaglandin E₂

Hình 2.2. Acid béo vòng

1.1.5. Đồng phân của acid béo không bão hòa

Các acid béo không bão hòa tồn tại dưới nhiều dạng đồng phân là do vị trí của các liên kết đôi trong chuỗi carbon của acid béo tạo ra. Đồng phân hình học của acid béo không bão hòa là do phương hướng của các gốc ở xung quanh trục của liên kết đôi quyết định, nếu những gốc đang được xem xét ở về cùng một phía của liên kết đôi thì acid béo được gọi là dạng “cis”, nếu những gốc đó ở những hướng trái ngược nhau thì acid béo được gọi là dạng “trans”. Những acid béo không bão hòa chuỗi dài thường gặp trong tự nhiên hầu như đều thuộc dạng cis và phân tử bị uốn cong ở vị trí liên kết đôi.

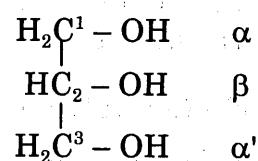
1.2. Alcol của lipid

Alcol trong phân tử lipid gồm glycerol, alcol bậc cao, aminoalcol, sterol. Trong các chất béo còn gặp những alcol không no, một số alcol này là những chất màu quan trọng, ví dụ: phytol là một cấu tử của chlorophyl và lycophyl.

1.2.1. Glycerol

Là một trialcol (có 3 nhóm chức alcol), tham gia trong thành phần của glycerid và phosphatid. Vị trí các nguyên tử carbon trong phân tử glycerol được ghi bằng chữ số 1, 2, 3 hoặc ký hiệu α , β , α' .

Hình 2.4. Cách đánh số carbon trong phân tử glycerol

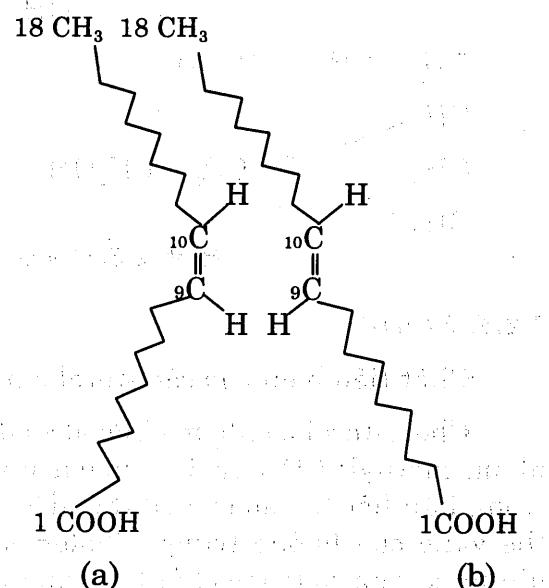


1.2.2. Alcol bậc cao

Tham gia trong thành phần các chất sáp, ví dụ: alcol cetyllic $\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{OH}$, alcol n-hexacosanol $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{CH}_2\text{OH}$, alcol n-octacosanol $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{CH}_2\text{OH}, \dots$

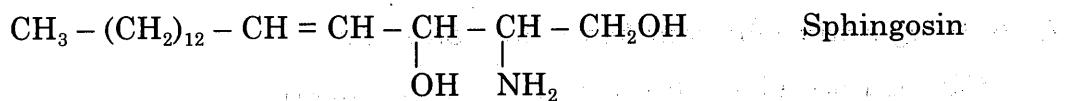
1.2.3. Aminoalcol

Tham gia trong thành phần của cerebrosid và một số phosphatid. Các aminoalcol thường gặp là sphingosin, cholin (ethanolamin trimethylamin), ethanolamin (cholamin), serin, cerebrin (có trong nấm men, hạt ngô).



Hình 2.3. Đồng phân hình học của acid oleic và acid elaidic

(a): acid oleic (cis) (b): acid elaidic (trans)



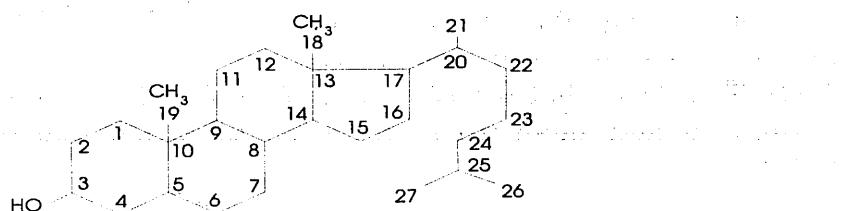
Hình 2.5. Một số aminoalcol trong lipid

1.2.4. Sterol

Chất tiêu biểu cho các sterol ở mô động vật là cholesterol.

Cholesterol có nhóm chức alcol ở C₃, liên kết đôi ở C₅ – C₆, mạch nhánh là nhóm methyl ở C₁₀ và C₁₃, mạch nhánh gồm 8 carbon ở C₁₇. Cholesterol có trong hầu hết tế bào của cơ thể; đặc biệt trong mô thần kinh, màng và sỏi màng, thể vàng của buồng trứng. Cholesterol là thành phần của chất béo động vật nhưng không có trong chất béo thực vật.

Trong tự nhiên, người ta còn gặp các loại sterol khác như 7-dehydrocholesterol, ergosterol, coprosterol,...



Hình 2.6. Cholesterol

2. LIPID THUẦN

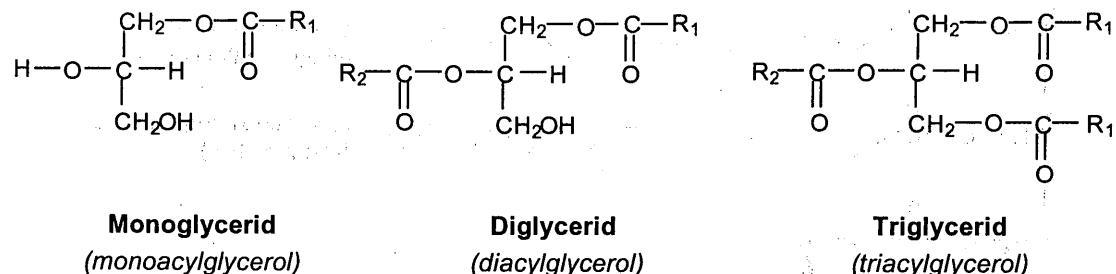
Lipid thuần là những este của acid béo với các alcol khác nhau, bao gồm glycerid, cerid và sterid.

2.1. Glycerid (acylglycerol)

Glycerid có trong hầu hết tổ chức của sinh vật, nhưng có nhiều nhất ở mô mỡ (90%). Glycerid có nguồn gốc động vật và thực vật khác nhau thường khác nhau về thành phần acid béo.

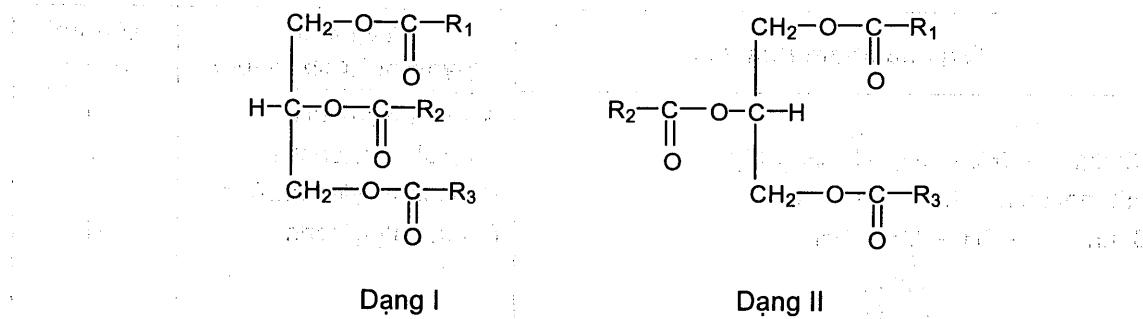
Glycerid là este của glycerol và acid béo, là chất béo trung tính. Tuỳ theo một, hai hay ba nhóm chức alcol của glycerol được este hóa bởi acid béo mà tạo nên mono-, di- hay tri-glycerid. Các acid béo trong phân tử glycerid có thể giống nhau hoặc khác nhau (glycerid thuần nhất hoặc glycerid hỗn hợp). Các triglycerid có chứa cùng một loại acid béo trong phân tử chiếm tỷ lệ rất nhỏ. Tuỳ theo thành phần của acid béo mà glycerid có tên gọi khác nhau, ví dụ:

tristearin là triglycerid có 3 gốc acid béo là acid stearic, 1,2-distearopalmitin là triglycerid có 2 gốc acid stearic ở C₁ và C₂ và 1 gốc acid palmitic.



Hình 2.7. Cấu tạo hóa học của glycerid

Trong tự nhiên, diglycerid và monoglycerid chiếm tỷ lệ rất nhỏ. Triglycerid chứa gốc acid béo ở C₁ và C₃ không giống nhau có thể có 2 dạng đồng phân I và II, phần lớn triglycerid thiên nhiên ở dạng đồng phân II.



Hình 2.8. Hai dạng đồng phân của triglycerid

2.2. Cerid

Cerid là este của acid béo chuỗi dài với alcol có trọng lượng phân tử cao (30-40 carbon). Cerid còn gọi là sáp, có trong động vật (sáp ong, mỡ cá nhà táng,...) và thực vật (lớp mỏng bao phủ lá, thân và quả). Vỏ của một số vi khuẩn cũng chứa sáp (vi khuẩn Kock). Chức phận sinh học của cerid khác nhau tuỳ loài nhưng nói chung cerid giữ vai trò bảo vệ các tổ chức của động vật và thực vật. Có lớp sáp nên vi khuẩn không bị tác dụng bởi acid và alcol. Động vật cao cấp và người không chuyển hóa được cerid.

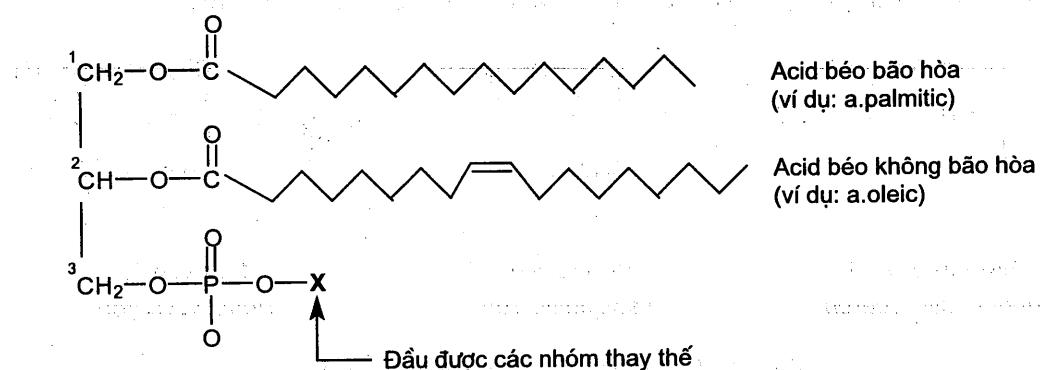
2.3. Sterid

Sterid là este của acid béo với alcol vòng sterol (tiêu biểu là cholesterol). Một số sterid là oleatcholesterol, palmitatcholesterol, stearatcholesterol.

3. LIPID TẠP

Lipid tạp bao gồm acid béo, alcol và những nhóm hóa học khác. Lipid tạp chia thành hai nhóm tuỳ thuộc vào thành phần alcol của chúng: glycerophospholipid có alcol là glycerol và sphingolipid có alcol là sphingosin.

3.1. Glycerophospholipid (glycerophosphatid hay diacylphosphatid)



Hình 2.9. Cấu tạo của acid phosphatidic (X = H)

Bảng 2.3. Các loại glycerophospholipid

Tên của nhóm thay thế	Tên của glycerophospholipid	Điện tích (pH=7)
- H	Acid phosphatidic	-1
Cholin - CH ₂ - CH ₂ - N ⁺ ≡ (CH ₃) ₃	Phosphatidylcholin	0
Ethanolamin - CH ₂ - CH ₂ - NH ₂	Phosphatidylethanolamin	0
Serin - CH ₂ - CH - NH ₂	Phosphatidylserin	-1
Inositol	 Phosphatidylinositol	-1
Glycerol - CH ₂ - CH - CH ₂ - OH	Phosphatidylglycerol	-1
Phosphatidyl glycerol	 Cardiolipin	-2

Glycerophospholipid là dẫn xuất của acid phosphatidic, bao gồm acid phosphatidic, phosphatidylglycerol, phosphatidylcholin (lecithin), phosphatidylethanolamin (cephalin), phosphatidylinositol, phosphatidylserin, plasmalogen.

3.1.1. Acid phosphatidic

Acid phosphatidic là chất trung gian trong quá trình tổng hợp triglycerid và glycerophospholipid nhưng có rất ít trong các mô; thành phần gồm: glycerol, 2 gốc acid béo và 1 gốc acid phosphoric. Chúng là những diacylglycerid trong đó chức alcol ở vị trí C₃ của glycerol được este hóa bởi acid phosphoric. Acid béo gắn ở C₁ thường là acid béo bão hòa và gắn ở C₂ thường là acid béo không bão hòa.

3.1.2. Phosphatidylcholin (Lecithin)

Lecithin là dẫn xuất của acid phosphatidic mà -X là cholin (Bảng 2.3). Lecithin được chiết xuất từ lòng đỏ trứng (năm 1843). Chất này có phổ biến trong các tế bào của cơ thể động vật, đặc biệt trong tế bào gan, não, lòng đỏ trứng.

3.1.3. Phosphatidylethanolamin (Cephalin)

Cephalin khác lecithin ở vị trí -X là ethanolamin. Cũng như lecithin, cephalin có dạng α và dạng β tùy theo phức hợp acid phosphoric ethanolamin được gắn vào carbon α hay carbon β của glycerol. Cephalin được chiết xuất đầu tiên từ não.

3.1.4. Phosphatidylserin

Thành phần cấu tạo của phosphatidylserin có acid amin là serin, acid béo thường là acid stearic và acid oleic. Phosphatidylserin chiếm 5% glycerophospholipid của não. Trong tự nhiên, người ta còn tìm thấy những phospholipid chứa acid amin là threonin.

3.1.5. Phosphatidylinositol

Phosphatidylinositol có trong tổ chức động vật (não) và thực vật (đậu tương, lạc, mầm lúa mì,...). Phân tử phosphatidyl có 6 gốc - OH (Bảng 3) do đó nó mang tính ưa nước.

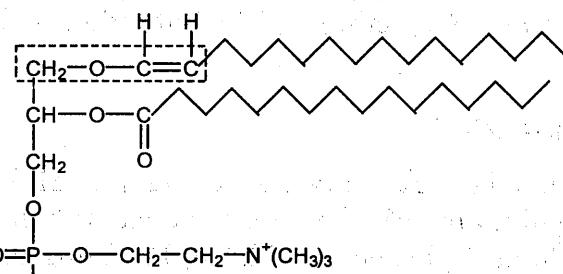
3.1.6. Diphosphatidylglycerol (Cardiolipin)

Chất này là phospholipid có trong ty thể (mitochondria), đặc trưng của màng trong ty thể.

3.1.7. Plasmalogen

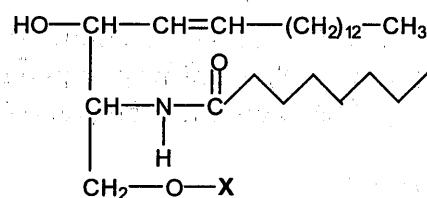
Plasmalogen chiếm khoảng 10% phospholipid của não và cơ. Trong phân tử plasmalogen, vị trí C₁ (α) không phải là liên kết este mà là liên kết ete giữa nhóm -OH của glycerol với một gốc rượu không bão hòa.

3.2. Sphingolipid



Hình 2.10. Plasmalogen

Sphingosin



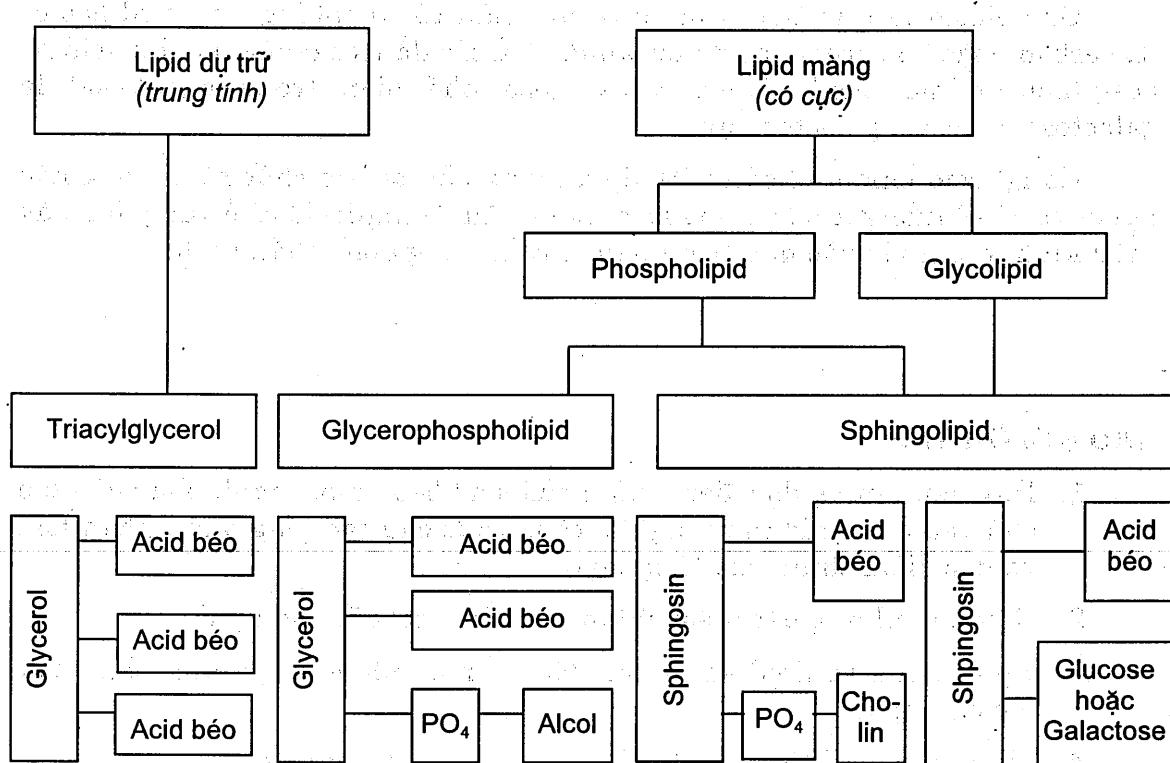
Acid béo

Hình 2.10. Cấu tạo chung của sphingolipid

Bảng 2.4. Các loại sphingolipid

Tên của X	Cấu tạo của X	Tên của sphingolipid
Phosphocholin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{P}(\text{O})_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	Creamid
Glucose		Sphingomyelin
Di-, - tri hoặc tetrasaccard		Glucosylcerbroside
Oligosaccard		Glycolipid Trung tính
		Lactosylceramid
		Gangliosid

Các sphingolipid là thành phần cấu tạo quan trọng của màng tế bào động vật và thực vật, đặc biệt ở mô não và mô thần kinh. Sphingolipid chứa alcol là sphingosin. Sphingosin được nối với acid béo bởi nhóm amin, tạo thành ceramid. Acid béo có thể là acid lignoceric, acid cerebronic. Ceramid là đơn vị cơ bản của sphingolipid và có trong các mô động vật. Những sphingolipid có chứa acid phosphoric trong thành phần cấu tạo (ví dụ: sphingomyelin) được xếp cùng với các lipid tạng có chứa acid phosphoric khác và gọi chung là phospholipid. Những sphingolipid có chứa ose trong phân tử (ví dụ: cerebroside, sulfatid, gangliosid) được xếp thành loại khác, gọi là glycolipid. Các ose phổ biến trong glycolipid là galactose, glucose, galactosamin.



Hình 2.11. Sơ đồ tổng quát về sự phân loại các lipid dự trữ và lipid màng

3.2.1. Sphingomyelin

Sphingomyelin được xếp vào loại phospholipid; được chiết xuất từ phổi, lách, não và tất cả tế bào thần kinh. Sphingomyelin là ceramid mà chức alcol bậc nhất (ở vị trí C₁) liên kết với phosphocholin.

3.2.2. Cerebroside

Phân tử cerebroside gồm: alcol là sphingosin, acid béo cao phân tử và galactose, nhưng không có acid phosphoric. Acid béo trong cerebroside gồm 24 carbon như acid lignoceric, acid cerebronic, acid nervonic, acid hydroxynervonic. Tuỳ theo thành phần acid béo trong phân tử mà cerebroside

có tên khác nhau, ví dụ: kerasin là cerebrosid chứa acid lignoceric, cerebron là cerebrosid chứa acid cerebronic,...

Cerebrosid có chủ yếu ở não và mô thần kinh.

3.2.3. Sulfatid

Sulfatid là dẫn xuất có sulfat của cerebrosid, nhóm sulfat thường gắn vào vị trí C₃ của galactose.

3.2.4. Gangliosid

Gangliosid là glycosylceramid; trong phân tử có sphingosin, acid béo có 22 carbon hoặc 24 carbon, acid neuraminic và các dẫn xuất của nó như acid N-acetylneuraminic (acid sialic), 3 ose (ose phổ biến trong gangliosid là galactose, glucose, galactosamin).

Gangliosid chiếm khoảng 6% lipid màng của tế bào chất xám trong não người và có số lượng ít hơn trong lách, hồng cầu. Gangliosid có ở vùng đầu dây thần kinh, tham gia vào quá trình dẫn truyền xung động thần kinh.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy nêu những đặc điểm chính của acid béo - một thành phần cấu tạo chủ yếu của lipid (định nghĩa, công thức cấu tạo tổng quát, phân loại và đặc điểm chính của từng loại)
2. Hãy nêu những đặc điểm chính của các alcol cấu tạo lipid.
3. Định nghĩa về lipid và những đặc điểm chính về các thành phần cấu tạo của lipid.
4. Phân loại lipid theo cấu tạo hóa học, cho ví dụ từng loại.
5. Thế nào là lipid thuần? Trình bày cấu tạo hóa học và sự phân bố của glycerid, cerid và sterid.
6. Thế nào là lipid tạp? Phân loại lipid tạp và cho ví dụ của từng loại. Vẽ sơ đồ tổng quát về các loại lipid tạp.
7. Cấu tạo hóa học, sự phân bố và vai trò sinh học của các loại glycerophospholipid phổ biến trong cơ thể.
8. Cấu tạo hóa học của sphingolipid và đặc điểm chính của một số sphingolipid phổ biến trong cơ thể người.

Chương 3

HÓA HỌC ACID AMIN, PROTEIN VÀ HEMOGLOBIN

MỤC TIÊU

1. Trình bày được cách phân loại acid amin, viết được công thức cấu tạo của 20 acid amin.
2. Trình bày được các liên kết hóa học trong phân tử protein và các bậc cấu trúc của phân tử protein.
3. Trình bày được tính chất của acid amin, protein và ứng dụng những tính chất này trong nghiên cứu chúng.
4. Trình bày được chức năng của protein.
5. Trình bày được cấu trúc phân tử hemoglobin và myoglobin.
6. Trình bày được những loại hemoglobin ở người bình thường.

Trong các tế bào sống protein là những phân tử hữu cơ phong phú nhất. Có ở mọi tế bào và mọi phần của tế bào. Trong một tế bào cũng có hàng ngàn loại protein, chiếm vào khoảng 50% trọng lượng khô của tế bào. Protein là cơ sở cấu trúc của tế bào, của mô và cũng là cơ sở vật chất của hoạt động sống của mọi cơ thể sống. Protein quy định tính đặc thù của tế bào, đặc thù cá thể và cũng như đặc thù về loài. Phân tử protein có thể được hình thành từ một hay nhiều chuỗi polypeptid. Mỗi chuỗi polypeptid lại gồm nhiều acid amin liên kết với nhau bằng các liên kết peptid. Acid amin là đơn vị cấu tạo nên peptid và protein.

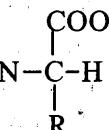
1. ACID AMIN

1.1. Cấu tạo acid amin

Định nghĩa acid amin: acid amin là những chất hữu cơ trong phân tử có hai nhóm chức chính là nhóm carboxyl và nhóm amin, cùng gắn với carbon alpha (C_α).

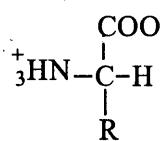
Ở tại pH 7 các acid amin ở dạng ion.

Công thức tổng quát:

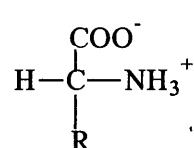


Trừ prolin, còn tất cả các acid amin có cấu tạo chung như trên và chỉ khác nhau ở gốc R. Thành phần gốc R đơn giản nhất là H, hoặc chỉ là gốc hydrocacbon, hoặc còn có thêm nhóm chức: -SH, -OH, -NH₂, -COOH.

- Ký hiệu: α cho carbon có liên kết với 2 nhóm chức chính, tiếp theo là β ...
- Trong tự nhiên có 20 acid amin thường gặp đều có đồng phân quang học (trừ glycine):



L-acid amin



D-acid amin

Các acid amin trong tự nhiên thường gặp ở dạng đồng phân L.

1.2. Phân loại acid amin

Dựa vào cấu tạo gốc R để phân 20 acid amin cơ bản thành các nhóm. Có hai cách phân loại:

Cách 1: 20 acid amin được phân thành 5 nhóm

- Nhóm 1: các acid amin có gốc R không phân cực kỳ nước, thuộc nhóm này có 6 acid amin: Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P).
- Nhóm 2: các acid amin có gốc R là nhân thơm, thuộc nhóm này có 3 acid amin: Phe (F), Tyr (Y), Trp (W).
- Nhóm 3: các acid amin có gốc R base, tích điện dương thuộc nhóm này có 3 acid amin: Lys (K), Arg (R), His (H).
- Nhóm 4: các acid amin có gốc R phân cực, không tích điện, thuộc nhóm này có 6 acid amin: Ser (S), Thr (T), Cys (C), Met (M), Asn (N), Gln (Q).
- Nhóm 5: các acid amin có gốc R acid, tích điện âm, thuộc nhóm này có 2 acid amin: Asp (D), Glu (E).

Cách 2: 20 acid amin được chia thành 2 nhóm:

- Acid amin mạch thẳng và acid amin mạch vòng.

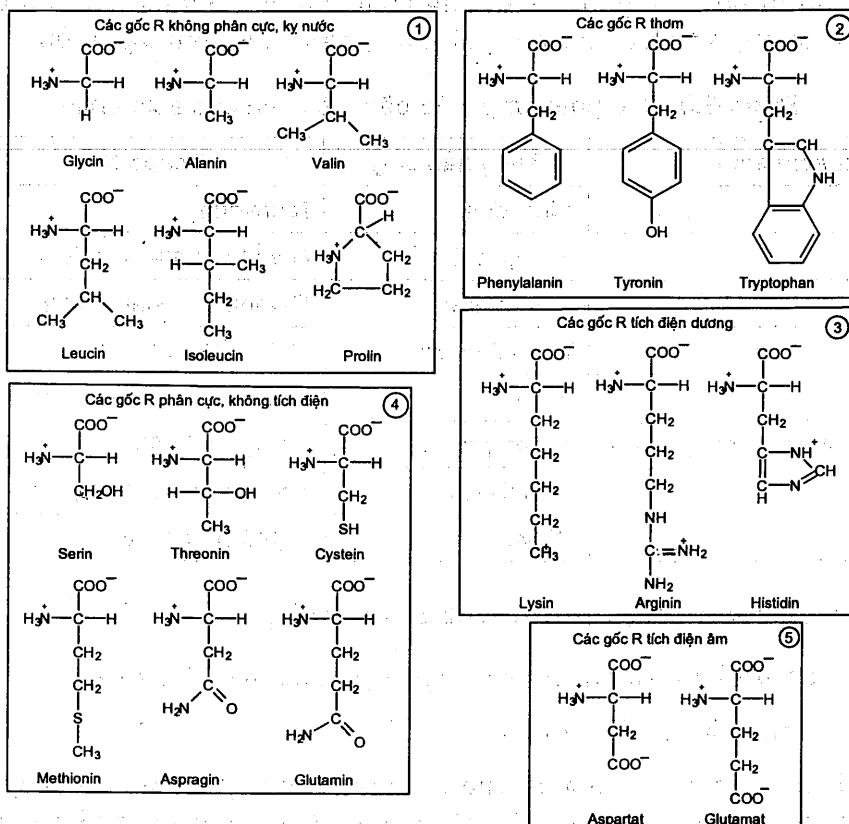
Trong nhóm acid amin mạch thẳng lại phân thành dưới nhóm tuỳ thuộc vào số lượng nhóm $-\text{NH}_2$ và $-\text{COOH}$ mà có các acid amin trung tính, acid amin acid và acid amin base. Trong nhóm các acid amin mạch vòng chia thành acid amin nhân thơm và acid amin dị vòng

Một số acid amin ít gặp: trên thực tế trong cấu tạo protein ngoài 20 acid amin thường gặp còn có dẫn xuất của acid amin: hydroxyprolin, hydroxylysin thấy ở collagen của mô liên kết. Trong thành phần prothrombin có γ -carboxyglutamat. Ngoài ra trong cơ thể có một số acid amin không tham gia cấu tạo protein mà có vai trò quan trọng trong chuyển hóa acid amin, protein: ornitin, citrulin.

Bảng 3.1. Phân loại - kí hiệu, trọng lượng phân tử (TLPT) và pI của 20 acid amin thường gặp

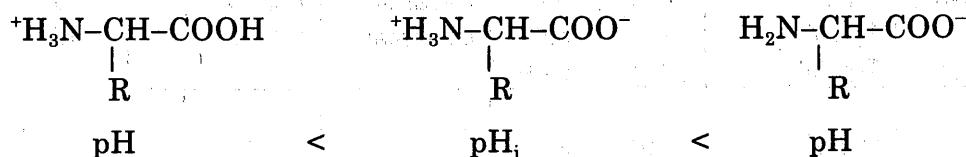
Acid amin	Tên viết tắt	TLPT	pI	Acid amin	Tên viết tắt	TLPT	pI
Nhóm 1				Nhóm 4			
Glycin	Gly, G	75	5,97	Serin	Ser, S	105	5,68
Alanin	Ala, A	89	6,01	Threonin	Thr, T	119	5,87
Valin	Val, V	117	5,97	Cystein	Cys, C	121	5,07
Leucin	Leu, L	131	5,98	Methionin	Met, M	149	5,74
Isoleucin	Ile, I	131	6,02	Asparagin	Asn, N	132	5,41
Prolin	Pro, P	115	6,48	Glutamin	Gln, Q	146	5,65
Nhóm 2				Nhóm 5			
Phenylalanin	Phe, F	165	5,48	Aspartat	Asp, D	133	2,77
Tyrosin	Tyr, Y	181	5,66	Glutamat	Glu, E	147	3,22
Tryptophan	Trp, W	204	5,89				
Nhóm 3							
Lysin	Lys, K	146	9,74				
Arginin	Arg, R	174	10,76				
Histidin	His, H	155	7,59				

Bảng 3.2. Công thức của 20 acid amin thường gặp.



1.3. Tính chất của acid amin

Các acid amin dễ tan trong nước, không tan trong ete, ít tan trong alcol. Các acid amin thể hiện tính chất của nhóm α amin, có thể phản ứng với HNO_2 (Van Slyke). Cũng có tính chất của nhóm α carboxyl là phản ứng tạo muối khi tác dụng với kiềm và phản ứng este hóa khi tác dụng với alcol. Đồng thời acid amin cũng có tính chất của 2 nhóm chức có thể tạo liên kết peptid hoặc thể hiện tính chất lưỡng tính. Ở các pH khác nhau acid amin thể hiện tính acid hoặc base hoặc lưỡng tính. Ở pH môi trường mà acid amin trung hoà về điện hay còn gọi dạng lưỡng tính, pH này được gọi là pH_i (pH đẳng điện) hay p_i (điểm đẳng điện) của acid amin. Khi pH môi trường nhỏ hơn pH_i , acid amin tích điện dương. Khi pH môi trường lớn hơn pH_i , acid amin tích điện âm.



Vì vậy muốn phân tích acid amin có thể dựa vào một số đặc điểm của acid amin như: sự tích điện của acid amin, khả năng hấp thụ ánh sáng, các phản ứng màu, sự hòa tan khác nhau trong các dung môi. Dựa vào những tính chất này người ta tiến hành xác định điểm đẳng điện bằng phương pháp chuẩn độ. Có thể tiến hành phương pháp đo quang hoặc phương pháp điện di hoặc phương pháp sắc ký để phân tích acid amin. Một số phản ứng màu đặc hiệu:

Bảng 3.3. Các phản ứng màu đặc hiệu của các acid amin

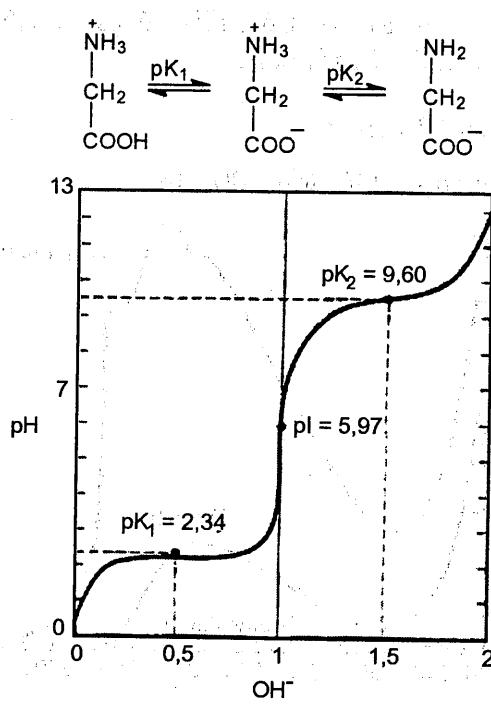
Tên acid amin	Tên phản ứng	Thuốc thử	Màu
Acid amin	Ninhydrin	Ninhydrin	Xanh
Arginin	Sakaguchi	Naphtol, Natrihypoclorid	Đỏ
Cystein	Nitroprosiat	Natrinitroprosiat/ NH_2OH	Đỏ
Cystein	Tạo sulfur chì	Chì acetat/NAOH	Xám
Histidin	Pauly	Acid diazo sulfanilic/ kiềm	Đỏ
Tyrosin, Tryptophan, Phenylalanin	Xanthoprotein	HNO_2 , nhiệt độ sôi	Vàng
Tyr, Trp	Adamkievicz	Acid glycosylic/ $\text{H}_2\text{SO}_4\text{36N}$	Đỏ tím
Tyrosin	Millon	$\text{HgNO}_3/\text{HNO}_3$ nóng	Đỏ

1.4. Một số phương pháp phân tích acid amin

1.4.1. Phương pháp chuẩn độ xác định pI của acid amin

- Đường cong chuẩn độ của Gly

Tất cả các acid amin có một nhóm α amin và một nhóm cacboxyl và gốc R không ion hóa có đường cong chuẩn độ tương tự glycine nhưng không đồng nhất về giá trị pK_1 và pK_2 . Các giá trị pK_1 từ 1,8 đến 2,4, còn pK_2 từ 8,8 đến 11.

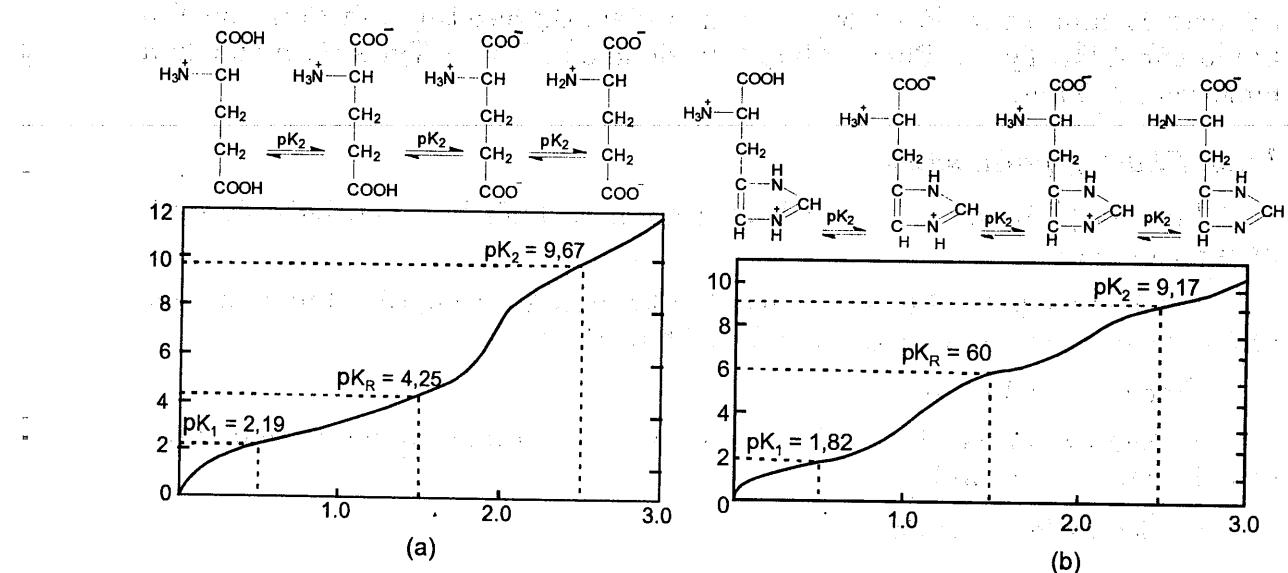


Hình 3.1. Đường cong chuẩn độ của glycin 0,1M tại 25°C

$$pK_1 + pK_2$$

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

– Đường cong chuẩn độ các acid amin có gốc R có thể ion hóa: Glu, His.



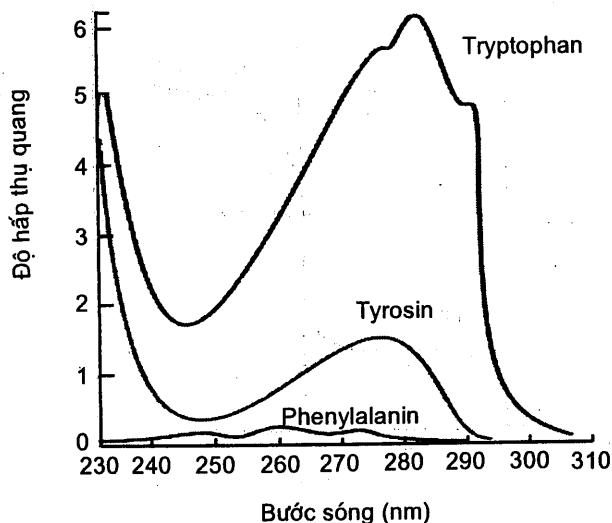
Hình 3.2. Các đường cong chuẩn độ
a. Glutamat b. Histidin

Các acid amin có gốc R có thể ion hóa đường cong chuẩn độ phức tạp hơn. Có 3 bước ion hóa với 3 giá trị khác nhau. Bước 3 là sự chuẩn độ của gốc R ion hóa như Glu, His. điểm đẳng điện của các acid amin phản ánh sự hiện diện của các gốc bị ion hóa: pI của Glu là 3,22. Giá trị này là trung bình của 2 nhóm

carboxyl, nên Glu tích điện -1 và $+1$ của nhóm amin. Còn His có pI là $7,59$. Giá trị này là trung bình của nhóm amin và nhân imidazon.

1.4.2. *Khả năng hấp thụ ánh sáng của acid amin*

Trp, Tyr, Phe hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 240 đến 280 nm.



Hình 3.3. Phổ hấp thụ tử ngoại của tryptophan, tyrosin và phenylalanin

So sánh khả năng hấp thụ ánh sáng của các acid amin nhân thơm tại pH $6,0$, các acid có cùng nồng độ $10^{-3}M$, cùng điều kiện. Sự hấp thụ ánh sáng của Trp nhiều gấp 4 lần Tyr và Phe. Sự hấp thụ tối đa của Trp và Tyr xuất hiện ở gần bước sóng 280 nm.

1.4.3. *Phương pháp sắc ký*

Phương pháp sắc ký để tách acid amin ra khỏi hỗn hợp hoặc để định lượng acid amin.

- Sắc ký trên giấy, dựa vào sự hoà tan khác nhau trong các dung môi khác nhau các acid amin di chuyển với tốc độ khác nhau.
- Sắc ký trao đổi ion:
 - + Sắc ký cột: có thể sử dụng nhựa trao đổi anion (anionid) hoặc nhựa trao đổi cation (cationid).
 - + Sắc ký lỏng cao áp

2. PEPTID

2.1. Một số khái niệm về peptid

- Định nghĩa peptid: peptid là những hợp chất gồm những acid amin liên kết với nhau bằng những liên kết peptid.
- Tuỳ theo số lượng acid amin mà có tên gọi như: dipeptid gồm 2 acid amin, tripeptid gồm 3 acid amin..., oligopeptid gồm hàng chục acid amin và

khi có nhiều acid amin được gọi là polypeptid. Những acid amin trong peptid gọi là các gốc acid amin.

– Cách đánh số của chuỗi peptid: số 1 dành cho gốc acid amin còn nhóm α amin, gốc acid amin này còn gọi là acid amin N tận. Số n dành cho acid amin còn nhóm α carboxyl, gốc acid amin này còn gọi acid amin C tận.

2.2. Một số peptid có hoạt tính sinh học

– Trong cơ thể có nhiều peptid nhỏ có những chức năng sinh lý, sinh hóa quan trọng. Một số ví dụ về những peptid có hoạt tính sinh học:

Bảng 3.4. Một số peptid có hoạt tính sinh học

Tên peptid	Số lượng aa	Chức năng
Vasopressin (ADH)	9	Tái hấp thu nước ở ống thận
Methionin - encephalin	5	Ức chế cảm giác đau
Gastrin nhỏ	17	Kích thích dạ dày bài tiết HCl
Glucagon	29	Tăng glucose máu
Brakinin huyết tương bò	9	Peptid gây giãn mạch.
Chất P	10	Chất dẫn truyền thần kinh.

Trong điều kiện nội bào các liên kết peptid hoàn toàn ổn định vì nồng lượng hoạt hóa cao. Sự tích điện của peptid phụ thuộc vào các gốc acid amin và phụ thuộc pH như các acid amin nên có thể chuẩn độ. pH của môi trường mà ở đó peptid không di chuyển trong điện trường gọi là pH_i của peptid. Các liên kết peptid có thể được thuỷ phân bởi các enzym peptidase có trong mọi tế bào và các mô. Khi đun sôi với acid mạnh (HCl 6M) hoặc base mạnh (ở 110°C từ 18-36h) peptid bị thuỷ phân thành các acid amin.

3. PROTEIN

Protein là tên gọi cho những phân tử có trên 50 acid amin. Người ta có thể phân loại protein tùy theo cấu tạo hoặc theo hình dạng

3.1. Phân loại protein

3.1.1. Phân loại theo cấu tạo

– Protein thuần (protein đơn giản).

Protein thuần là các protein khi thuỷ phân cho các acid amin thường gấp, đó là các protein như albumin, globulin, histon.

– Protein tạp (protein liên hợp).

Trong thành phần ngoài acid amin còn có những chất không phải là acid amin. Thành phần không phải là acid amin gọi là nhóm ngoại. Nhóm ngoại có thể là glucid, lipid, acid nucleic, kim loại...

3.1.2. Phân loại theo hình dạng

- **Protein cầu:** là những protein có kích thước chiều dài /kích thước ngang nhỏ hơn 10. Thuộc nhóm này là các protein enzym và những protein huyết thanh.
- **Protein sợi:** là những protein có kích thước dài / kích thước ngang lớn hơn 10 như keratin của tóc, móng vuốt và collagen của tổ chức liên kết.

3.2. Cấu trúc phân tử protein

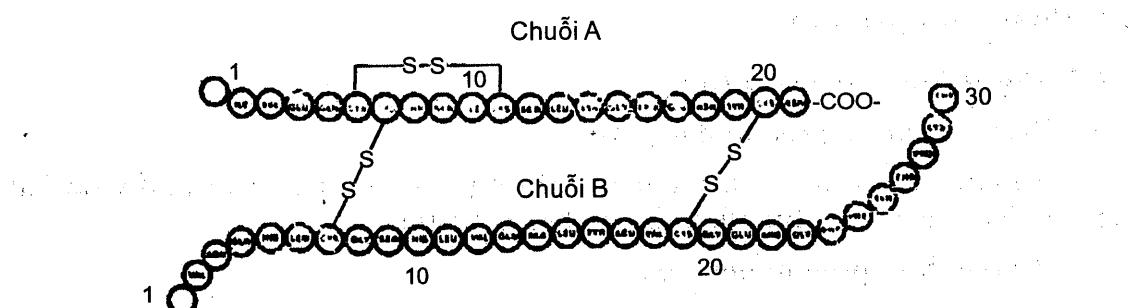
3.2.1. Các liên kết hóa học trong phân tử protein

- Liên kết peptid (-CO-NH-)
- Liên kết disulfur (-S-S-): liên kết giữa hai nhóm -SH của hai cystein loại đi hai hydro. Hai Cys có thể trong một chuỗi polypeptid hoặc của hai chuỗi polypeptid khác nhau.
- Liên kết hydro: liên kết hydro giữa H của nhóm Imin (-NH-) và O của nhóm carbonyl (-CO-) trên cùng chuỗi hoặc khác chuỗi polypeptid.
- Liên kết ion: là lực hút tĩnh điện giữa các nhóm -COO^- của các acid amin acid với nhóm -NH_3^+ của các acid amin kiềm trong chuỗi polypeptid.
- Tương tác ky nước của các chuỗi bên: giữa các gốc hydrocarbua: phenyl, methyl, isobutyl,... Lực tương tác giữa các chuỗi bên là lực Van der walls.

3.2.2. Các bậc cấu trúc của phân tử protein

3.2.2.1. Cấu trúc bậc 1

Cấu trúc bậc 1 của protein là số lượng, thành phần và trật tự sắp xếp các acid amin trong chuỗi polypeptid của phân tử protein. Các liên kết peptid quyết định cấu trúc bậc 1. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc bậc 1 là phương pháp hóa học. Ví dụ Insulin có 51 aa gồm 2 chuỗi: chuỗi A có 21 acid amin, chuỗi B có 30 acid amin. Giữa các loài khác nhau ở vị trí A8, A9, A10 và B30. Trong phân tử Insulin có những liên kết disulfur là những liên kết bên trong chuỗi.



Hình 3.4. Trật tự các acid amin trong Insulin ở người

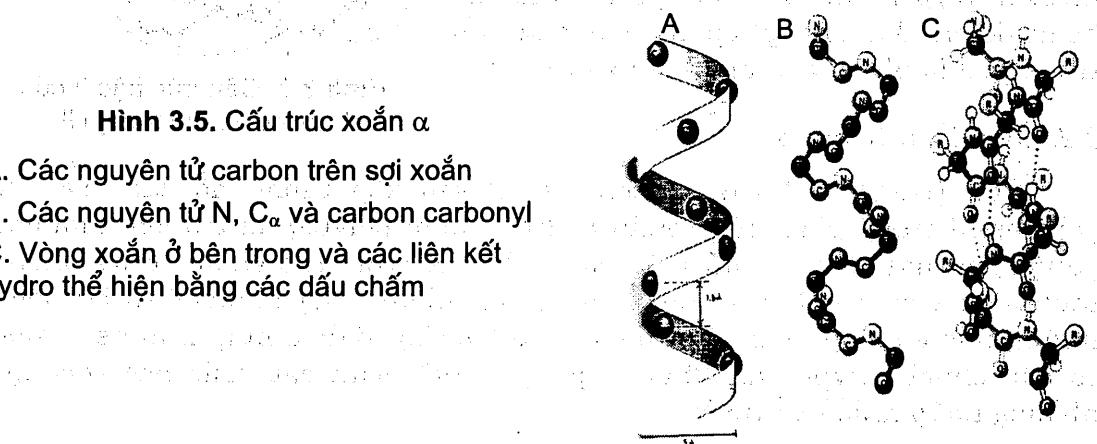
3.2.2.2. Cấu trúc bậc 2

Cấu trúc bậc 2 của protein, là sự xoắn một cách đều đặn hoặc sự gấp nếp một cách có chu kỳ của chuỗi polypeptid trong phân tử protein. Cấu trúc bậc 2 do các liên kết hydro quyết định. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc bậc 2 là phương pháp nhiễu xạ tia X.

- Cấu trúc xoắn α : protein có cấu trúc xoắn α là α -keratin. Cấu trúc này được ổn định nhờ liên kết hydro giữa nhóm $-NH-$ và nhóm $-CO-$ của các acid amin trong cùng một chuỗi polypeptid. Cấu trúc xoắn có đặc điểm là cứ một vòng xoắn 360° thì có 3,6 gốc acid amin, do nhóm $-NH-$ của acid amin thứ nhất liên kết với nhóm $-CO-$ của acid amin thứ tư tạo ra, xoắn có thể theo chiều phải hoặc xoắn trái. Nhưng xoắn phải thường ổn định hơn xoắn trái.

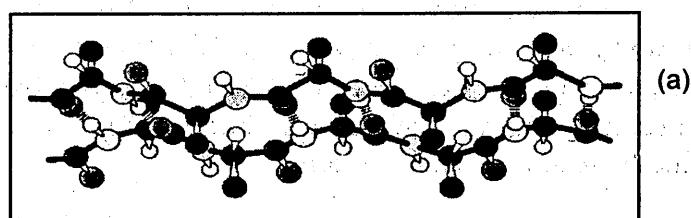
Hình 3.5. Cấu trúc xoắn α

- A. Các nguyên tử carbon trên sợi xoắn
- B. Các nguyên tử N, C_α và carbon carbonyl
- C. Vòng xoắn ở bên trong và các liên kết hydro thể hiện bằng các dấu chấm

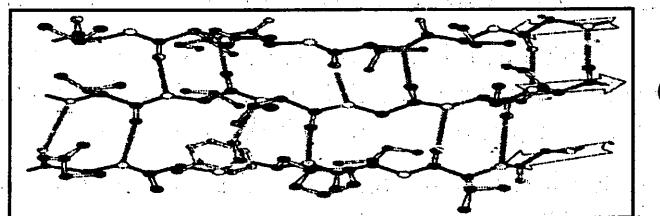


- Cấu trúc gấp nếp β : protein có cấu trúc gấp nếp β điển hình là β keratin của tóc. Cấu trúc gấp nếp β được ổn định bởi những liên kết hydro giữa hai chuỗi polypeptid. Các chuỗi polypeptid trong cấu trúc β có thể là song song hoặc đối song với chuỗi bên, Nhiều liên kết hydro trong các chuỗi tạo ra những nếp gấp. Trong cấu trúc này các nhóm bên ở trên hoặc dưới mặt phẳng.

Hình 3.6. (a) Hai chuỗi polypeptid trong cấu trúc gấp nếp β



(b) Cấu trúc β đối song



3.2.2.3. Cấu trúc bậc 3

Cấu trúc bậc 3 là cấu trúc không gian ba chiều của phân tử protein. Trong cấu trúc này có sự liên quan giữa các đoạn xa trong cấu trúc bậc 1, cũng như sự liên quan giữa các nhóm bên với nhau trong không gian ba chiều. Chuỗi polypeptid vừa xoắn vừa gấp khúc một cách dày đặc và phức tạp. Cấu trúc bậc 3 được quyết định bởi liên kết disulfua, liên kết ion, tương tác kỵ nước. Những protein có cấu trúc bậc 3 điển hình là myosin, trypsin và các chuỗi polypeptid của hemoglobin. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc bậc 3 là phương pháp nhiễu xạ tia X.

3.2.2.3. Cấu trúc bậc 4

Cấu trúc bậc 4 của protein là sự sắp xếp tương hỗ của các chuỗi polypeptid trong phân tử protein có từ 2 chuỗi polypeptid trở lên. Mỗi chuỗi polypeptid này đều có cấu trúc bậc 2, bậc 3. Giữa các chuỗi trong phân tử protein có cấu trúc bậc 4 được liên kết với nhau bằng những liên kết ion và những tương tác kỵ nước. Protein có cấu trúc bậc 4 điển hình như hemoglobin có bốn chuỗi polypeptid. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc bậc 4 cũng là phương pháp nhiễu xạ tia X.

3.3. Tính chất lý hóa của protein

3.3.1. Tính chất lưỡng tính và pH đẳng điện của protein

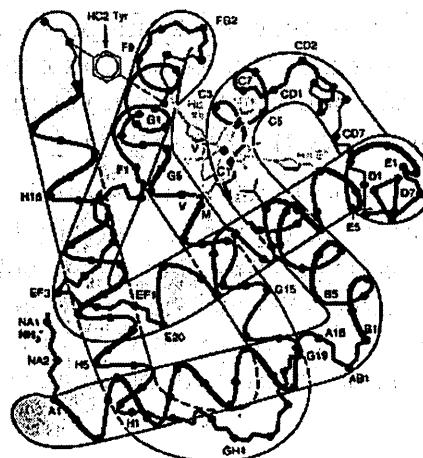
– Tính chất của protein phụ thuộc vào thành phần các acid amin cấu tạo nên protein. Nếu tổng Lys + tổng Arg/tổng Glu + tổng Asp: lớn hơn 1 protein có tính base, còn nếu nhỏ hơn 1 protein có tính acid.

– Sự tích điện của protein phụ thuộc vào pH của môi trường. pH môi trường mà ở đó protein có tổng điện tích âm bằng tổng điện tích dương, gọi là pH_i của protein và protein không di chuyển trong điện trường. Ứng dụng tính chất này để phân tích protein bằng những phương pháp như: điện di, sắc ký ái lực hoặc sắc ký trao đổi ion.

3.3.2. Tính chất hòa tan, kết tủa và biến tính

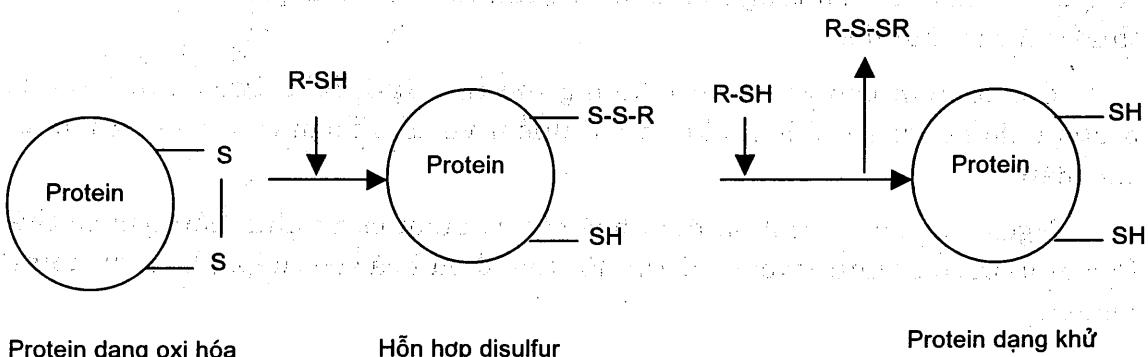
– Tính chất hòa tan: trong nước các protein tồn tại dưới dạng keo, đa số protein tan trong dung dịch muối loãng. Protein tan được nhờ có lớp áo nước và các tiểu phân protein tích điện cùng dấu.

– Sự kết tủa protein: khi làm mất lớp áo nước và trung hòa điện tích của protein thì protein sẽ bị kết tủa.



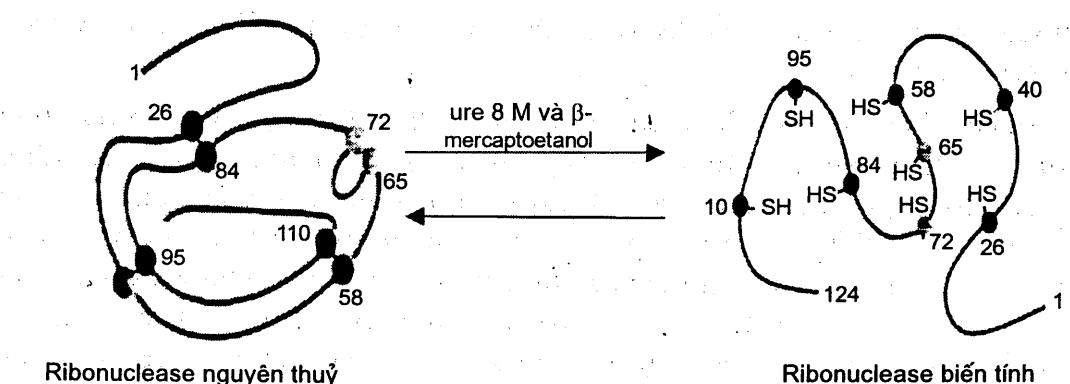
Hình 3.7. Cấu trúc bậc 3 của chuỗi polypeptid trong Hb.

- **Sự biến tính protein:** protein bị biến tính khi thay đổi hoặc đảo lộn cấu trúc bậc 2, bậc 3, bậc 4. Các liên kết trong phân tử protein bị đứt trừ liên kết peptid. Tính chất lý hóa của protein như độ nhớt, độ hòa tan bị thay đổi. Hoạt tính sinh học của protein giảm hoặc mất. Những nguyên nhân gây biến tính protein có thể là nhiệt độ cao, áp suất cao, tia tử ngoại hoặc các yếu tố hóa học như acid mạnh, kiềm mạnh và muối kim loại nặng. Sau khi loại bỏ những nguyên nhân gây biến tính mà protein không trở lại trạng thái ban đầu được gọi là biến tính không thuận nghịch. Còn nếu protein trở lại trạng thái như cũ hoặc ở mức độ nào đó gọi là biến tính thuận nghịch. Ví dụ như enzym ribonuclease là một chuỗi polypeptid có 124 gốc acid amin. Bốn liên kết disulfur có thể bị bẻ gãy thuận nghịch bằng β -mecaptoetanol. Có thể hình thành hồn hợp với cystein của chuỗi ngoài (hình 3.8).



Hình 3.8. Sự khử các liên kết disulfur trong protein bằng các thuốc thử có nhóm-SH như β -mecaptoetanol ($\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH}$)

- Nếu sử dụng dư β -mecaptoetanol thì hỗn hợp disulfur bị khử hoàn toàn và sản phẩm cuối cùng của protein biến đổi thành sulfur. Mặc dù các cơ chế hoạt động của các chất này chưa được hiểu hoàn toàn nhưng rõ ràng chúng làm đứt các liên kết không đồng hóa trị. Khi ribonuclease với β -mecaptoetanol trong dung dịch ure 8M chuỗi polypeptid mất cấu trúc xoắn và mất hoạt tính enzym (enzym bị biến tính). Khi nghiên cứu trên ribonuclease bị biến tính bằng loại bỏ ure và β -mecaptoetanol thì các liên kết disulfur của enzym biến tính bị oxy hóa trở lại bởi không khí. Cấu trúc xoắn gấp trở lại và hoạt tính xúc tác của enzym được phục hồi (hình 3.9).



Hình 3.9. Sự khử và quá trình biến tính thuận nghịch của ribonuclease

3.4. Chức năng của protein

Protein đảm nhận nhiều chức năng quan trọng trong cơ thể. Có thể sắp xếp thành 2 nhóm: protein chức năng và protein cấu trúc.

3.4.1. Những protein chức năng

- Các protein enzym xúc tác các phản ứng biến đổi các cơ chất thành sản phẩm.
- Các protein vận chuyển: hemoglobin vận chuyển oxy trong máu, transferin vận chuyển sắt, ceruloplasmin vận chuyển đồng, protein vận chuyển hormon từ nơi tổng hợp đến cơ quan đích; một số protein vận chuyển thuốc và các chất độc.
- Các protein bảo vệ như các kháng thể IgA, IgE, IgM, IgG. Interferon là protein chống lại sự nhiễm khuẩn và nhiễm virus. Fibrin có tác dụng làm co cục máu.
- Ngoài ra còn có protein điều hoà các cơ quan cũng như điều hoà cơ thể. Các protein co cơ như myosin, actin. Protein điều hoà sao chép, phiên dịch như histon.

3.4.2. Những protein cấu trúc

Những protein tham gia cấu tạo mô liên kết, hình thành khung xương, cấu tạo cơ thể người như collagen, elastin.

3.5. Một số phương pháp nghiên cứu protein

Dựa vào tính chất tích điện của protein để tiến hành tách protein khỏi hỗn hợp, tinh chế protein hoặc định lượng protein:

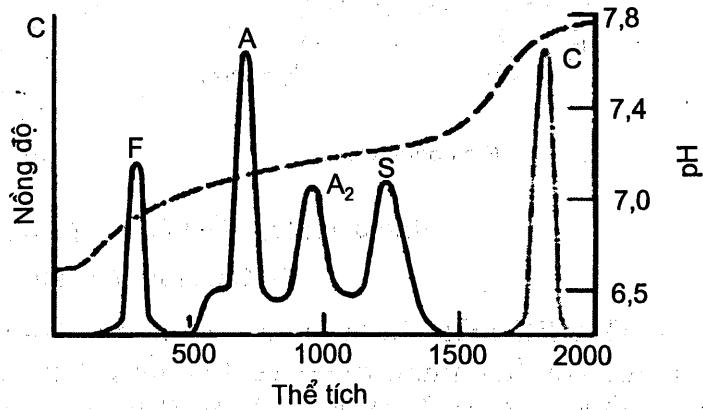
- Kết tủa protein bằng những dung dịch muối trung tính có nồng độ khác nhau.
- Điện di protein trên giấy hoặc trên polyacrylamid.
- Sắc ký trao đổi ion: sắc ký trên nhựa trao đổi cation hoặc sắc ký trên nhựa trao đổi anion.

Trao đổi ion trong sắc ký cột là kỹ thuật tách và làm sạch các protein dựa vào sự tích điện. Những nhựa trao đổi ion là các chất liệu không tan như: agarose, polyacrylamid, cellulose, và thuỷ tinh. Các chất này tích điện âm ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{SO}_3^-$) hoặc tích điện dương (diethylamino) liên kết đồng hóa trị với nhựa không tan. Các nhựa tích điện âm kết hợp chặt chẽ với các cation và gọi là các nhựa trao đổi cation (cation - exchange resins). Tương tự các nhựa tích điện dương kết hợp chặt chẽ với các anion được coi là các nhựa trao đổi anion (anion- exchange resins). Tốc độ di chuyển của protein hoặc acid amin

bằng nhựa phụ thuộc vào sự tích điện của chúng tại pH thí nghiệm. Những phân tử có cùng điện tích với nhựa sẽ được loại đầu tiên. Sau đó là các protein tích điện trái dấu với nhựa. Sắc ký trao đổi ion:

- Hai chất tích điện được sử dụng trong sắc ký trao đổi ion.
- $R-CH_2-COO^-$: Carboxymethyl (chất tích điện âm).
- $R-N^+H-(C_2H_5)_2$: Diethylamino (chất tích điện dương)
- Sắc ký trao đổi ion của hỗn hợp hemoglobin F, A₁, A₂, S, và C trên carboxymethyl-Sephadex C-50.

Hình 3.10. Đồ thị tách hỗn hợp hemoglobin F, A₁, A₂, S và C trên carboxymethyl -Sephadex C - 50



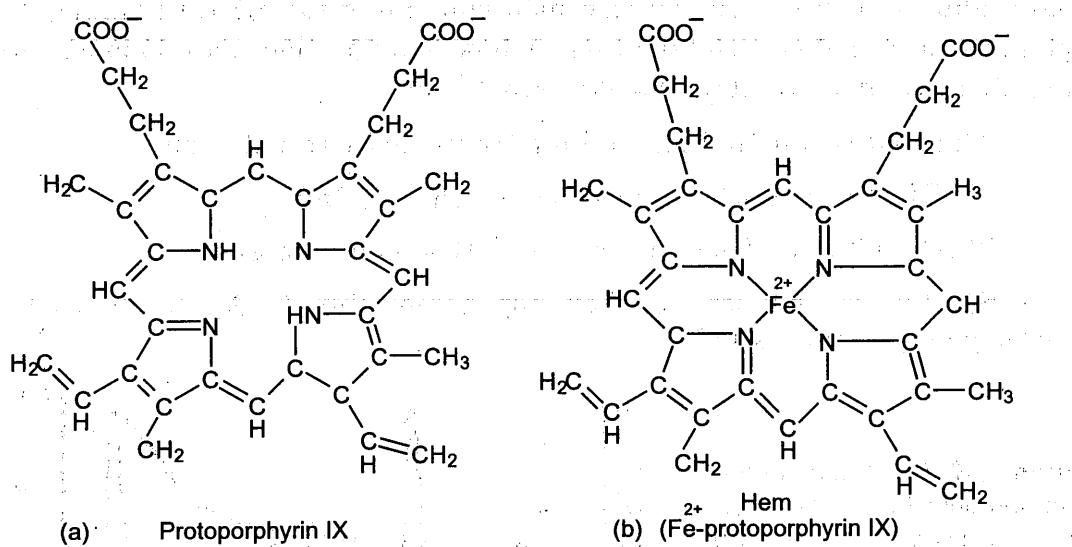
4. HEMOGLOBIN

Hemoglobin là một protein tạp, có nhóm ngoại là hem. Hemoglobin đảm nhận nhiều chức năng sinh học quan trọng: vận chuyển O₂ và CO₂. Hemoglobin cũng là một trong các hệ đệm quan trọng của cơ thể.

4.1. Cấu trúc phân tử hemoglobin

Hemoglobin có nhóm ngoại là hem và protein là globin. Ngoài ra còn có phân tử 2,3-DPG.

- HEM: hem được cấu tạo từ protoporphyrin IX gắn với ion Fe⁺⁺. Protoporphyrin hình thành từ porphin. Phân tử porphin gồm 4 vòng pyrol liên kết với nhau qua 4 cầu metylen, được ký hiệu bởi những chữ cái α, β, γ, δ. Các vòng pyrol này được đánh số la mã từ I, II, III, IV. Ở 8 vị trí trên phân tử porphin được thế bởi các nhóm thế sau: methyl (M), ethyl (E), vinyl (V), acetat (A), propionat (P). Khi thế các nhóm thế trên vào 8 vị trí của porphin ta có phân tử porphyrin. Trong cơ thể sống chủ yếu là protoporphyrin IX. Sự gắn Fe⁺⁺ vào vị trí trung tâm phân tử protoporphyrin IX, Fe⁺⁺ liên kết với 4 nguyên tử nitơ nằm trên mặt phẳng của vòng porphyrin, tạo thành hem.



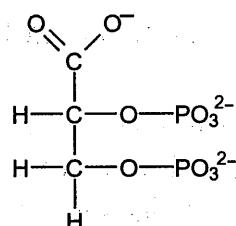
Hình 3.11: (a) Cấu trúc của protoporphyrin IX.

(b) Cấu trúc của hem

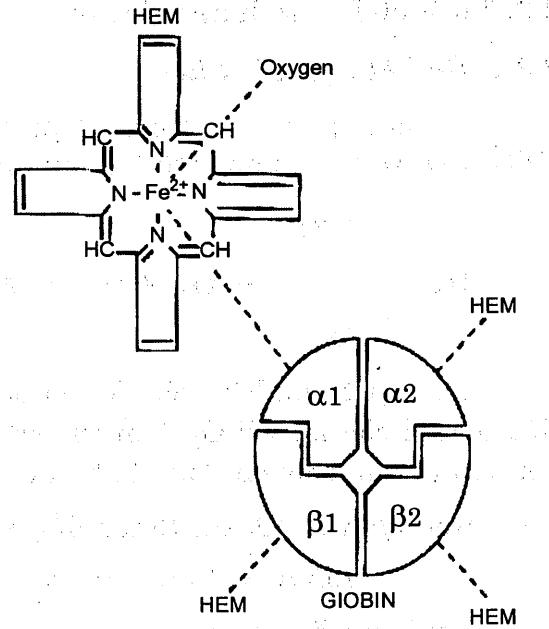
– GLOBIN: Globin là phần protein của Hb và quyết định đặc tính chủng loài của Hb. Mỗi phân tử Hb có 4 chuỗi polypeptid. Mỗi chuỗi có 8 đoạn xoắn được ký hiệu A, B, C, D, E, F, G, H. Giữa các đoạn xoắn là những đoạn không xoắn được gọi theo tên ghép của các đoạn xoắn trước và sau ví dụ như đoạn giữa hai đoạn xoắn A và đoạn xoắn B được kí hiệu là AB. Mỗi chuỗi globin có cấu trúc bậc 2, 3. Các chuỗi liên kết với nhau tạo ra phân tử hemoglobin.

– 2,3-DPG được tạo ra trong thoái hóa glucose. Lượng 2,3-DPG đặc biệt cao trong hồng cầu, có tác dụng làm giảm ái lực của Hb với oxy.

Công thức cấu tạo của 2,3-DPG



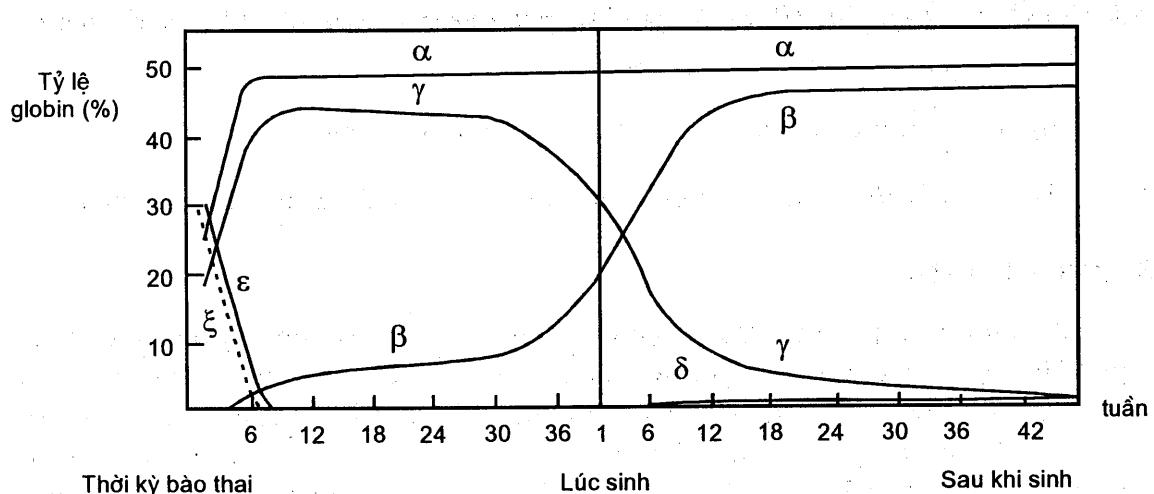
– Phân tử Hb gồm 4 tiểu đơn vị, mỗi tiểu đơn vị gồm 1 hem gắn với 1 chuỗi polypeptid hoặc α hoặc β. TLPT của Hb là 64.000. Phân tử 2,3-DPG nằm ở vị trí trung tâm của phân tử Hb theo tỷ lệ 1:1 về mol. Phân tử 2,3-DPG liên kết muối với 2 chuỗi β. Phân tử Hb có cấu trúc bậc 4.



Hình 3.12. Cấu trúc của phân tử Hb A

4.2. Một số hemoglobin ở người

- HbA₁: $\alpha_2^A \beta_2^A$ chiếm 98% tổng lượng hemoglobin ở người trưởng thành. Phân tử HbA₁ có 2 chuỗi α , mỗi gồm 141 acid amin và 2 chuỗi β , mỗi chuỗi gồm 146 acid amin.
- HbA₂: $\alpha_2^A \delta_2^A$ chiếm khoảng 2% tổng lượng Hb. Khi điện di trên giấy HbA₂ chạy chậm hơn HbA₁.
- HbF: $\alpha_2^A \gamma_2^F$, được hình thành từ thời kỳ bào thai. Khi mới sinh HbF chiếm 80% tổng lượng hemoglobin. Sau đó giảm dần. Sau 2, 3 tháng còn lại khoảng 50%, đến 1 tuổi chỉ còn dưới 0,5%.

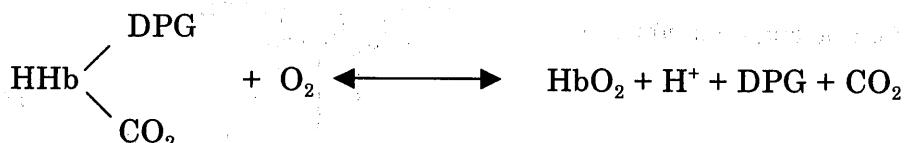


Hình 3.13. Những thay đổi của sự tạo thành chuỗi globin trong quá trình phát triển

4.3. Tính chất của hemoglobin

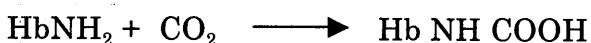
4.3.1. Sự kết hợp với khí

- Sự kết hợp với oxy: Hb kết hợp thuận nghịch với O₂ và phụ thuộc vào H⁺, DPG, CO₂ và t⁰. Phương trình phản ứng có thể viết tóm tắt sau:



Khi một trong bốn tiểu đơn vị đã gắn với oxy sẽ làm tăng ái lực của các tiểu đơn vị còn lại với O₂, làm cho sự kết hợp dễ dàng hơn. Một phân tử Hb kết hợp và vận chuyển được 4 phân tử O₂.

- Kết hợp với CO₂ tạo thành dẫn xuất carbamin:



- Kết hợp với CO: tạo thành carboxy hemoglobin:



Ai lực của CO với Hb mạnh gấp 210 lần so với ai lực của O₂

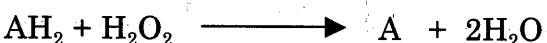
4.3.2. Sự oxy hóa Hb

Một số chất oxy hóa như nitrit, clorat, ferricyanua có khả năng oxy hóa Hb thành MetHb:



Methemoglobin không có khả năng vận chuyển O₂.

4.3.3. Tính chất enzym Hb có hoạt tính peroxidase, xúc tác cho phản ứng



Ứng dụng tính chất này để tìm máu trong nước tiểu.

4.3.4. Tính chất đậm (xin xem chương khí máu và thăng bằng acid-base)

5. MYOGLOBIN

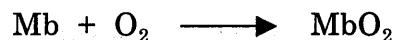
Myoglobin là protein của cơ, chiếm khoảng 2% tổng lượng protein của cơ. Myoglobin gồm 1 chuỗi polypeptid kết hợp với 1 hem. Chuỗi polypeptid của myoglobin có 153 acid amin, có TLPT khoảng 17000. Chuỗi polypeptid của Mb tương tự chuỗi polypeptid của globin. Khoảng 75% chuỗi có cấu trúc xoắn α. Các đoạn xoắn theo hướng phải và có 8 đoạn xoắn tương tự các chuỗi globin của Hb.

So sánh trật tự các acid amin trong myoglobin của cá nhà táng và các chuỗi α , β của hemoglobin ở người trong đoạn xoắn F các gốc từ F1 đến F9

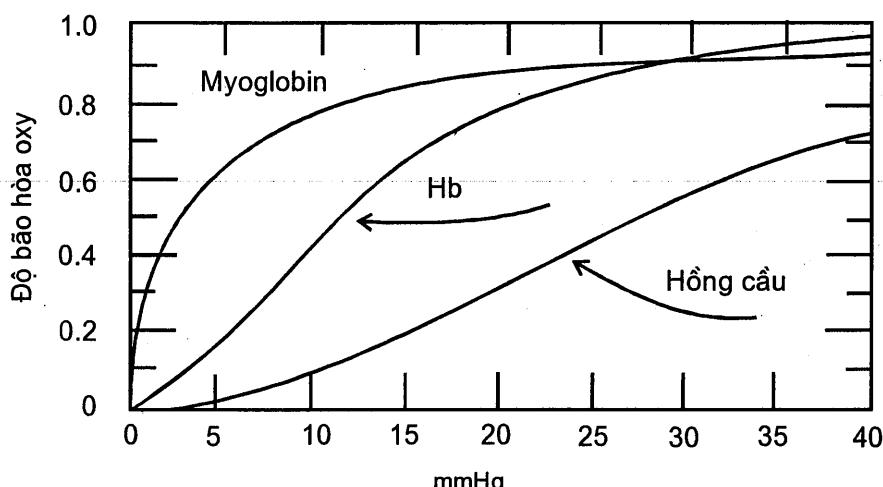
Hemoglobin người	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Chuỗi α	-Leu-	-Ser-	Ala-	Leu-	Ser-	Asp-	Leu-	His-	Ala-
Chuỗi β	-Phe-	Ala-	Thr-	Leu-	Ser-	Glut-	Leu-	His-	Cys
Myoglobin cá nhà táng	-Leu-	Lys-	Pro-	Leu-	Ala-	Gln-	Ser-	His-	Ala-

Các gốc acid amin trong đoạn xoắn F đều giống nhau ở vị trí F₄ và F₈ ở chuỗi α , β của Hb và chuỗi myoglobin.

Myoglobin chỉ có một vị trí kết hợp với oxy. Sự kết hợp và giải phóng oxy của Mb phụ thuộc vào nồng độ oxy trong tế bào cơ. Phương trình phản ứng có thể viết:



Sự kết hợp và giải phóng O₂ của Mb xảy ra ở phân áp oxy rất thấp. Vì vậy mà Mb thực hiện được sự vận chuyển oxy ở cơ. Sự kết hợp và giải phóng oxy của Mb phụ thuộc pH, nhiệt độ và lực ion.



Hình 3.15. Đường cong phân ly oxy của Mb, Hb đã loại CO₂ và DPG và hồng cầu (Hc)

Bình thường Mb trong huyết thanh người rất thấp : đối với nam từ 30- 90 ng/ml, đối với nữ là dưới 50 ng/ml. Khi có tổn thương cơ, myoglobin trong máu tăng cao. Lượng Mb tăng cao trong nhồi máu cơ tim cấp, tăng sau 1-3 giờ và rất cao sau 5-12 giờ. Lượng Mb trở lại bình thường sau 18- 30 giờ sau nhồi máu cơ tim cấp. Myoglobin cũng tăng trong các trường hợp phá huỷ cơ xương và trong các bệnh thận do giảm đào thải.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy phân loại 20 acid amin thường gặp và cho ví dụ từng loại bằng công thức.
2. Hãy trình bày các cách phân loại protein và cho ví dụ.
3. Hãy trình bày các loại liên kết trong phân tử protein.
4. Hãy trình bày các bậc cấu trúc của protein và cho ví dụ.
5. Hãy trình bày các tính chất lý hóa của protein.
6. Hãy trình bày các chức năng của protein.
7. Hãy trình bày các phương pháp phân tích acid amin và protein dựa trên sự tích điện của chúng.
8. Hãy trình bày cấu trúc phân tử Hb.
9. Hãy cho biết những loại Hb ở người trưởng thành và ở trẻ 1 tuổi.
10. Hãy so sánh cấu trúc và tính chất của Hb và Mb.

Chương 4

HÓA HỌC ACID NUCLEIC

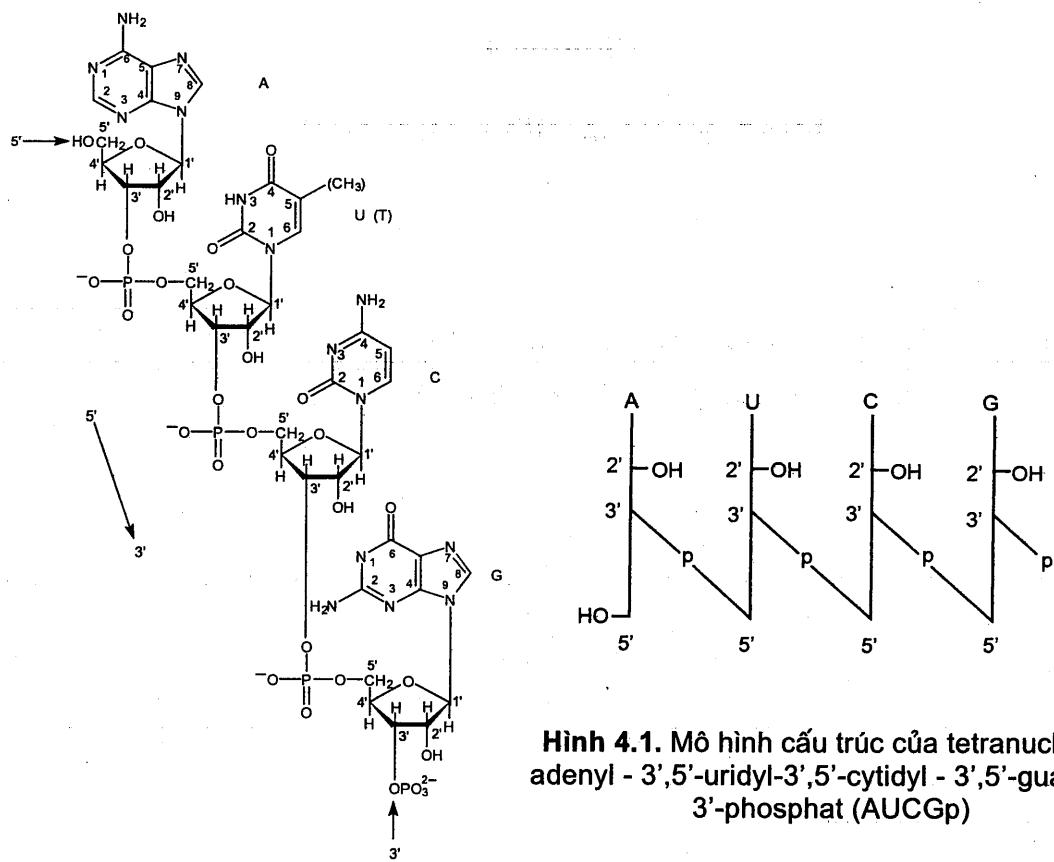
MỤC TIÊU

1. *Trình bày được cấu tạo, cấu trúc của acid nucleic.*
2. *Trình bày được cấu trúc và chức năng các loại RNA.*

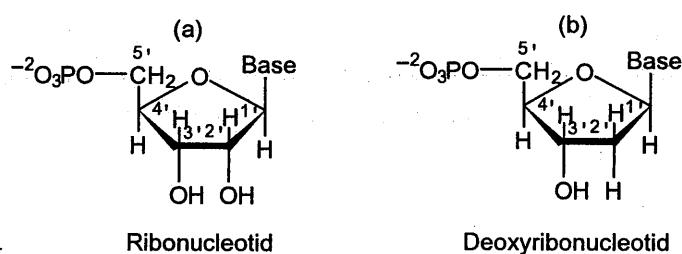
Nucleotid là những hợp chất sinh học tham gia vào nhiều các quá trình chuyển hóa của tế bào. Chúng là phương tiện dự trữ và vận chuyển năng lượng, là sự đáp ứng hóa học của tế bào đối với các hormon và các chất kích thích ở khoảng gian bào, là thành phần cấu trúc của các coenzym hay các chất chuyển hoá trung gian. Song điều quan trọng nhất phải kể đến là nucleotid chính là thành phần cấu tạo nên các acid nucleic: deoxyribonucleic acid (DNA) và ribonucleic acid (RNA), cơ sở vật chất của thông tin di truyền.

1. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA NUCLEIC ACID

Cấu trúc hóa học của acid nucleic được Phoebus Levine và Alexander Todd đưa ra trong những năm đầu của thập kỷ 50. Acid nucleic là các chuỗi polyme của nucleotid trong đó có cầu nối phosphate ở vị trí 3 và 5 của hai phân tử đường liên tiếp.



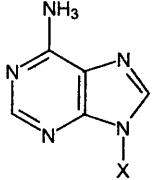
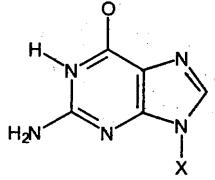
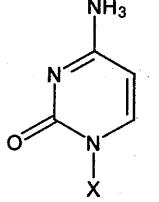
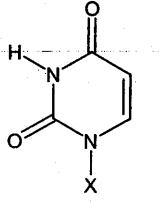
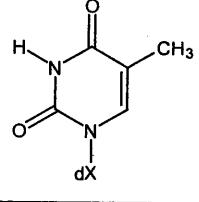
Hình 4.1. Mô hình cấu trúc của tetranucleotid adenyl - 3',5'-uridyl-3',5'-cytidyl - 3',5'-guanylyl-3'-phosphat (AUCGp)



Hình 4.2. Cấu trúc hóa học của (a) ribonucleotid và (b) deoxyribonucleotid

Các gốc phosphat của chuỗi polynucleotid và các nhóm phosphodiester là các gốc acid, chính vì vậy mà ở pH sinh lý, acid nucleic là những chuỗi anion. Phân tử DNA là chuỗi xoắn kép, có lượng cân bằng các gốc adenin và thymin (A = T) cũng như guanin và cytosin (G = C). Phân tử RNA thường là chuỗi xoắn đơn ngoại trừ RNA của một số virus có cấu trúc xoắn kép. Trong khi đó DNA của một số virus lại có cấu trúc xoắn đơn. Tuy nhiên khi các phân tử DNA này xâm nhập vào trong tế bào chủ và nhân lên, nó sẽ hình thành cấu trúc xoắn kép.

Bảng 4.1. Tên gọi và cách viết tắt của các base nitơ, nucleosid và nucleotid

Base Formula	Base X - H	Nucleosid X - ribose	Nucleotid X - ribose phosphat
	Adenin Ade A	Adenosin Ado A	Adenytic acid Adenosin monophosphat AMP
	Guanin Gua G	Guanosin Guo G	Guanylic acid Guanosin monophosphat GMP
	Cytosin Cyt C	Cytidin Cyd C	Cytidylic acid Cytidin monophosphat CMP
	Uracil Ura U	Uridin Urd U	Uridylic acid Uridin monophosphat UMP
	Thymin Thy T	Deoxythymidin dTd dT	Deoxythymidylic acid Deoxythymidin monophosphat dTMP

Một số DNA và RNA có chứa các dẫn xuất của các base, đặc biệt là trong các vi sinh vật. Đó là các dẫn xuất methyl hóa, các dẫn xuất này được tạo ra bởi các enzym đặc hiệu.

RNA dễ dàng bị thuỷ phân trong môi trường kiềm để tạo ra một hỗn hợp các 2 và 3 nucleotid trong khi DNA vì không có nhóm 2-OH nên bền vững trong môi trường kiềm và do vậy mà nó rất bền vững so với RNA.

Nucleotid là este phosphat của đường pentose, trong đó base nitơ liên kết với C1 của đường. Trong ribonucleotid, đường pentose là D-ribose còn trong deoxyribonucleotid (hay còn gọi là deoxynucleotid) có trong DNA thì lại là 2-deoxy-D-ribose. Gốc phosphat có thể gắn ở vị trí C3 hoặc C5 của nguyên tử đường để tạo hoặc 3-nucleotid hoặc 5-nucleotid. Phức hợp trên nếu không có gốc phosphat thì được gọi là nucleosid.

2. DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA)

2.1. Cấu trúc xoắn kép

Việc phát minh ra cấu trúc xoắn kép của DNA bởi James Watson và Francis Crick năm 1953 đã khai sinh ra ngành Sinh học phân tử hiện đại. Ngày nay, người ta nhận thấy rằng DNA và RNA tồn tại ở một vài dạng cấu trúc xoắn kép khác nhau phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: độ ẩm, các cation hay trình tự các base.

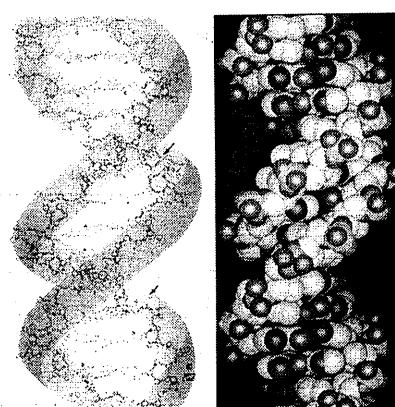
2.1.1. Cấu trúc Watson-Crick: B-DNA

Cấu trúc B-DNA được xác định bởi nhiều xạ tia X với sự có mặt của Na^+ và ở độ ẩm 92%. Cấu trúc này có các đặc điểm sau:

Bao gồm hai chuỗi polynucleotid xoắn vặn xung quanh một trục theo hai chiều ngược nhau theo quy tắc bàn tay phải với đường kính vòng xoắn khoảng 20. Cấu trúc xoắn vặn của hai chuỗi polynucleotid tạo cho DNA có một cấu trúc bền, hai chuỗi không thể tách rời khỏi nhau nếu như không được mở xoắn. Trục xoắn là các base còn các chuỗi đường-phosphat thì cuộn xung quanh.

Mặt phẳng của các base hầu như vuông góc với trục xoắn ốc. Mỗi base của chuỗi này liên kết với base của chuỗi kia bằng liên kết hydro theo nguyên tắc bổ sung. Trong đó guanin và cytosin liên kết với nhau bằng 3 liên kết hydro ($\text{G} \equiv \text{C}$) còn adenin và thymine liên kết với nhau bằng 2 liên kết ($\text{A} = \text{T}$). Do vậy mà trật tự các base ở chuỗi thứ nhất bổ sung với trật tự các base ở chuỗi thứ 2.

Mỗi một chu kỳ xoắn B-DNA lý tưởng gồm có 10 đôi base có độ dốc là 34, góc xoắn vặn của mỗi cặp base là 36° trong đó mỗi base cách nhau 3,4. Richard Dickerson và Horace Drew đã đo lại và cho thấy mỗi chu kỳ xoắn là 10,1 đôi base và góc xoắn vặn của mỗi cặp base là $35,6^\circ$.



Hình 4.3. Mô hình mô phỏng cấu trúc B-DNA

2.1.2. Các dạng cấu trúc xoắn khác của acid nucleic

- Dạng A-DNA: cấu trúc A-DNA rộng hơn, vòng xoắn theo quy tắc bàn tay phải từ phải qua trái dẹt hơn so với cấu trúc B-DNA. Một chu kỳ xoắn của A-DNA có 11 đôi base có độ dốc là 28Å và góc xoắn vặn của mỗi cặp base so với trục là 20°. Cấu trúc này được thấy ở dạng bào tử của vi khuẩn Gram dương. Đây là cơ chế tự bảo vệ của vi khuẩn vì DNA ở dạng này bền vững với tia cực tím.
- Dạng Z-DNA: Có cấu trúc xoắn theo quy tắc bàn tay trái. Mỗi chu kỳ xoắn có 12 đôi base với độ dốc là 45. Chức năng sinh học của dạng Z-DNA chưa được khẳng định song có giả thuyết cho rằng có sự biến đổi thuận nghịch từ cấu trúc B-DNA sang Z-DNA trong một số điều kiện nhất định như: tái tổ hợp gen trong quá trình thể hiện gen.

2.2. Các lực hóa học và cấu trúc làm bền vững cấu trúc acid nucleic

- DNA không có cấu trúc phức tạp như các phân tử protein bởi lẽ nó chỉ có một số lượng giới hạn các hình dạng cấu trúc bậc 2 trong khi không có cấu trúc bậc 3 và bậc 4. Điều này có thể được giải thích bằng sự đa dạng về đặc tính hóa lý của 20 acid amin trong phân tử protein so với vỏn vẹn chỉ 4 base trong phân tử DNA. Tuy nhiên rất nhiều phân tử RNA có cấu trúc bậc 3. Các lực tham gia hình thành cấu trúc phân tử của acid nucleic giống như các lực tham gia bình ổn cấu trúc phân tử protein. Tuy nhiên phương thức kết hợp các lực đã tạo cho acid nucleic có đặc tính hoàn toàn khác so với protein.
- Cấu trúc của chuỗi đường-phosphat: cấu trúc của đơn vị nucleotid có 6 góc xoắn của khung đường phosphat và một góc xoắn là hướng của base về liên kết glycosidic. 7 góc độ này tạo cho mỗi nucleotid trong chuỗi polynucleotid độ linh động rất cao. Tuy nhiên trên thực tế, cấu trúc của chuỗi polynucleotid lại rất bền vững và ổn định.
- Cặp base: các cặp base liên kết chặt với nhau nhằm duy trì cấu trúc xoắn kép của acid nucleic. Liên kết hydro không có tác dụng làm bền vững phân tử DNA mặc dù nó có vai trò quyết định cho sự cặp đôi theo nguyên tắc bổ sung. Liên kết ky nước đóng vai trò quyết định trong việc duy trì cấu trúc ổn định của DNA.
- Cụm các base và tương tác ky nước: các nhân purin và pyrimidin có khuynh hướng hình thành các chồng mặt phẳng song song. Các mặt phẳng này tương tác với nhau bằng các liên kết ky nước. Đây chính là yếu tố đảm bảo cho cấu trúc bền vững của DNA. Tuy nhiên, cho tới nay các lực liên kết ky nước này vẫn chưa được hiểu hết.
- Tương tác ion: về mặt lý thuyết thì sự bền vững của cấu trúc acid nucleic phải tính đến vai trò của các sự tương tác tĩnh điện của các gốc phosphat mang điện. Thực nghiệm cho thấy T_m tỷ lệ thuận với nồng độ cation. Mg^{2+} đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì cấu trúc của nhiều loại RNA như RNA vận chuyển, RNA ribosom.

– Cấu trúc siêu xoắn của DNA: tất cả các phân tử DNA của vi khuẩn và đa số DNA của virus có cấu trúc hình vòng. Cấu trúc DNA vòng cũng xuất hiện ở trong ty thể mà ty thể thì có ở hầu hết các tế bào bậc cao. Mỗi đầu của chuỗi DNA đơn liên kết lại với nhau tạo ra cấu trúc vòng khép kín. Một số cấu trúc DNA hình vòng này có hình dạng siêu cuộn, siêu xoắn vặn hay siêu xoắn ốc. Cấu trúc này đôi khi được gọi là cấu trúc bậc 3 của DNA. Trạng thái siêu xoắn của phân tử DNA được điều hòa bởi nhóm các enzyme có tên là topoisomerase bao gồm hai nhóm khác nhau là topoisomerase I và II.

2.3. Sự biến tính thuận nghịch

Khi dung dịch DNA bị đun nóng trên nhiệt độ riêng thì cấu trúc tự nhiên sẽ bị phá hủy, hai chuỗi bổ sung sẽ tách khỏi nhau và sẽ tạo ra cấu trúc xoắn ngẫu nhiên. Quá trình biến tính này sẽ làm thay đổi tính chất lý học của DNA chẳng hạn như độ nhớt của DNA ở trạng thái biến tính sẽ bị giảm đáng kể. Khi DNA bị biến tính, độ hấp thụ mật độ quang ở vùng bước sóng tử ngoại tăng lên đáng kể (khoảng 40%).

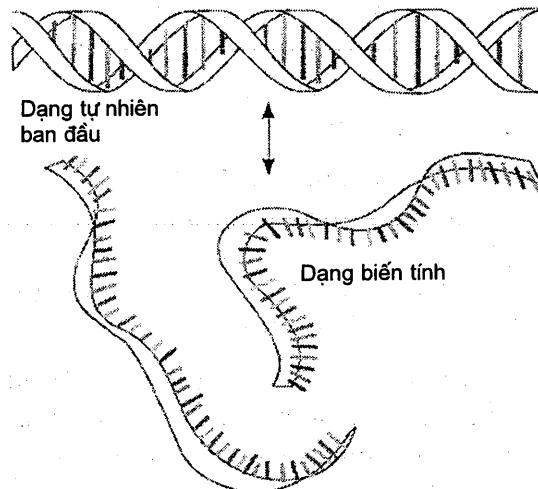
Quá trình biến tính của DNA được biểu diễn bằng đường cong nóng chảy và điểm uốn của đường cong này được gọi là nhiệt độ nóng chảy, T_m . Giá trị T_m phụ thuộc vào nhiều yếu tố: nồng độ ion, pH, nồng độ phân tử của base G và C. Ba liên kết hydro giữa G và C bền vững hơn so với hai liên kết hydro giữa A và T.

Nếu làm lạnh nhanh và duy trì nhiệt độ khoảng 25°C dưới T_m trong một khoảng thời gian nhất định thì chuỗi DNA bị biến tính sẽ trở lại trạng thái y nguyên như ban đầu. Sự liên kết bổ sung giữa DNA và RNA gọi là sự lai hóa.

3. RIBONUCLEIC ACID (RNA)

3.1. Cấu trúc RNA

Cũng như DNA, liên kết chính trong RNA là liên kết 3, 5 phosphodiester. RNA là một chuỗi nucleotid xoắn đơn, cấu trúc bậc 2 do sự xoắn kép của hai đoạn bổ sung nhau trên phân tử RNA. Ngoài ra RNA cũng có cấu trúc bậc 3 do phân tử RNA tồn tại nhiều liên kết hydro.



Hình 4.4. Sự biến tính của DNA
là quá trình thuận nghịch

3.2. Các loại RNA

– RNA vận chuyển (tRNA), chiếm khoảng 15% tổng số RNA của tế bào. tRNA có hai chức năng và do gốc OH ở đầu 3 của bộ ba CCA-OH không tham gia xoắn kép và bộ ba đổi mã đảm nhiệm:

+ Hoạt hóa acid amin để phân tử này dễ dàng tạo liên kết peptid và vận chuyển acid amin này đến vị trí tổng hợp protein.

+ Nhận biết mã trên phân tử mRNA.

Mỗi một tRNA có khả năng vận chuyển một acid amin song một số acid amin lại có hai tRNA. tRNA có chiều dài khoảng từ 65 đến 110 ribonucleotid và có cấu trúc chung hình lá ché ba với nhiều vùng chức năng khác nhau.

– RNA ribosom (rRNA), chiếm khoảng 80% tổng số RNA của tế bào. rRNA có nhiều loại khác nhau về trọng lượng phân tử và cấu trúc phức tạp. Ở tế bào không nhân có rRNA 5S với 120 mononucleotid; rRNA 23S có 3200 mononucleotid và rRNA 16S gồm 1540 mononucleotid. Ở tế bào có nhân, có các loại rRNA 5S; rRNA 5,8S với 160 mononucleotid; rRNA 18S gồm 1900 mononucleotid và rRNA 28S có 4700 mononucleotid. Ở ty thể của tế bào động vật có rRNA 12S và rRNA 16S.

– RNA thông tin (mRNA), chiếm khoảng 5% tổng số RNA của tế bào. mRNA là chất trực tiếp mang thông tin di truyền từ nhân đến ribosom ở bào tương. Ở tế bào có nhân, mRNA có cấu trúc bắt đầu là phân tử 7-methyl guanosin 5-triphosphat (gọi là mũ), rồi đến một đoạn nucleotid không mã hóa acid amin sau đó mới đến đoạn nucleotid mã hóa khởi đầu bằng bộ ba mã hóa AUG. Kết thúc đoạn phiên dịch là một trong ba bộ ba mã hóa UAA, UAG, UGA, rồi tiếp đoạn không phiên dịch thứ 2 và cuối cùng là đuôi poly A với khoảng 20-200 gốc adenosinmonophosphat.

RNA nhỏ của nhân (small nuclear RNA/snRNA). Người ta phát hiện được 5 loại snRNA có nhiều trong nhân tế bào với tên gọi là snRNA U1; U2; U4; U5 và snRNA U6. Các snRNA tham gia trong cơ chế cắt bỏ đoạn intron trong quá trình hoàn thiện mRNA.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. So sánh thành phần cấu tạo và cấu trúc của DNA và RNA.
2. Trình bày cấu trúc của DNA, cấu trúc xoắn kép và các lực hóa học tham gia làm bền vững cấu trúc acid nucleic.
3. Trình bày cấu trúc các loại RNA và vai trò của chúng.

Chương 5

ENZYM

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được cách gọi tên và phân loại theo quốc tế của enzym, cho được ví dụ mỗi loại.*
2. *Trình bày được thành phần cấu tạo, trung tâm hoạt động và các dạng cấu trúc của phân tử enzym.*
3. *Trình bày được cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym NAD⁺ và FAD.*
4. *Trình bày được cơ chế hoạt động của enzym.*
5. *Trình bày được phương trình và đồ thị Michaelis-Menten, phương trình và đồ thị Lineweaver-Burk.*
6. *Trình bày được các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt động của enzym.*

Enzym là những chất xúc tác sinh học đặc biệt của cơ thể sống, có bản chất là protein, có tác dụng xúc tác cho hầu hết các phản ứng hóa sinh xảy ra trong cơ thể sống.

Enzym có một số tính chất giống các chất xúc tác hóa học thông thường, đó là:

– Các enzym không bị tiêu hao hoặc được sinh ra thêm trong quá trình phản ứng.

– Các enzym không tạo ra phản ứng, nhưng chúng làm tăng đáng kể tốc độ phản ứng, mà những phản ứng này vốn xảy ra rất chậm khi không có sự xúc tác của enzym. Enzym làm thay đổi tốc độ phản ứng nhưng không làm thay đổi hằng số cân bằng của phản ứng mà chúng xúc tác.

Tuy nhiên, ngoài các tính chất nêu trên, enzym còn có những tính chất khác với tính chất của các chất hóa học thông thường, đó là:

- Enzym có bản chất là protein.
- Enzym có tính đặc hiệu cao và chỉ xúc tác cho phản ứng để tạo ra các sản phẩm mong muốn từ các chất phản ứng cho trước hoặc từ các cơ chất (nghĩa là không có các phản ứng phụ).

– Các enzym có thể thể hiện tính đặc hiệu cao (đặc hiệu tuyệt đối) đối với một cơ chất, nhưng cũng có thể tính đặc hiệu rộng rãi hơn (đặc hiệu tương đối) đối với một vài cơ chất có cấu trúc gần giống nhau.

– Các enzym thường chỉ hoạt động (thể hiện chức năng) ở vùng nhiệt độ và pH vừa phải.

1. CÁCH GỌI TÊN VÀ PHÂN LOẠI ENZYM

1.1. Cách gọi tên enzym: có 4 cách gọi tên enzym:

1.1.1. Tên cơ chất và thêm tiếp vĩ ngữ ase. Ví dụ: cơ chất là ure tên enzym là urease, cơ chất là protein tên enzym là proteinase,...

1.1.2. Tên tác dụng và thêm tiếp vĩ ngữ ase. Ví dụ: tác dụng oxy hóa, enzym là oxidase, tác dụng trao đổi amin enzym là amino transferase, tác dụng khử nhóm CO_2 , enzym là decarboxylase,...

1.1.3. Tên cơ chất, tác dụng và thêm tiếp vĩ ngữ ase. Ví dụ: cơ chất là lactat và tác dụng là khử hydro thì tên enzym là lactat dehydrogenase, cơ chất là tyrosin và tác dụng là khử nhóm CO_2 thì tên enzym là tyrosin decarboxylase,...

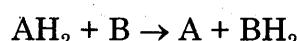
1.1.4. Tên thường gọi: cách gọi tên này không có tiếp vĩ ngữ ase. Ví dụ: pepsin, trypsin, chymotrypsin,...

1.2. Phân loại enzym

Khi số lượng enzym được tách chiết, tinh sạch và xác định đặc tính lên đến con số hàng nghìn, việc gọi tên và phân loại trở nên phức tạp. Để chuẩn hóa cách gọi tên và phân loại enzym, Hiệp hội enzym quốc tế (Enzyme Commission: EC) đã phân loại enzym theo phản ứng mà chúng xúc tác, thành 6 loại (class), theo thứ tự từ 1 đến 6, mỗi loại lại được chia thành các dưới lớp (subclass), mỗi dưới lớp lại được chia thành các nhóm (sub-subclass), mỗi nhóm gồm một số enzym. Như vậy, mỗi enzym đều được ký hiệu bằng một mã số EC chứa 4 chữ số, cách nhau bởi các dấu chấm thập phân. Chữ số thứ nhất chỉ loại enzym, chữ số thứ hai chỉ dưới lớp, chữ số thứ ba chỉ nhóm và chữ số thứ tư chỉ tên của bản thân từng enzym riêng biệt trong nhóm. Ví dụ: enzym hexokinase có ký hiệu là EC 2.7.1.1. là enzym thuộc loại 2, dưới lớp là 7, thuộc nhóm 1 và có số thứ tự của enzym trong nhóm là 1.

Sáu loại enzym được sắp xếp theo thứ tự sau:

1.2.1. Enzym oxy hóa khử (oxidoreductase): là loại enzym xúc tác cho phản ứng oxy hóa và phản ứng khử, nghĩa là các phản ứng có sự trao đổi H hoặc điện tử theo phản ứng tổng quát sau:



Loại enzym oxy hóa khử gồm các dưới lớp:

– Các dehydrogenase: sử dụng các phân tử không phải oxy (ví dụ: NAD^+) làm chất nhận điện tử. Ví dụ: lactat dehydrogenase, malat dehydrogenase, ...

- Các oxidase: sử dụng oxy như một chất nhận điện tử nhưng không tham gia vào thành phần cơ chất. Ví dụ: cytochrom oxidase, xanthin oxidase, ...
- Các reductase: đưa H và điện tử vào cơ chất. Ví dụ: β -cetoacyl-ACP reductase.
- Catalase: xúc tác phản ứng: $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$
- Các peroxidase: xúc tác phản ứng: $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow A + 2H_2O$
- Các oxygenase (hydroxylase): gắn một nguyên tử O vào cơ chất. Ví dụ: cytochrom P-450 xúc tác phản ứng: $RH + NADPH + H^+ + O_2 \rightarrow ROH + NADP^+ + H_2O$, phenylalanin hydroxylase, ...

1.2.2. Enzym vận chuyển nhóm (transferase): là loại enzym xúc tác cho phản ứng vận chuyển một nhóm hóa học (không phải hydro) giữa hai cơ chất theo phản ứng tổng quát sau:



Loại enzym vận chuyển nhóm gồm các dưới lớp:

- Các aminotransferase: chuyển nhóm $-NH_2$ từ acid amin vào acid cетonic. Ví dụ: aspartat transaminase, alanin transferase, ...
- Transcetolase và transaldolase: chuyển đơn vị 2C và 3C vào cơ chất. Ví dụ: transcetolase, transaldolase, ...
- Các acyl-, methyl-, glucosyl-transferase, phosphorylase: chuyển các nhóm tương ứng vào cơ chất. Ví dụ: acyl CoA-cholesterol acyl transferase (ACAT), glycogen phosphorylase, ...
- Các kinase: chuyển gốc $-PO_3$ từ ATP vào cơ chất. Ví dụ: hexokinase, nucleoside diphospho kinase, PEP carboxykinase, ...
- Các thiolase: chuyển nhóm CoA-SH vào cơ chất. Ví dụ: acyl-CoA acetyltransferase (thiolase), ...
- Các polymerase: chuyển các nucleotid từ các nucleotide triphosphat (NTP) vào phân tử DNA hoặc RNA. Ví dụ: các DNA polymerase, các RNA polymerase.

1.2.3. Enzym thủy phân (hydrolase): là loại enzym xúc tác cho phản ứng cắt đứt liên kết của chất hóa học bằng cách thủy phân, nghĩa là phản ứng có sự tham gia của phân tử nước, theo phản ứng tổng quát sau:

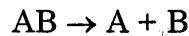


Loại enzym thủy phân gồm các dưới lớp:

- Các esterase: thủy phân liên kết este. Ví dụ: triacylglycerol lipase.
- Các glucosidase: thủy phân liên kết glycosid.
- Các protease: thủy phân liên kết peptid trong phân tử protein.

- Các phosphatase: thủy phân liên kết este phosphat, tách gốc PO_3^- khỏi cơ chất.
- Các phospholipase: thủy phân liên kết este phosphat trong phân tử phospholipid.
- Các amidase: thủy phân liên kết N-oxid. Ví dụ: nucleosidase.
- Các desaminase: thủy phân liên kết C-N, tách nhóm amin ra khỏi cơ chất. Ví dụ: adenosin desaminase, guanin desaminase, ...
- Các nuclease: thủy phân các liên kết este phosphat trong phân tử DNA hoặc RNA.

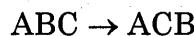
1.2.4. Enzym phân cắt (lyase): còn gọi là enzym tách nhóm, là loại enzym xúc tác cho phản ứng chuyển đi một nhóm hóa học khỏi một cơ chất mà không có sự tham gia của phân tử nước. Phản ứng tổng quát như sau:



Loại enzym tách nhóm gồm các dưới lớp:

- Các decarboxylase: tách phân tử CO_2 từ cơ chất. Ví dụ: pyruvat decarboxylase, glutamate decarboxylase, ...
- Các aldolase: tách một phân tử aldehyd từ cơ chất. Ví dụ: aldolase xúc tác phản ứng tách fructose 1,6-diphosphat thành GAP và DHAP.
- Các lyase: tách đôi một phân tử mà không có sự tham gia của phân tử H_2O . Ví dụ: arginosuccinase.
- Các hydratase: gắn một phân tử H_2O vào một phân tử cơ chất. Ví dụ: fumarase,
- Các dehydratase: tách một phân tử H_2O khỏi một phân tử cơ chất. Ví dụ: β -hydroxyacyl-ACP dehydratase, β -hydroxyacyl-CoA dehydratase, ...
- Các synthase: gắn hai phân tử mà không cần sự tham gia của ATP để cung cấp năng lượng. Ví dụ: ATP synthase, citrat synthase, glycogen synthase, acid béo synthase, δ -levulenat synthase, ...

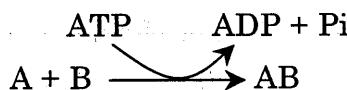
1.2.5 Enzym đồng phân (isomerase): là loại enzym xúc tác cho phản ứng biến đổi giữa các dạng đồng phân của chất hóa học. Phản ứng tổng quát như sau:



Loại enzym đồng phân gồm các dưới lớp:

- Các racemase: chuyển dạng đồng phân giữa dãy D và dãy L.
- Các epimerase: chuyển dạng đồng phân epi. Ví dụ: ribose 5-phosphat epimerase.
- Các isomerase: chuyển dạng giữa nhóm ceton và nhóm aldehyd. Ví dụ: phosphopentose isomerase.
- Các mutase: chuyển nhóm hóa học giữa các nguyên tử trong một phân tử.

1.2.3. Enzym tổng hợp (ligase hoặc synthetase): là loại enzym xúc tác cho phản ứng gắn hai phân tử với nhau thành một phân tử lớn hơn, sử dụng ATP hoặc các nucleosidtriphosphat khác để cung cấp năng lượng; phản ứng tổng quát như sau:



Loại enzym tổng hợp gồm các dưới lớp:

- Các synthetase: gắn hai phân tử với sự tham gia của ATP để cung cấp năng lượng.
- Các carboxylase: gắn CO_2 vào phân tử cơ chất. Ví dụ: pyruvat carboxylase, ...
- Ligase: sử dụng cho việc gắn 2 đoạn nucleotid với nhau. Ví dụ: DNA ligase.

2. CẤU TRÚC PHÂN TỬ ENZYME

2.1. Thành phần cấu tạo của enzym

2.1.1. Thành phần cấu tạo của enzym

Các enzym là các protein có khối lượng phân tử từ 12.000 đến hàng triệu đơn vị Dalton (Da). Cũng như các protein, về thành phần cấu tạo, enzym cũng được làm hai loại: enzym thuần và enzym tạp.

Một số enzym không đòi hỏi các nhóm hóa học cho hoạt động của chúng, đó là **các enzym thuần** (còn gọi là enzym một thành phần), là các enzym mà phân tử chỉ do các gốc acid amin cấu tạo nên.

Một số enzym đòi hỏi thành phần hữu cơ cho hoạt động của chúng, đó là **các enzym tạp** (còn gọi là enzym hai thành phần), là các enzym mà ngoài thành phần protein, phân tử enzym còn có chất cộng tác (cofactor) là các ion như Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , ... hoặc là một phân tử chất hữu cơ hoặc phức hợp hữu cơ kim loại, cấu tạo nên. Một số phân tử enzym đòi hỏi cả coenzym và ion kim loại cho hoạt động của chúng. Trong phân tử enzym tạp (còn gọi là holoenzym), phân protein được gọi là apoenzym, phân chất cộng tác được gọi là cofactor:

$$\text{Holoenzym} = \text{Apoenzym} + \text{cofactor}$$

Phân apoenzym mang những đặc tính cơ bản của enzym, trong khi phân coenzym hoặc ion kim loại là chất phối hợp của enzym, có vai trò bổ sung khả năng phản ứng và khả năng xúc tác cho phân tử enzym.

Coenzym thường có trong thành phần các enzym thuộc loại oxy hóa khử và loại enzym vận chuyển nhóm; thiếu coenzym, enzym loại này không hoạt động. Các cofactor (coenzym) thường là các vitamin và dẫn xuất của chúng. Một số cofactor gắn chặt vào phân tử enzym, không thể tách ra được gọi là **nhóm phụ (prosthetic group)**.

Những enzym chứa kim loại hoặc đòi hỏi kim loại cho hoạt động của nó được gọi là enzym kim loại (metalloenzyme). Vai trò của kim loại trong thành phần của enzym kim loại là:

- Tham gia trực tiếp vào phản ứng xúc tác của enzym.
- Hoạt động như một chất oxy hóa khử.
- Tạo thành phức hợp với cơ chất.

Một số ví dụ về enzym kim loại:

Cytochrom oxidase, catalase và peroxidase chứa Fe^{2+} hoặc Fe^{3+}

Cytochrom oxidase chứa Cu^{2+}

Carbonic anhydrase, alcol dehydrogenase chứa Zn^{2+}

Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvat kinase chứa Mg^{2+}

Glutathion peroxidase chứa Se^{2+} , ...

2.1.2. Trung tâm hoạt động của enzym

Trung tâm hoạt động hoặc vị trí hoạt động (active site) của enzym là một vùng đặc biệt của enzym có tác dụng gắn với cơ chất để xúc tác cho phản ứng làm biến đổi cơ chất thành sản phẩm. Mỗi enzym có thể có một, hai hoặc vài trung tâm hoạt động. Trung tâm hoạt động của enzym gồm những nhóm hóa học và những liên kết tiếp xúc trực tiếp với cơ chất hoặc không tiếp xúc trực tiếp với cơ chất nhưng có chức năng trực tiếp trong quá trình xúc tác.

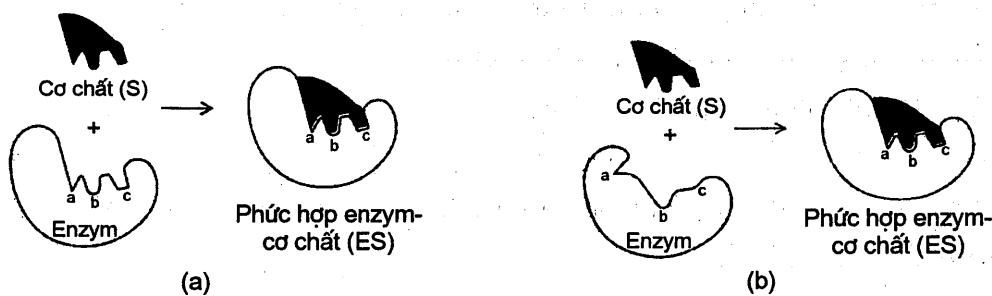
Về thành phần cấu tạo, trung tâm hoạt động thường bao gồm các acid amin có các nhóm hóa học có hoạt tính cao như serin (có nhóm $-\text{OH}$), cystein (có nhóm $-\text{SH}$), glutamic (có nhóm $\gamma\text{-COO}^-$), lysin (có nhóm $\epsilon\text{-NH}_3^+$), histidin (có nhóm imidazol $^+$), tryptophan (có nhóm indol $^+$),... là những nhóm phân cực hoặc ion hóa, có khả năng tạo liên kết hydro hoặc ion với cơ chất.

Về quan hệ giữa trung tâm hoạt động và cơ chất, có hai giả thuyết được đưa ra:

Thuyết “ổ khóa và chìa khóa”: Fisher E (1890) đã đưa ra thuyết “ổ khóa và chìa khóa” (“lock and key”) về tác động của enzym, theo thuyết này, tương tác giữa enzym E và cơ chất S, nghĩa là sự gắn giữa enzym và cơ chất để tạo thành phức hợp enzym - cơ chất ES cũng giống như quan hệ giữa “ổ khóa” và “chìa khóa”, nghĩa là enzym nào thì chỉ xúc tác cho đúng cơ chất đó. Thuyết này chỉ giải thích được tính đặc hiệu tuyệt đối của enzym nhưng không giải thích được tính đặc hiệu tương đối của enzym.

Thuyết “mô hình cảm ứng không gian”: để giải thích tính đặc hiệu tương đối của enzym, Koshland D (1958) đã đưa ra thuyết “mô hình cảm ứng không gian” (“induced fit model”). Theo thuyết này, trung tâm hoạt động của enzym

E có tính mềm dẻo và linh hoạt, có thể biến đổi về cấu hình không gian trong quá trình tương tác với cơ chất S sao cho phù hợp với cấu hình không gian của cơ chất, để có thể tạo thành phức hợp enzym – cơ chất ES.



Hình 5.1. Mô hình “ổ khóa” và “chìa khóa” (a) của Emil Fischer và mô hình “cảm ứng không gian” của Daniel E Kosland (b).

2.2. Các dạng cấu trúc của phân tử enzym

2.2.1. Enzym đơn chuỗi và enzym đa chuỗi

Enzym có thể do một chuỗi, cũng có thể do nhiều chuỗi tạo nên.

Enzym đơn chuỗi (monomer) là enzym chỉ do một chuỗi polypeptid cấu tạo nên, ví dụ: ribonuclease A, lysozym, lipase, pepsin, chymotrypsin, ...

Enzym đa chuỗi (oligomer hoặc polymer) là enzym do hai hoặc nhiều chuỗi polypeptid cấu tạo nên, ví dụ: aspartate transaminase (AST): 2 chuỗi, alkaline phosphatase (ALP): 2 chuỗi, creatine kinase (CK): 2 chuỗi, hexokinase (HK): 2 chuỗi, lactate dehydrogenase (LDH): 4 chuỗi, RNA polymerase: 5 chuỗi, ATP synthetase: 12 chuỗi, glutamate dehydrogenase (GLDH): 40 chuỗi.

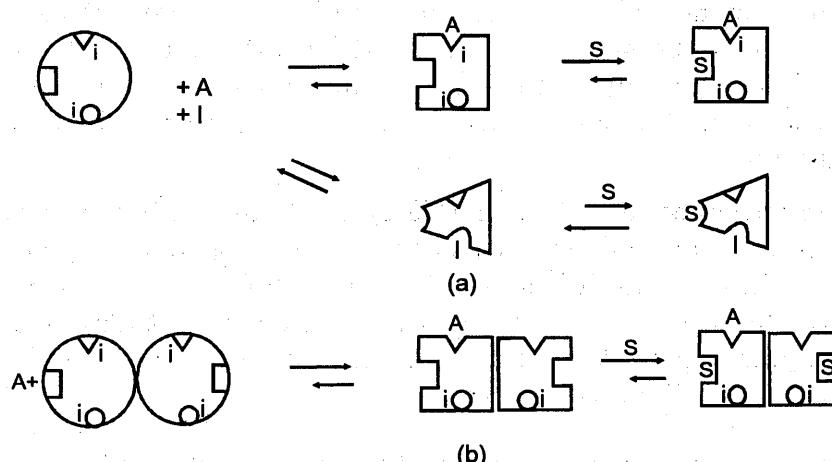
2.2.2. Enzym dị lập thể (*allosteric enzyme*)

Enzym dị lập thể là loại enzym ngoài trung tâm hoạt động còn một hoặc vài vị trí dị lập thể; trung tâm hoạt động tiếp nhận cơ chất để xúc tác cho phản ứng enzym trong khi vị trí dị lập thể tiếp nhận yếu tố dị lập thể để điều chỉnh hoạt động xúc tác của enzym. Về cấu tạo phân tử, enzym dị lập thể có thể là loại enzym đơn chuỗi hoặc loại enzym đa chuỗi. Phân tử enzym dị lập thể có thể có loại vị trí dị lập thể dương, loại vị trí dị lập thể âm hoặc cả hai.

Khi vị trí dị lập thể dương tiếp nhận yếu tố dị lập thể dương A (chất hoạt hóa: activator) thì cấu hình enzym thay đổi theo hướng có lợi hơn, enzym được hoạt hóa, ái lực enzym với cơ chất tăng lên, enzym gắn với cơ chất để tạo thành phức hợp enzym – cơ chất tốt hơn, tốc độ phản ứng tăng lên.

Khi vị trí dị lập thể âm tiếp nhận yếu tố dị lập thể âm I (chất ức chế: inhibitor) thì cấu hình enzym thay đổi theo hướng có hại, enzym bị ức chế, ái lực enzym với cơ chất giảm nên tốc độ phản ứng giảm đi.

Thông thường, những chất hoạt hóa dị lập thể là những chất đứng trước cơ chất trong chuỗi phản ứng, trong khi những chất ức chế dị lập thể là những chất đứng sau chuỗi phản ứng hoặc là sản phẩm cuối cùng của chuỗi phản ứng. Ví dụ: trong con đường đường phân, enzym phospho fructokinase là một enzym dị lập thể, được hoạt hóa bởi yếu tố dị lập thể dương là ADP và AMP, nhưng bị ức chế bởi yếu tố dị lập thể âm là ATP và citrat.



Hình 5.2. Tác dụng của yếu tố dị lập thể dương (A) và yếu tố dị lập thể âm (I) trên enzym dị lập thể đơn chuỗi (a) và tác dụng của yếu tố dị lập thể dương (A) trên enzym dị lập thể đa chuỗi với sự hoạt hóa lan truyền từ chuỗi thứ nhất sang chuỗi tiếp theo (b).

2.2.3. Các dạng phân tử của enzym (isoenzym hoặc isozym)

Trong cùng một loài, cùng một cơ thể, có những enzym tuy cùng xúc tác một loại phản ứng hóa học nhưng lại tồn tại dưới những dạng phân tử khác nhau, có những tính chất vật lý và hóa học khác nhau. Các dạng phân tử khác nhau của một loại enzym được gọi là isoenzym hoặc isozym. Ví dụ: Phân tử enzym lactat dehydrogenase (LDH) do bốn tiểu đơn vị, mỗi tiểu đơn vị là một chuỗi polypeptid cấu tạo nên. Các chuỗi này gồm 2 loại, do hai gen khác nhau tổng hợp nên: chuỗi nguồn gốc tim (H) và chuỗi nguồn gốc cơ (M). Vì enzym LDH là loại enzym tetramer do bốn chuỗi polypeptid cấu tạo nên, cho nên sự tổ hợp giữa hai loại chuỗi polypeptid đã tạo thành năm dạng phân tử (isoenzym) của LDH khác nhau;

LDH₁ do 4 chuỗi H tạo thành: HHHH

LDH₂ do 3 chuỗi H và 1 chuỗi M tạo thành: HHHM

LDH₃ do 2 chuỗi H và 2 chuỗi M tạo thành: HHMM

LDH₄ do 1 chuỗi H và 3 chuỗi M tạo thành: HMMM

LDH₅ do 4 chuỗi M tạo thành: MMMM

Vì vậy, LDH₁ được gọi là isoenzym kiểu tim và LDH₅ được gọi là isoenzym kiểu gan. Các isoenzym này có hằng số Michaelis (Km) và tốc độ phản ứng tối đa (Vmax) khác nhau.

Enzym creatin kinase (CK) do 2 chuỗi polypeptid cấu tạo nên: một chuỗi có nguồn gốc não (B) và một chuỗi có nguồn gốc cơ (M), do đó tạo thành 3 loại isoenzym: CK-BB, CK-MB và CK-MM.

2.2.4. Các tiền chất của enzym: một số enzym sau khi được tổng hợp còn ở dạng chưa có hoạt tính (dạng không hoạt động) được gọi là các tiền enzym (proenzym hoặc zymogen). Các tiền chất này khi được bài tiết vào môi trường khắc nghiệt của cơ thể sẽ chịu tác dụng thủy phân của môi trường, bị thủy phân cắt đi một đoạn polypeptid vốn che lấp trung tâm hoạt động để bảo vệ trung tâm hoạt động, làm cho enzym được hoạt hóa, trở nên dạng enzym chính thức có hoạt tính.

Các tiền enzym có tên tiếp vĩ ngữ là ogen. Ví dụ: các tiền enzym của đường tiêu hóa chưa có hoạt tính như pepsinogen, trypsinogen và chymotrypsinogen sau khi được bài tiết vào đường tiêu hóa sẽ bị thủy phân, loại bỏ một đoạn peptid để trở thành các enzym chính thức có hoạt tính tương ứng là pepsin, trypsin và chymotrypsin; tiền enzym có thể có tiếp đầu ngữ "pro", ví dụ: tiền enzym của thrombin là prothrombin.

2.2.5. Phức hợp đa enzym: phức hợp đa enzym là một phức hợp gồm nhiều các phân tử enzym khác nhau nhưng có liên quan với nhau trong một quá trình chuyển hóa nhất định, kết tụ với nhau thành một khối nhiều enzym. Không thể tách riêng từng enzym trong phức hợp đa enzym bởi vì nếu bị tách ra, các enzym riêng biệt trong phức hợp đa enzym sẽ bị biến tính và mất hoạt tính. Sự kết tụ các enzym tạo thành phức hợp đa enzym có tác dụng tăng cường sự cộng tác của các enzym khác nhau trên một quá trình hoặc chuỗi chuyển hóa gồm nhiều phản ứng, làm tăng hiệu lực và hiệu quả xúc tác.

Ví dụ: phức hợp đa enzym pyruvat dehydrogenase xúc tác cho chuỗi phản ứng biến pyruvat thành acetyl CoA. Chuỗi phản ứng này gồm bốn phản ứng với sự tham gia của phức hợp đa enzym pyruvat dehydrogenase gồm ba enzym pyruvat dehydrogenase, dihydrolipoyl transacetylase và dihydrolipoyl dehydrogenase với bốn coenzym là thiamin pyrophosphat (TPP), acid lipoic, coenzym A và NAD⁺.

3. CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA CÁC COENZYME

Các coenzym có chức năng là tham gia cùng enzym trong quá trình xúc tác. Coenzym thường có ái lực với enzym cũng tương tự như ái lực của enzym với cơ chất; vì vậy, coenzym có thể được coi như một cơ chất thứ hai. Trong các trường hợp khác, các coenzym được gắn đồng hóa trị với enzym và có chức năng như hoắc gắn như vị trí hoạt động trong quá trình xúc tác.

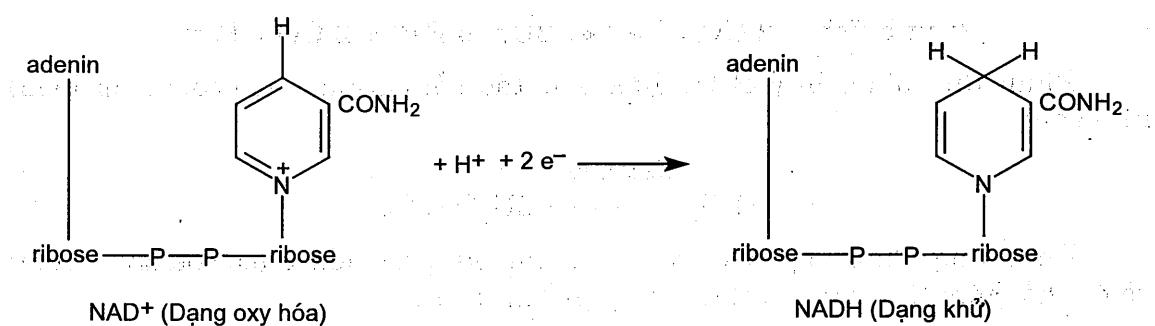
Một số coenzym được tổng hợp từ các vitamin nhóm B. Vitamin B6, pyridoxin cần biến đổi chút ít đã có thể chuyển thành pyridoxal phosphat là dạng coenzym hoạt động. Trong khi đó, niacin cần một sự biến đổi cơ bản bởi tế bào động vật mới có khả năng tác động như một coenzym.

3.1. Các coenzym oxy hóa khử

3.1.1. Các coenzym Niacin (nicotinic acid: vitamin B₃): NAD⁺ và NADP⁺

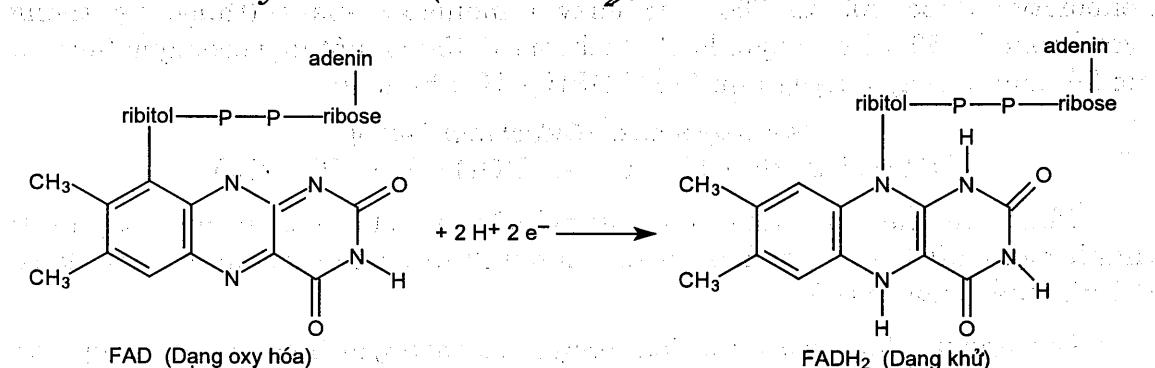
Nicotin là acid pyridin 3-carboxylic, có thể được biến đổi thành 2 coenzym chủ yếu tham gia vào loại enzym oxy hóa khử. Hai coenzym này là nicotinamid adenin dinucleotid (NAD⁺) và nicotinamid adenin dinucleotid phosphat (NADP⁺). Cấu trúc của coenzym NADP⁺ khác với coenzym NAD⁺ ở chỗ có thêm một gốc phosphat ở vị trí 2' của ribose trong phân tử adenosin monophosphat.

Cả hai coenzym này đều có chức năng là vận chuyển 2 điện tử và một H⁺ giữa chất cho và chất nhận H⁺ trong phản ứng oxy hóa khử xúc tác bởi enzym dehydrogenase. Tuy nhiên, có enzym dehydrogenase cần coenzym NAD⁺, có enzym dehydrogenase cần coenzym NADP⁺ trong quá trình xúc tác.



Hình 5.3. Công thức chữ và cơ chế phản ứng của coenzym NAD⁺.

3.1.2. Các coenzym Flavin (vitamin B₂): FMN và FAD:



Hình 5.4. Công thức chữ và cơ chế hoạt động của coenzym FAD

Có 2 dạng coenzym của riboflavin là flavin mononucleotid (FMN) và flavin adenin dinucleotid. Vitamin riboflavin chứa một dị vòng, isoalloxazin (flavin), nối qua nguyên tử N-10 đến một alcol là ribitol. FMN có một gốc phosphat ở vị trí 5' của ribitol trong phân tử riboflavin. FAD có cấu trúc tương tự như NAD⁺, nhưng có adenosin liên kết qua pyrophosphat gắn với dị vòng riboflavin.

Cả FMN và FAD đều có chức năng là tham gia vào phản ứng oxy hóa khử bằng cách trao đổi 2 điện tử và $2H^+$ ở vòng isoalloxazin.

3.1.3. Các porphyrin Fe^{2+} (còn gọi là coenzym hem): coenzym hem là coenzym của hệ thống cytochrom, của enzym catalase, peroxidase, monooxygenase và dioxygenase.

Vai trò của các coenzym hem là vận chuyển điện tử nhờ khả năng biến đổi thuận nghịch giữa Fe^{2+} và Fe^{3+} :

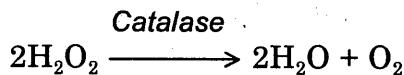


Các phản ứng được xúc tác bởi các loại coenzym hem:

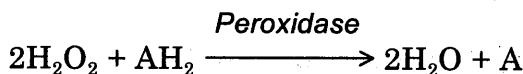
Hai điện tử được vận chuyển từ cytochrom b sang cytochrom c trong chuỗi hô hấp tế bào như sau:



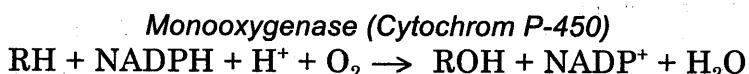
Phản ứng phân huỷ H_2O_2 được xúc tác bởi catalase (có coenzym hem) như sau:



Phản ứng phân huỷ H_2O_2 được xúc tác bởi peroxidase (có coenzym hem) và đòi hỏi kèm theo một cơ chất dạng khử như sau:

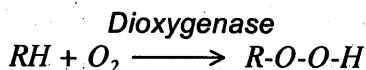


Phản ứng oxygen hóa một cơ chất (thường là thuốc hoặc các chất xenobiotic) được xúc tác bởi các enzym monooxygenase (thuộc hệ thống cytochrom P-450) có coenzym là chytochrom P-450 là một loại coenzym hem và đòi hỏi một coenzym dạng khử là NADPH + H^+ như sau:



Phản ứng này nói chung có tác dụng biến một chất độc, ít tan trong nước thành một chất không độc hoặc ít độc hơn và tan trong nước nhiều hơn để có thể đào thải khỏi cơ thể.

Các enzym *dioxygenase* là loại enzym có coenzym hem, có tác dụng xúc tác phản ứng peroxy hóa một cơ chất. Phản ứng được thể hiện như sau:



3.1.4. Acid lipoic: acid lipoic là một acid béo chứa 2 nhóm sulfur (-SH) có tên khoa học là acid 6,8-dithio-octanoic. Acid lipoic có phổ biến trong các chất tự nhiên. Nó là một chất quan trọng trong chuyển hóa chất. Nó tham gia vào phức hợp enzym khử carboxyl oxy hóa của acid pyruvic và acid α -ceto glutaric cùng với các coenzym khác như TPP, coenzym A, FAD và NAD^+ .

3.2. Các coenzym vận chuyển nhóm

3.2.1. Thiamin pyrophosphat (TPP) vận chuyển nhóm CO_2

Trong thành phần của TPP có thiamin là vitamin B₁. TPP là coenzym của các enzym có vai trò tách nhóm CO_2 của các acid α -ketonic như acid pyruvic hoặc acid α -cetoglutaric. Sự thiếu hụt thiamin ảnh hưởng chủ yếu đến hệ thần kinh ngoại biên, đường tiêu hóa và hệ thống tim mạch. Thiamin có giá trị trong điều trị các bệnh như Beriberi, viêm thần kinh do rượu, viêm thần kinh do thai nghén, ...

3.2.2. Coenzym A vận chuyển nhóm acyl

Coenzym A (viết tắt là CoA-SH) gồm acid pantotenic (vitamin B₅) nối với một thioethanolamin tạo thành pantethein và nối với một gốc phosphat và với một nucleotid là adenosin monophosphat qua liên kết pyrophosphat. Coenzym A có vai trò trong chuyển hóa các acid béo, thể ketonic, acetat và các acid amin. Ví dụ: coenzym A kết hợp với acetat để tạo nên “acetat hoạt động” là acetyl CoA, chất này có thể kết hợp với acid oxaloacetat để tạo thành acid citric, mở đầu cho chu trình acid citric, có thể tham gia vào quá trình sinh tổng hợp acid béo, sinh tổng hợp cholesterol và các hormon steroid, ...

3.2.3. S-adenosyl-methionin

S-adenosyl-methionin có tác dụng vận chuyển nhóm methyl –CH₃.

3.2.4. Acid tetrahydrofolic (FH_4)

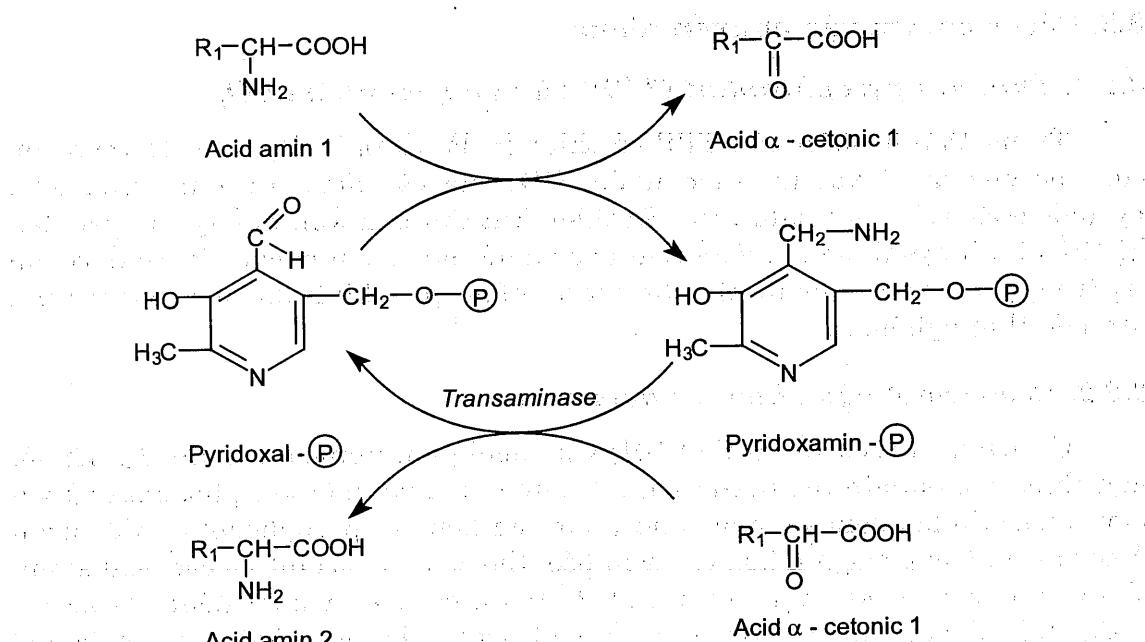
Acid tetrahydrofolic có vai trò vận chuyển nhóm 1 nguyên tử carbon.

3.2.5. Biotin

Biotin có chức năng như một coenzym của enzym carboxylase, enzym xúc tác cho sự gắn CO_2 (gọi là sự carboxyl hóa). Vai trò hóa sinh quan trọng nhất của biotin là tham gia các phản ứng carboxyl hóa.

3.2.6. Pyridoxal phosphat

Pyridoxal phosphat là dẫn xuất của pyridoxin (vitamin B6). Pyridoxal phosphat là coenzym của enzym trao đổi amin, có vai trò vận chuyển nhóm amin của acid α -amin 1 cho một acid α -ketonic 2 để biến thành acid α -ketonic 1, còn acid α -ketonic 2 nhận nhóm amin để biến thành acid α -amin 2.



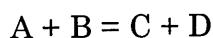
Hình 5.5. Cơ chế hoạt động của enzym transaminase

Ngoài vai trò tham gia vào thành phần của các enzym trao đổi amin, pyridoxalphosphat còn có vai trò là coenzym của các enzym khử carboxyl của một số acid amin như tyrosin, arginin, acid glutamic và một số acid amin khác. Sản phẩm của sự khử carboxyl của acid amin là các amin có hoạt tính sinh học. Ví dụ: sự khử carboxyl của acid glutamic sẽ tạo thành γ -amino butyric acid (GABA) là một chất ức chế hoạt động của thần kinh, sự khử carboxyl của histidin sẽ tạo thành histamin là một hormon của mô, làm tăng tính thấm thành mạch, gây hiện tượng dị ứng, sự hydroxy hóa cùng với sự khử carboxyl của phenylalanin và tyrosin sẽ tạo thành norepinephrin và epinephrin là những hormon quan trọng, ...

4. CƠ CHẾ XÚC TÁC CỦA ENZYME

4.1. Sự biến thiên năng lượng tự do ($\Delta G < 0$)

Năng lượng tự do của một hệ thống phản ứng là năng lượng có thể tạo ra công có ích. Năng lượng tự do được ký hiệu là G . Một phản ứng hóa học chỉ có thể xảy ra theo chiều năng lượng tự do giảm, biến chất có năng lượng tự do cao thành chất có mức năng lượng thấp hơn. Điều này có nghĩa là điều kiện cần của một phản ứng hóa học là biến thiên năng lượng tự do phải âm ($\Delta G < 0$):



$$G_1 > G_2 \rightarrow \Delta G = G_2 - G_1 < 0$$

Tuy nhiên, do vật chất có sức ép về mặt hóa học nên một phản ứng dù có $\Delta G < 0$, vẫn chưa thể tự xảy ra được.

4.2. Sức Ý về mặt hóa học của vật chất

Vật chất thường có sức ý về mặt hóa học. Sức ý về mặt hóa học của vật chất là do các yếu tố sau gây nên:

- Yếu tố về entropy (sự chuyển động hỗn loạn của các phân tử vật chất).
- Lớp áo nước cản trở và có thể làm mất hoạt tính của cơ chất.
- Hình thể không gian công kenneh của cơ chất.
- Sự sắp xếp chưa định hướng của các nhóm chức năng trên phân tử enzym.

Vì vậy, một số phản ứng hóa học mặc dù có điều kiện cần là khả năng xảy ra theo hướng năng lượng thấp hơn ($\Delta G < 0$), nhưng phản ứng vẫn không xảy ra được. Muốn phản ứng xảy ra phải có thêm điều kiện đủ, nghĩa là phải cung cấp cho hệ thống phản ứng một năng lượng để thắng được sức ý về hóa học của vật chất. Năng lượng cần cung cấp ấy được gọi là *năng lượng hoạt hóa*.

4.3. Năng lượng hoạt hóa (activation energy: E_a)

Năng lượng hoạt hóa là năng lượng cần thiết để nâng tất cả các phân tử của 1 mol cơ chất ở một nhiệt độ nhất định lên *trạng thái chuyển tiếp* (transition state) ở đỉnh của hàng rào năng lượng, để phản ứng enzym có thể xảy ra. Ở trạng thái chuyển tiếp, mỗi phân tử cơ chất có thể sẵn sàng tham gia vào sự tạo thành sản phẩm phản ứng.

4.4. Cơ chế tác dụng của enzym

Có một cách để cung cấp nhiều năng lượng hơn cho phản ứng là làm tăng nhiệt độ, điều này thật sự làm tăng tương tác giữa các phân tử, tuy nhiên điều này không xảy ra trong điều kiện sinh lý bình thường. Cơ chế tác dụng của enzym là enzym *làm giảm năng lượng hoạt hóa* của phản ứng để các cơ chất dễ dàng đạt được mức năng lượng để đưa phản ứng vào trạng thái chuyển tiếp, từ đó phản ứng có thể xảy ra. Tốc độ của phản ứng phụ thuộc vào số các phân tử cơ chất vượt qua hàng rào năng lượng để phản ứng vào trạng thái chuyển tiếp.

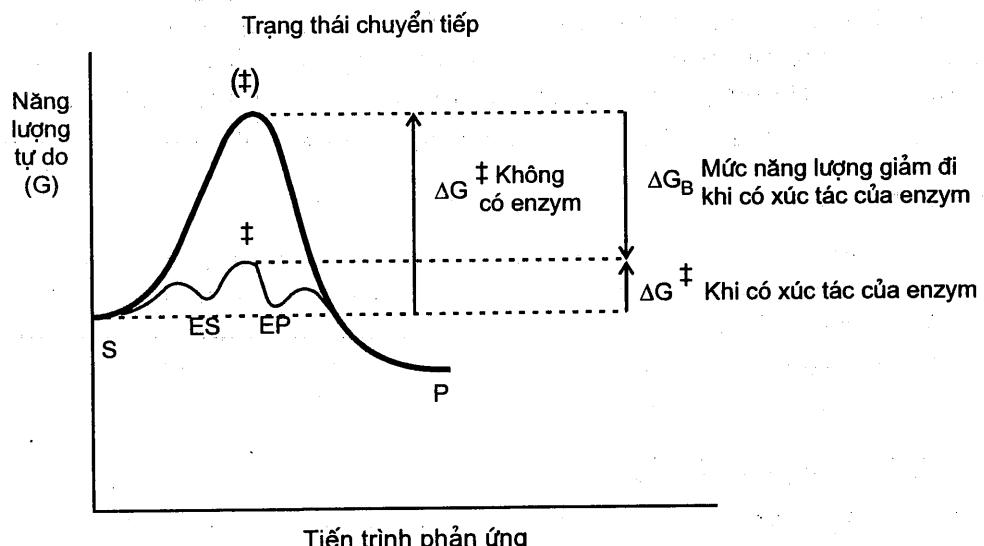
Vậy enzym là giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng bằng cách nào? Thật sự, enzym làm giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng bằng cách kết hợp với cơ chất tạo thành phức hợp enzym- cơ chất (E-S) theo phản ứng qua 2 bước sau:



(a) (b)

Ở đây, E là enzym, S là cơ chất (substrate), ES là phức hợp enzym-cơ chất và P là sản phẩm của phản ứng (product). Như vậy, enzym có tác dụng biến một hóa học đơn thuần thành một phản ứng hóa học qua 2 bước gồm một *phản ứng liên phân tử* (a) và một *phản ứng nội phân tử* (b) nhờ tạo thành phức hợp enzym-cơ chất, cả hai phản ứng này đều đòi hỏi năng lượng hoạt hóa thấp hơn rất nhiều so với phản ứng không có sự xúc tác của enzym.

Cách làm giảm năng lượng hoạt hóa của enzym là enzym kết hợp với cơ chất để tạo thành phức hợp E-S qua trạng thái chuyển tiếp E-S₁* bằng những tương tác, tạo ra các liên kết yếu nhờ một năng lượng hoạt hóa thấp, đồng thời giải phóng ra năng lượng tự do. Năng lượng tự do được giải phóng này lại góp phần hoạt hóa phức hợp E-S để đưa phức hợp này vào trạng thái chuyển tiếp E-S₂* với năng lượng hoạt hóa cũng rất thấp để tạo sản phẩm P và E tự do, đồng thời cũng giải phóng năng lượng tự do. Như vậy, bằng cách tạo ra phức hợp E-S, enzym chỉ cần những năng lượng hoạt hóa rất nhỏ cũng có thể thúc đẩy phản ứng xảy ra. Cũng chính vì vậy, các phản ứng enzym dễ dàng xảy ra trong điều kiện nhiệt độ sinh lý của cơ thể.



Hình 5.6. Cơ chế tác dụng của enzym: enzym làm giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng của cơ chất S bằng cách tạo thành phức hợp enzym- cơ chất ES với mức năng lượng hoạt hóa thấp hơn nhiều so với khi không có enzym xúc tác để đưa phản ứng vào trạng thái chuyển tiếp, từ đó tạo thành phức hợp enzym sản phẩm EP và phản ứng tạo thành sản phẩm P và giải phóng E dễ dàng xảy ra.

5. ĐỘNG HỌC ENZYMO

5.1. Tốc độ phản ứng enzym

5.1.1. Định nghĩa tốc độ phản ứng enzym

Tốc độ phản ứng của một enzym là lượng cơ chất bị biến đổi dưới tác dụng của enzym ấy trong một phút ở nhiệt độ 25°C dưới các điều kiện được chuẩn hóa.

5.1.2. Đơn vị đo tốc độ phản ứng enzym

Đơn vị hoạt độ enzym được thể hiện bằng đơn vị quốc tế (International Units, IU hoặc U) và được định nghĩa là lượng enzym làm biến đổi 1 μmol cơ chất thành sản phẩm trong 1 phút ở 25°C dưới các điều kiện đã được chuẩn hóa.

5.1.3. Tốc độ ban đầu (v)

Tốc độ ban đầu của một phản ứng enzym (được ký hiệu là v) có nồng độ enzym, nồng độ cơ chất, ở một nhiệt độ và pH nhất định, là tốc độ phản ứng enzym ở những phút đầu tiên của phản ứng, khi mà tốc độ phản ứng chưa bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi của nhiệt độ, pH, nồng độ sản phẩm phản ứng,... Tốc độ ban đầu tăng lên một cách tuyến tính, sau đó cong đi. Hoạt độ enzym chỉ được đo một cách chính xác ở tốc độ ban đầu, nghĩa là đo trong khoảng 5 phút đầu tiên của phản ứng.

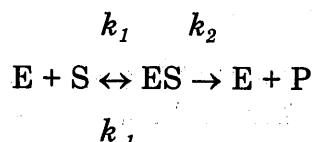
5.1.4. Tốc độ cực đại (V_{max})

Với một nồng độ enzym thích hợp, nhiệt độ và pH thích hợp, khi nồng độ cơ chất tăng lên thì tốc độ phản ứng tăng lên. Khi các phân tử enzym đều bão hòa cơ chất thì tốc độ phản ứng đạt tốc độ tối đa (V_{max}).

5.2. Thuýết Michaelis-Menten

Năm 1913, Michaelis và Menten đã đề ra giả thuyết về vai trò của nồng độ cơ chất trong việc hình thành phức hợp enzym – cơ chất ES.

Sự liên quan nói chung giữa enzym, cơ chất và sản phẩm phản ứng được thể hiện bằng phương trình sau:



Giả thuyết của Michaelis-Menten về sự liên quan giữa tốc độ phản ứng và nồng độ cơ chất được tính toán theo phương trình Michaelis-Menten:

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

Ở đây v = tốc độ phản ứng

V_{max} = tốc độ tối đa

$[S]$ = nồng độ cơ chất

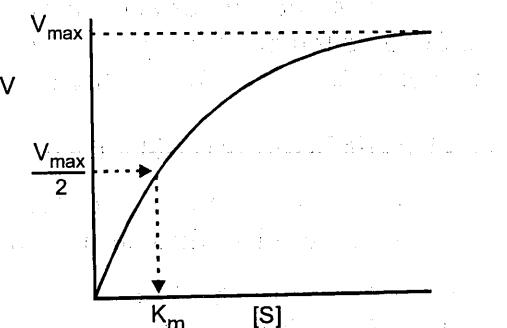
K_M = hằng số Michaelis của enzym đối với cơ chất.

Khi nồng độ cơ chất thấp hơn K_M rất nhiều, nghĩa là với số lượng enzym vượt quá số lượng cơ chất, trong phương trình Michaelis-Menten, ta có thể bỏ $[S]$ ở mẫu số, phương trình trở thành dạng $v = V_{max} [S] / K_M$, đây là phương trình tuyến tính dạng $y = ax$, nghĩa là tốc độ phản ứng chỉ phụ thuộc vào nồng độ cơ chất $[S]$. Lúc này phản ứng là phản ứng động học bậc 1 bởi vì tốc độ phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ cơ chất.

Khi nồng độ cơ chất tăng lên đến mức đạt giá trị bằng giá trị K_M thì phương trình Michaelis-Menten trở thành dạng $v = V_{max}/2$, có nghĩa là tốc độ phản ứng bằng 1/2 tốc độ tối đa.

Khi nồng độ cơ chất lớn hơn K_M rất nhiều thì ta có thể bỏ K_M ở mẫu số của phương trình Michaelis-Menten, và phương trình trở thành dạng $v = V_{max}$, có nghĩa là tốc độ phản ứng đạt tốc độ tối đa (V_{max}). Lúc này tất cả các phân tử enzym đều bão hòa cơ chất, phản ứng đạt động học “bậc không”, bởi vì, dù có tiếp tục tăng nồng độ cơ chất thì tốc độ phản ứng cũng không thay đổi và lúc này tốc độ phản ứng chỉ phụ thuộc vào nồng độ enzym.

Hình 5.7. Đồ thị Michaelis-Menten về sự phụ thuộc của tốc độ phản ứng vào nồng độ cơ chất: K_m là nồng độ cơ chất mà ở đó tốc độ phản ứng bằng 1/2 tốc độ tối đa.



Ý nghĩa của các giá trị K_m :

- K_m là hằng số tổng hợp của các hằng số tốc độ, có giá trị bằng nồng độ cơ chất cần thiết để tốc độ phản ứng đạt bằng 1/2 tốc độ tối đa. Như vậy, K_m được tính bằng mol/L.
- K_m là hằng số đặc trưng của mỗi enzym đối với mỗi cơ chất, nó thể hiện ái lực của enzym đối với cơ chất: K_m càng nhỏ, ái lực của enzym đối với cơ chất càng lớn, bởi vì chỉ cần một lượng cơ chất rất nhỏ, tốc độ phản ứng đã đạt 1/2 tốc độ tối đa, K_m càng lớn, ái lực của enzym đối với cơ chất càng nhỏ, bởi vì phải cần một lượng lớn cơ chất, tốc độ phản ứng mới đạt 1/2 tốc độ tối đa.
- Muốn đạt được V_{max} , nồng độ cơ chất phải ≥ 100 lần K_m .

Ý nghĩa của V_{max} : tốc độ tối đa V_{max} thể hiện số vòng quay (turnover number) của một enzym. Hằng số động học k_2 được gọi là số vòng quay. Số vòng quay của một enzym là số phân tử cơ chất được biến đổi thành sản phẩm trong một đơn vị thời gian, khi enzym này được bão hòa đầy đủ với cơ chất.

Bảng 5.1. Số vòng quay của một số enzym
[theo Lehninger A, 2005 và Stryer L, 1993]

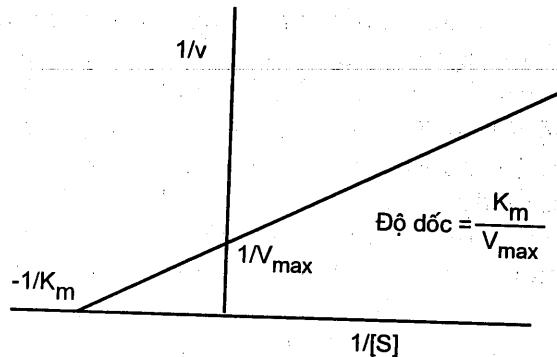
Enzym	Cơ chất	Số vòng quay/giây
Catalase	H_2O_2	40.000.000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400.000
Acetyl cholinesterase	Acetyl cholin	14.000
Lactat dehydrogenase	Lactat	1.000
Fumarase	Fumarat	800
DNA polymerase I	DNA	15
ATPase	ATP	0,4

Phương trình và đồ thị Lineweaver-Burk:

V_{max} rất khó có thể được xác định một cách chính xác từ đồ thị hyperbol của Michaelis-Menten, vì vậy, Lineweaver-Burk đã cải tiến phương trình Michaelis-Menten bằng cách nghịch đảo phương trình này và thu được phương trình tuyến tính dạng $y = ax + b$ như sau:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{max}} = \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Hình 5.8. Đồ thi Lineweaver-Burk.



Ý nghĩa của đồ thị Lineweaver-Burk:

- Đồ thị này đã biến đồ thị hyperbol thành đồ thị tuyến tính (dạng thẳng), như vậy, từ đồ thị này có thể tìm K_M và V_{max} một cách dễ dàng.
- Đồ thị này là công cụ để xác định pH và nhiệt độ tối ưu.
- Đồ thị này cũng còn là công cụ để xác định loại chất ức chế là chất ức chế cạnh tranh hay không cạnh tranh đối với một enzym nhất định.

6. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HOẠT ĐỘNG CỦA ENZYME

Vì các enzym có trong huyết thanh với những lượng rất nhỏ nên trong thực tế lâm sàng người ta thường đo hoạt độ enzym chứ không đo nồng độ

enzym. Trong nghiên cứu về enzym, người ta thường khảo sát tốc độ phản ứng enzym ở các điều kiện khác nhau. Các yếu tố sau có thể ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng enzym.

6.1. Nồng độ cơ chất [S]

Sự ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến hoạt động của enzym đã được mô tả ở phần động học enzym với phương trình và đồ thị Mechaelis-Menten.

6.2. Nồng độ enzym [E]

Ngoài nồng độ cơ chất, nồng độ enzym cũng ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng enzym. Đối với cùng một lượng cơ chất, tốc độ phản ứng enzym tăng khi tăng nồng độ enzym và ngược lại. Tuy nhiên, giá trị K_M không bị phụ thuộc vào nồng độ enzym.

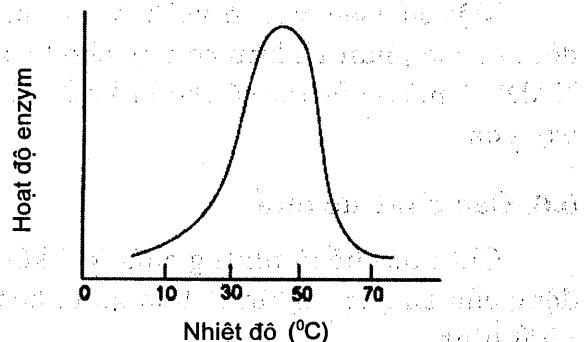
6.3. Nhiệt độ

Nhiệt độ tăng thường làm tăng tốc độ của một phản ứng hóa học do làm tăng sự chuyển động của các phân tử, làm tăng số va chạm hiệu quả của các phân tử enzym và cơ chất và cũng cung cấp năng lượng cho phản ứng. Tuy nhiên, sau khi đạt được tốc độ tối đa, tốc độ phản ứng giảm dần bởi vì bản chất của enzym là protein nên khi nhiệt độ tăng cao sẽ dẫn đến biến tính protein, làm mất hoạt tính xúc tác của chúng. Hầu hết các enzym có một ranh giới nhiệt độ tối ưu giống như điều kiện nhiệt độ sinh lý của cơ thể. Sự biến tính bắt đầu xảy ra ở nhiệt độ từ 40 đến 50°C và sự biến tính xảy ra ở những nhiệt độ cao hơn. Thời gian tiếp xúc với nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến sự hoạt động của enzym. Enzym có thể chịu đựng được nhiệt độ cao hơn trong một thời gian ngắn. Nói chung, ở ranh giới nhiệt độ enzym chưa bị biến tính, khi tăng nhiệt độ lên 10°C, tốc độ phản ứng tăng lên gấp hai lần, nghĩa là giá trị hệ số nhiệt độ (temperature coefficient) Q_{10} bằng 2. Như vậy, các kết quả phân tích enzym phải được nêu rõ là được thực hiện ở nhiệt độ nào và phải hiệu chỉnh bằng bảng hiểu chỉnh hoạt độ enzym theo nhiệt độ nếu cần thiết. Các mẫu huyết tương có thể được bảo quản ở nhiệt độ trong tủ lạnh (0-4°C) hoặc đông lạnh trong một thời gian nhất định cho đến khi phân tích mà các enzym không bị mất hoạt tính. Tuy nhiên, không nên đông lạnh rồi lại làm tan enzym nhiều lần bởi vì điều này có thể gây biến tính protein.

Ngoài ra, ngày nay, các vi khuẩn sống ở đáy biển nóng hoặc suối nước nóng người ta đã phát hiện được một số enzym bền với nhiệt, có khả năng chịu nhiệt rất cao. Ví dụ: các enzym Taq DNA polymerase, Tli DNA polymerase, Pfu DNA polymerase, Tth DNA polymerase, Tma DNA polymerase, ... có nhiệt độ tối ưu khoảng 75-80°C, có thể hoạt động ở nhiệt độ 95°C trong vài chục phút. Vì vậy, các enzym này hiện đang được sử dụng rộng rãi cho phản ứng chuỗi polymerase (polymerase chain reaction: PCR).

như nhiệt độ, pH môi trường, chất hoạt hóa, chất ức chế, thời gian phản ứng, nồng độ enzyme và nồng độ chất phản ứng.

Hình 5.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ trên tốc độ phản ứng enzym.

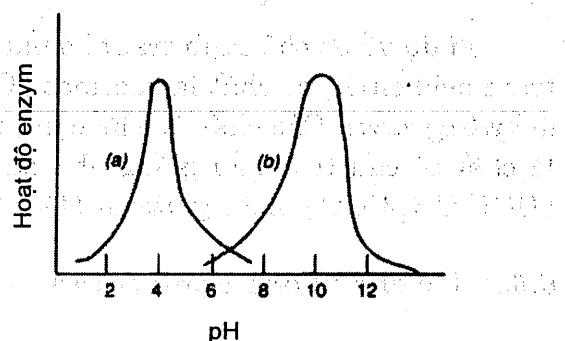


6.4. pH môi trường

Bản chất của các enzym là protein nên chúng mang điện. Các mức độ pH khác nhau có thể gây biến tính enzym hoặc ảnh hưởng đến trạng thái ion hóa của enzym, gây nên sự thay đổi cấu trúc hoặc thay đổi điện tích trên các gốc acid amin ở trung tâm hoạt động. Vì vậy, mỗi enzym chỉ hoạt động trong một ranh giới pH đặc hiệu và hoạt động tối ưu ở một pH đặc hiệu. Hầu hết các phản ứng enzym sinh lý xảy ra trong một giới hạn pH khoảng từ 7 đến 8, nhưng một số enzym hoạt động trong một giới hạn pH rộng hơn một số enzym khác. Trong phòng thí nghiệm, phải được kiểm soát một cách chặt chẽ ở pH tối ưu bằng những dung dịch đậm thích hợp.

Hình 5.10. Ảnh hưởng của pH đến tốc độ phản ứng enzym.

(a) pH tối ưu của pepsin và (b) pH tối ưu của trypsin



6.5. Các chất hoạt hóa

Các chất hoạt hóa (activator) là các chất làm tăng tốc độ của phản ứng enzym hoặc là làm cho enzym ở trạng thái không hoạt động trở thành trạng thái hoạt động. Các chất hoạt hóa thường là các phân tử nhỏ hoặc các ion. Các chất hoạt hóa của enzym nói chung thường là các kim loại (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} và K^+) hoặc á kim (Br^- và Cl^-). Cơ chế hoạt động của các chất hoạt hóa là tạo nên một vị trí hoạt động tích điện dương để có thể tác động vào các nhóm tích điện âm của cơ chất. Các chất hoạt hóa khác có vai trò làm thay đổi cấu hình không gian của enzym, làm ổn định cấu trúc bậc ba và bậc bốn của phân tử enzym, làm enzym dễ gắn với cơ chất, cũng có thể có vai trò liên kết cơ chất với enzym hoặc với coenzym, hoặc tạo ra sự oxy hóa hoặc sự khử.

Một số coenzym có vai trò như một chất hoạt hóa đối với một số enzym đòi hỏi các phân tử hữu cơ này cho hoạt tính enzym đầy đủ của chúng. Ví dụ: NAD^+ là một cofactor có thể bị khử thành NADH trong đó cơ chất thứ nhất bị oxy hóa.

6.6. Các chất ức chế

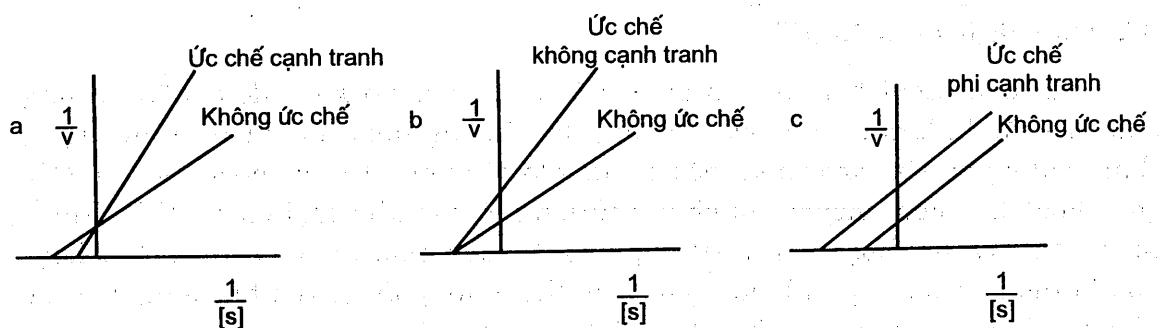
Chất ức chế là những chất khi kết hợp với enzym có tác dụng ức chế hoạt động của enzym, nghĩa là làm giảm hoặc làm mất hoạt tính của những enzym nhất định.

6.6.1. Ức chế cạnh tranh (competitive inhibitor)

Ức chế cạnh tranh là sự ức chế của những chất có cấu trúc tương tự như phân tử cơ chất bình thường và cạnh tranh với cơ chất để gắn vào trung tâm hoạt động của một enzym nhất định. Sự ức chế cạnh tranh có khả năng thuận nghịch, vì vậy có thể được khắc phục sự ức chế cạnh tranh bằng cách tăng nồng độ cơ chất. Khi cơ chất nhiều hơn, chúng sẽ cạnh tranh với chất ức chế để gắn vào trung tâm hoạt động. Như được chỉ ra ở hình 5.11 từ đồ thị Lineweaver-Burk, giá trị V_{max} là không thay đổi nhưng giá trị K_m là lớn hơn, điều này chỉ ra rằng cần một nồng độ cơ chất lớn hơn để đạt được động học bậc “0” do các ảnh hưởng của chất ức chế cạnh tranh.

Ví dụ về ức chế cạnh tranh: ở phản ứng từ succinat đến fumarat trong chu trình acid citric, cơ chất là succinat ($\text{OOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$), enzym là *succinat dehydrogenase*. Các chất ức chế cạnh tranh với enzym succinat dehydrogenase là chất có cấu trúc gần giống như succinat như oxalat (OOC-COO^-), malonat ($\text{OOC-CH}_2\text{-COO}^-$), hoặc glutarate ($\text{OOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}^-$).

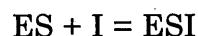
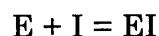
6.6.2. Ức chế không cạnh tranh (noncompetitive inhibition):



Hình 5.11. Ảnh hưởng của các chất ức chế trên đồ thị Lineweaver - Burk.

a. Ức chế cạnh tranh. b. Ức chế không cạnh tranh. c. Ức chế phi cạnh tranh.

Sự ức chế không cạnh tranh xảy ra khi chất ức chế này gắn vào enzym ở một vị trí không phải trung tâm hoạt động. Sự gắn này có thể xảy ra với cả enzym và với cả cả phức hợp enzym-cơ chất tạo thành phức hợp EI và ESI:



Sự gắn này gây nên một sự thay đổi cấu hình không gian của cấu trúc phân tử enzym, làm cho trung tâm hoạt động cũng bị thay đổi, không thể tiếp nhận được cơ chất, nếu đã tiếp nhận cơ chất cũng không thể biến đổi cơ chất thành sản phẩm. Sự tăng nồng độ cơ chất không ảnh hưởng đến sự gắn của ức chế không cạnh tranh vào phân tử enzym nên không thể khắc phục được tình trạng ức chế bằng cách tăng nồng độ cơ chất. Do đó, ảnh hưởng của ức chế không cạnh tranh trên động học của phản ứng là làm giảm V_{max} bởi vì tốc độ tối đa không thể đạt được do enzym bị bất hoạt nhưng giá trị K_m không thay đổi. Ví dụ về ức chế không cạnh tranh: các ion kim loại như chì (Pb) và thủy ngân (Hg).

6.6.3. Ức chế phi cạnh tranh (uncompetitive inhibition)

Một kiểu ức chế có khả năng thuận nghịch khác được gọi là *ức chế phi cạnh tranh*. Sự ức chế này xảy ra khi một chất ức chế gắn vào phức hợp enzym-cơ chất (ES) ở một vị trí khác với trung tâm hoạt động để hình thành một phức hợp enzym-cơ chất- chất ức chế (ESI) mà không tạo ra sản phẩm (P):



Sự tăng nồng độ cơ chất thực sự làm tăng sự ức chế bởi vì đã cung cấp nhiều phức hợp enzym-cơ chất hơn để chất ức chế có thể gắn vào. Ảnh hưởng của chất ức chế phi cạnh tranh được chỉ ra trên đồ thị Lineweaver-Burk là làm giảm giá trị V_{max} do bất hoạt enzym và làm giảm giá trị K_m .

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày cách gọi tên và phân loại enzym theo phân loại quốc tế, cho ví dụ mỗi loại.
2. Trình bày thành phần cấu tạo của enzym.
3. Trình bày trung tâm hoạt động của enzym.
4. Trình bày các dạng cấu trúc của phân tử enzym.
5. Trình bày cấu tạo phân tử và cơ chế hoạt động của coenzym NAD⁺ và FAD.
6. Trình bày cơ chế hoạt động của enzym.
7. Trình bày phương trình và đồ thị Mechaelis-Menten.
8. Trình bày phương trình và đồ thị Lineweaver - Burk.
9. Trình bày ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến hoạt động của enzym.
10. Trình bày ảnh hưởng của các yếu tố hoạt hóa và ức chế đến hoạt động của enzym.

Chương 6

NĂNG LƯỢNG SINH HỌC

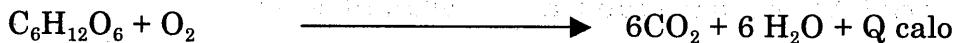
MỤC TIÊU

- Phân tích được một cách khái quát các bước thoái hóa glucid, lipid, protein trong cơ thể tạo năng lượng dưới dạng ATP.
- Trình bày được bằng sơ đồ chuỗi vận chuyển điện tử (thành phần của các phức hợp, cơ chế vận chuyển điện tử, năng lượng giải phóng) và cơ chế tạo ATP ở ty thể.
- Trình bày được chu trình acid citric: các giai đoạn, công thức, enzym, năng lượng, đặc điểm và ý nghĩa.

Mọi tế bào, cơ thể sống đều cần năng lượng cho sự hoạt động, tồn tại, phát triển của mình. Khi thiếu năng lượng cơ thể trở nên mỏi mệt và phải “nạp” năng lượng từ bên ngoài qua đường ăn và uống. Các thành phần trong thức ăn, nước uống có khả năng cung cấp năng lượng cho cơ thể và tế bào là glucid, lipid, protein.

Năng lượng sinh học hay sự oxy hóa sinh học hay còn gọi là sự hô hấp tế bào là quá trình đốt cháy các chất hữu cơ (G, L, P) tạo năng lượng cho các hoạt động sống của cơ thể.

Khi vào cơ thể, tế bào các thành phần hữu cơ trên sẽ thoái hóa cung cấp năng lượng và sinh ra các chất cặn bã (CO_2 , NH_3 , ...). Nếu chỉ xem xét về lượng chất thoái hóa và năng lượng, sản phẩm tạo ra thì việc thoái hóa (đốt cháy) các chất hữu cơ diễn ra trong và ngoài cơ thể là giống nhau. Ví dụ sự đốt cháy một phân tử glucose:



Tuy nhiên, quá trình diễn biến sự đốt cháy các chất hữu cơ diễn ra trong và ngoài cơ thể khác nhau về bản chất.

Sự đốt cháy các chất hữu cơ ngoài cơ thể xảy ra nhanh, mạnh mẽ, cần ngọn lửa, oxy không khí tác dụng trực tiếp, nhanh với carbon, hydro của chất hữu cơ; năng lượng (Q) giải phóng cùng một lúc.

Sự đốt cháy các chất hữu cơ trong cơ thể trong điều kiện nhiệt độ không cao (37°C), môi trường 2/3 là nước, lượng nhiệt tỏa ra không được quá lớn mà

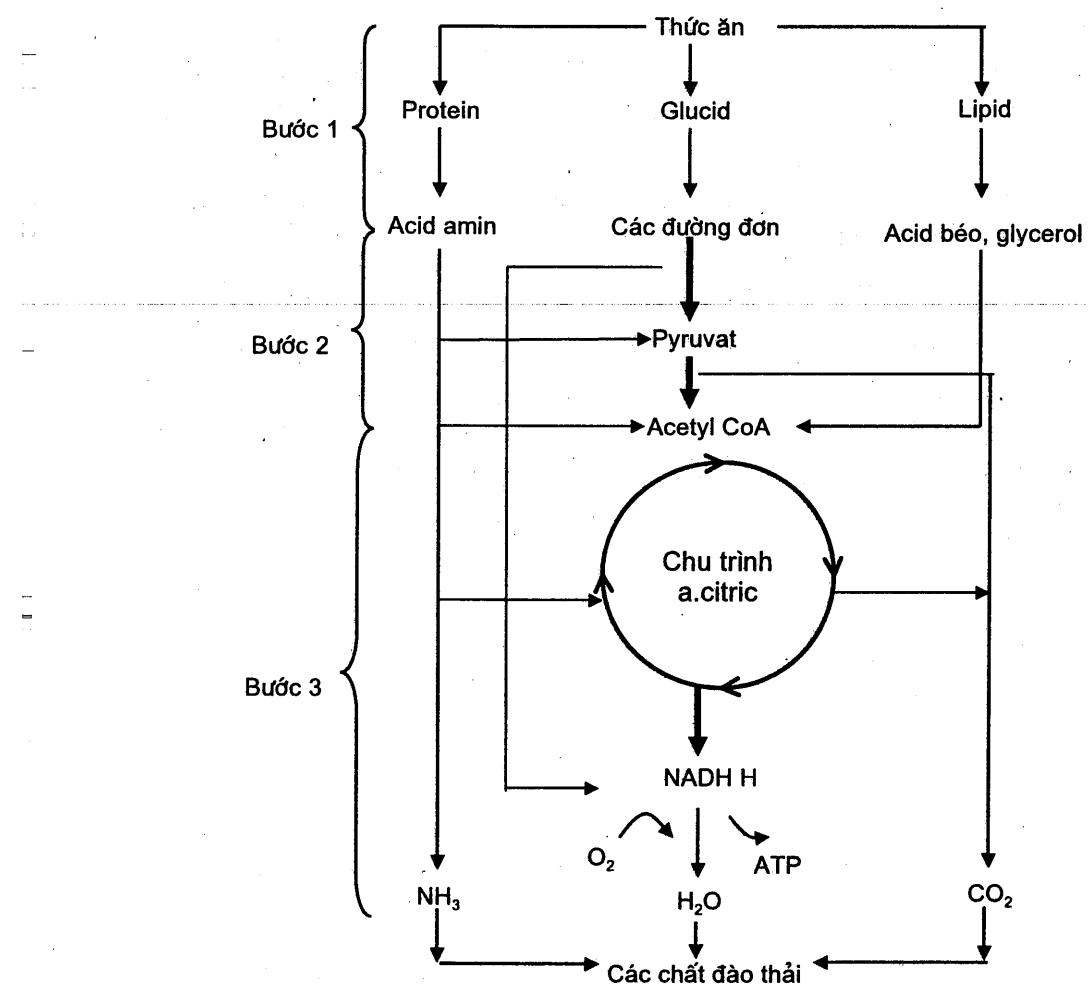
lúc, oxy không khí không tiếp xúc trực tiếp với carbon và hydro của cơ chất. Vì vậy quá trình đốt cháy các chất xảy ra từ từ, từng bước, không có ngọn lửa, ít tăng nhiệt độ, năng lượng được giải phóng dần. Năng lượng giải phóng trong quá trình đốt cháy các chất hữu cơ trong cơ thể được tích trữ lại dưới dạng năng lượng hóa học. Năng lượng này sẽ được sử dụng trong các hoạt động sống của cơ thể như: co cơ, dẫn truyền xung động thần kinh, hấp thu, bài tiết, tổng hợp các chất cần thiết, v.v.

Sự thoái hóa các chất G, L, P từ thức ăn được minh họa ở hình 6.1 diễn ra qua 3 bước:

Bước 1: sự thoái hóa các chất đến khi tạo ra các đơn vị cấu tạo.

Thoái hóa glucid sẽ tạo ra đơn vị cấu tạo là glucose. Thoái hóa lipid tạo ra đơn vị cấu tạo là acid béo, glycerol. Thoái hóa protid tạo ra đơn vị cấu tạo là các acid amin.

Bước 2: sự thoái hóa các đơn vị cấu tạo đến khi tạo ra các sản phẩm chuyển hóa trung gian như acid pyruvic, acetyl coA, v.v.



Hình 6.1. Khái quát sự đốt cháy các chất hữu cơ G, L, P trong cơ thể

Bước 3: sự thoái hóa các chất chuyển hóa trung gian đến sản phẩm cuối cùng là các chất cặn bã (CO_2 , NH_3) đào thải ra ngoài cơ thể.

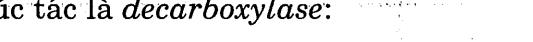
Sự thoái hóa các chất ở bước 1 và 2 diễn ra theo những quá trình riêng, con đường riêng và sẽ được trình bày chi tiết ở các chương sau. Sự thoái hóa các chất G, L, P ở bước 3 là giống nhau và năng lượng sinh học giải phóng khi thoái hóa các chất chủ yếu xảy ra ở bước này. Vì vậy, chương này trình bày chi tiết giai đoạn 3 của quá trình thoái hóa chất tạo năng lượng. Riêng thoái hóa glucid ở bước 2 cũng có tạo năng lượng, nhưng chỉ với một lượng rất nhỏ và cơ chế tạo năng lượng sinh học dự trữ (ATP) là hoàn toàn khác với cơ chế chủ yếu tạo ATP ở bước 3.

2. BẢN CHẤT CỦA SỰ HÔ HẤP TẾ BÀO

Khi đốt cháy các chất hữu cơ tạo năng lượng, tế bào cần sử dụng O_2 và tạo ra sản phẩm CO_2 , H_2O . Đây chính là sự hô hấp, và quá trình sử dụng O_2 , tạo CO_2 , H_2O diễn ra trong tế bào nên còn gọi là hô hấp tế bào.

2.1. Quá trình tạo H_2O và CO_2 .

- Thuyết hiện đại về sự hô hấp giải thích một cách toàn diện, chính xác về sự sử dụng oxy, giải phóng khí CO_2 , tạo thành H_2O trong quá trình đốt cháy các chất hữu cơ.
- Khí CO_2 tạo thành do phản ứng khử carboxyl của phân tử chất hữu cơ nhờ enzym xúc tác là *decarboxylase*:



Phản ứng này không giải phóng nhiều năng lượng

- H_2O được tạo thành nhờ một dây chuyền phản ứng bao gồm hàng loạt quá trình tách, vận chuyển H_2 ra khỏi cơ chất và vận chuyển H_2 qua một chuỗi dài các chất trung gian cuối cùng tới O_2 . Trong quá trình này, cả hydro và oxy đều được hoạt hóa chuyển thành dạng các ion H^+ và O^{2-} . Những ion này hoạt động mạnh nên khi gặp nhau tạo thành H_2O .

- Quá trình vận chuyển H_2 tới O_2 tạo thành H_2O giải phóng rất nhiều năng lượng và được tích trữ lại cho cơ thể sử dụng.

2.2. Chuỗi vận chuyển điện tử

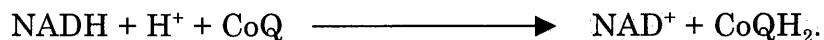
2.2.1. Thành phần chuỗi

Chuỗi vận chuyển điện tử được hình thành bởi 4 phức hợp protein vận chuyển điện tử và 2 chất vận chuyển điện tử riêng biệt như ở hình 6.5.

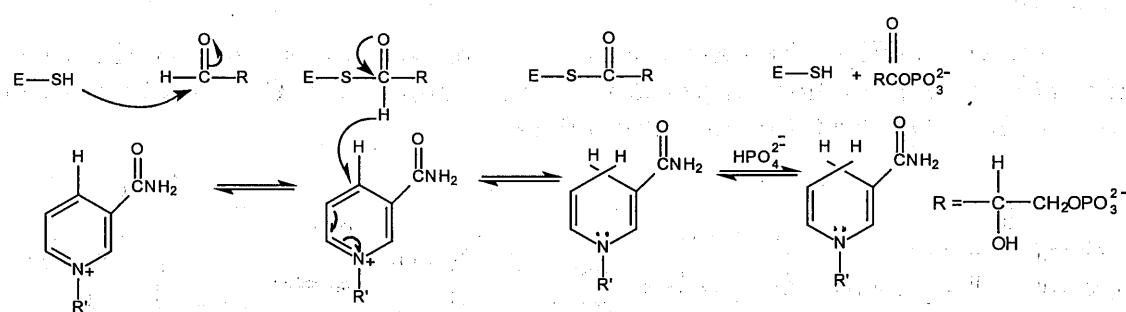
- Phức hợp I: *NADH-CoQ Reductase*.

Trong phức hợp này, các điện tử được chuyển từ NADH trước tiên tới FMN (flavin mononucleotid, có chứa Vitamin B2) và được chuyển tới một

protein chứa kim loại gắn với lưu huỳnh (trung tâm sắt lưu huỳnh). Sau đó $2e^-$ được chuyển tới CoQ tạo CoQH_2 . Toàn bộ phản ứng ở bước này có thể viết:



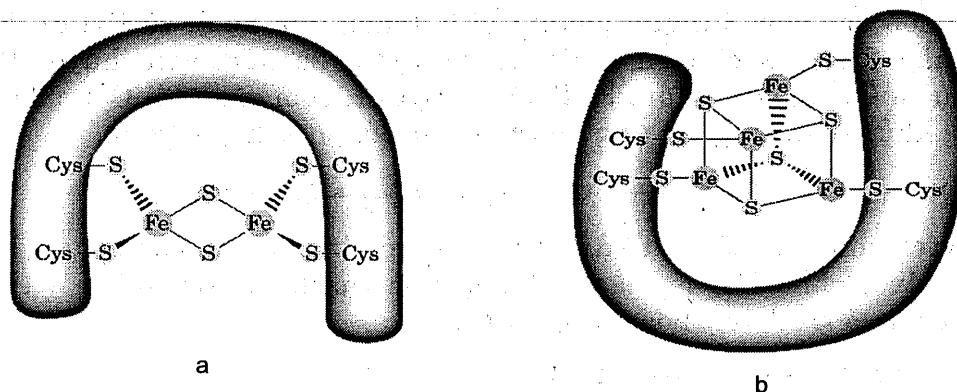
Cơ chế vận chuyển điện tử và hydro của NAD (Nicotinamid adenin dinucleotid) tới phức hợp I diễn ra thông qua nhân nicotinamid như ở hình 6.2.



Hình 6.2. Cơ chế vận chuyển điện tử của NAD^+

Trong phức hợp I, điện tử và hydro được vận chuyển trước hết tới FMN (thông qua nhân Flavin) tới trung tâm sắt-lưu huỳnh.

Cơ chế vận chuyển điện tử của trung tâm sắt lưu huỳnh là thông qua sự thay đổi hóa trị của ion sắt. Có hai trạng thái cấu hình (a,b) của trung tâm sắt-lưu huỳnh tương ứng với 2 trạng thái hóa trị của sắt như ở hình 6.3.



Hình 6.3. Hai dạng trung tâm sắt -lưu huỳnh

+ Phức hợp II: Succinat-CoQ reductase.

Trong phức hợp này, $2 e^-$ được chuyển từ succinat tới FAD trước tiên, sau đó tới trung tâm sắt -Lưu huỳnh và cuối cùng tới CoQ để tạo CoQH_2 . Toàn bộ phản ứng có thể viết như sau.

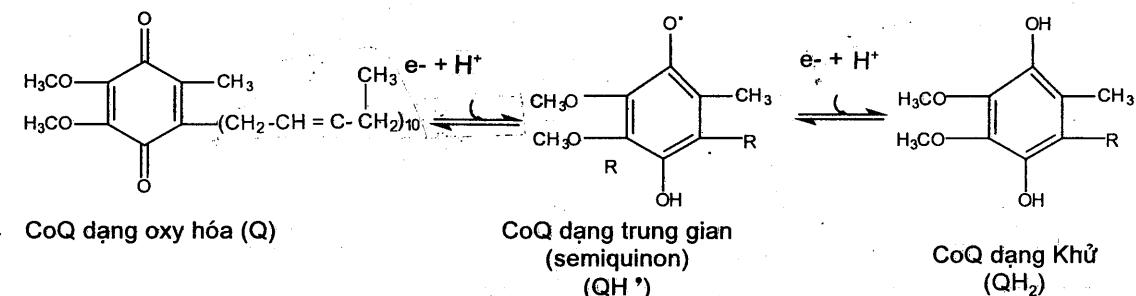


Cơ chế vận chuyển điện tử của FAD và trung tâm sắt -lưu huỳnh cũng giống như đã trình bày ở phức hợp trên.

+ **CoQ hay Ubiquinon.**

CoQ là một chất mang các nguyên tử hydro (H^+ và e^-). Quinon dạng oxy hóa có thể nhận $1 e^-$ để hình thành semiquinon và nhận tiếp theo $1 e^-$ và $2H^+$ để tạo ra dạng hydroquinon. $CoQH_2$ chuyển $2 e^-$ tới phức hợp $CoQH_2$ -Cyt c reductase.

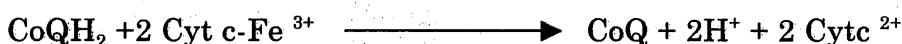
CoQ và $CoQH_2$ có thể khuyếch tán tự do vào màng trong ty thể và là điểm nối của 2 phức hợp enzym đầu và phức hợp thứ 3. Cơ chế vận chuyển điện tử của CoQ được trình bày ở hình 6.4.



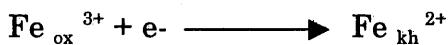
Hình 6.4. Cơ chế vận chuyển điện tử của CoQ

+ **Phức hợp III: $CoQH_2$ -Cyt c reductase.**

Phức hợp này gồm 3 thành phần: Cyt b, trung tâm Fe-S, và Cyt c1. Nhờ phức hợp này, $2 e^-$ được chuyển từ $CoQH_2$ tới Cyt c. $2 e^-$ được vận chuyển theo một trật tự từ Cyt b, trung tâm Fe-S và tới Cyt c1, cuối cùng tới Cyt c để tạo Cyt c dạng khử. Toàn bộ phản ứng được xúc tác bởi phức hợp này là:

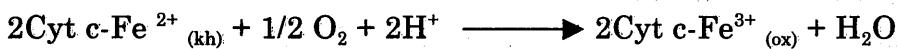


+ **Cytc:** cũng như các Cyt khác, Cyt c là protein chứa nhóm ngoại là hem giống như Myoglobin, Hb. Fe nằm ở trung tâm của hem làm nhiệm vụ vận chuyển e^- bởi quá trình oxy hóa - khử như sau:



+ **Phức hợp IV: Cytochrome oxidase.**

Phức hợp này nhận e^- từ Cyt c và e^- được chuyển theo thứ tự tới Cu_2^+ (Cyt a) và tới phức hợp chứa đồng thứ hai là Cyt a₃. Cuối cùng e^- được vận chuyển từ phức hợp này tới nguyên tử oxy (là chất nhận điện tử cuối cùng) tạo O_2^- . O_2^- kết hợp với $2H^+$ tạo H_2O . Phản ứng được xúc tác bởi phức hợp này có thể tóm tắt như sau:



2.2.2. Trật tự sắp xếp của chuỗi vận chuyển điện tử và năng lượng giải phóng

+ Thành phần của chuỗi vận chuyển điện tử được định hướng chặt chẽ theo trật tự thế năng oxy hóa - khử của các chất trong chuỗi. Theo tính toán, e⁻ đi từ chất có thế năng oxy hóa - khử thấp tới chất có thế năng oxy hóa - khử cao dần.

+ Trong quá trình vận chuyển này năng lượng được giải phóng và có thể tính được bằng một đại lượng là ΔG°

$$\Delta G^\circ = -nf \Delta E^\circ$$

ΔG° : sự biến thiên năng lượng tự do tính theo kcalo ở điều kiện chuẩn (pH=7, t=25°C)

n: số e⁻ vận chuyển

F: số Faraday = 23,062

ΔE° : sự chênh lệch thế năng của hệ thống cho và nhận e⁻.

Các giá trị trên được tính trong điều kiện tiêu chuẩn: nồng độ 0,1M, nhiệt độ 25°C, pH=7,0. Sự thay đổi năng lượng tự do của một cặp e⁻ từ NADH/NAD⁺ ($E^\circ = -0,32V$) đến H₂O/ 1/2 O₂ ($E^\circ = +0,82 V$) có $\Delta G^\circ = -2(23,062)[0,82 - (-0,32)] = -52,6$ kcalo/mol

Toàn bộ năng lượng trên được giải phóng dần từng chặng. Năng lượng đủ tạo vài phân tử ATP từ ADP và Pi (ΔG° cần cho tổng hợp ATP từ ADP + Pi = +7,3 kcalo/mol) còn một phần năng lượng tỏa ra dưới dạng nhiệt.

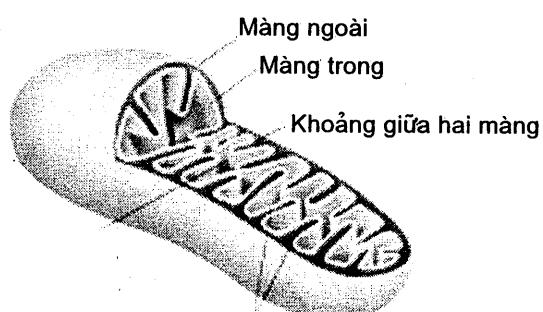
2.3. Cơ chế tạo ATP ở ty thể (mitochondria)

Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển H⁺ và e⁻ trong chuỗi vận chuyển e⁻ được dùng tạo ATP từ ADP và Pi. Tuy nhiên năng lượng trên không được sử dụng trực tiếp để tạo ATP từ ADP + Pi mà qua cơ chế phức tạp hơn.

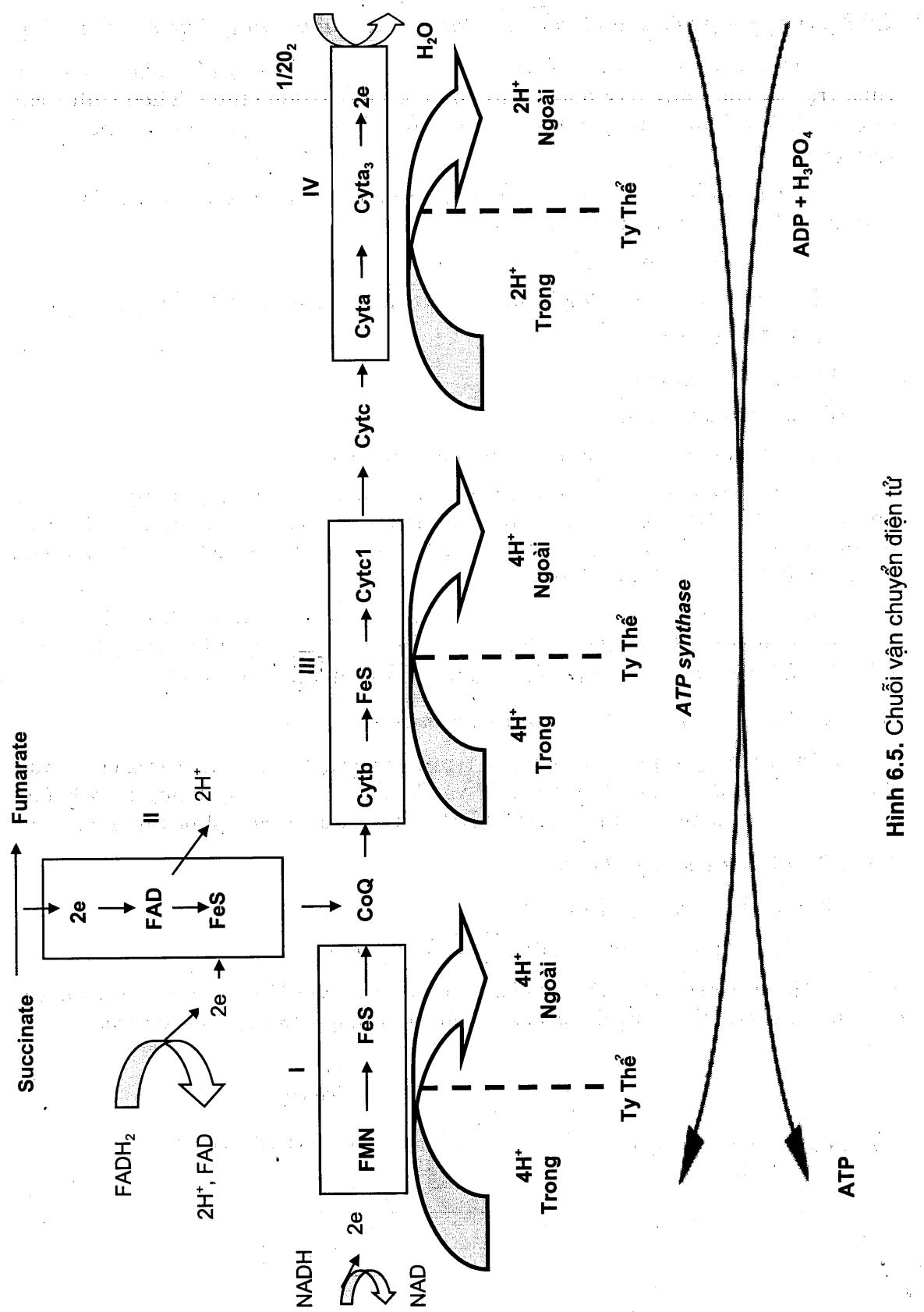
2.3.1. Nhắc lại cấu tạo ty thể

Cấu tạo bởi 2 màng sinh học.

- + Màng ngoài cho qua tự do phân tử nhỏ, ion. nhờ cardiolipin chặn lại H⁺
- + Màng trong không cho qua các ion (kể cả proton H⁺) và có chứa các enzym của chuỗi vận chuyển e⁻, hệ thống enzym vận chuyển qua màng, *ATP synthase*.



Hình 6.6. Cấu tạo sơ lược ty thể



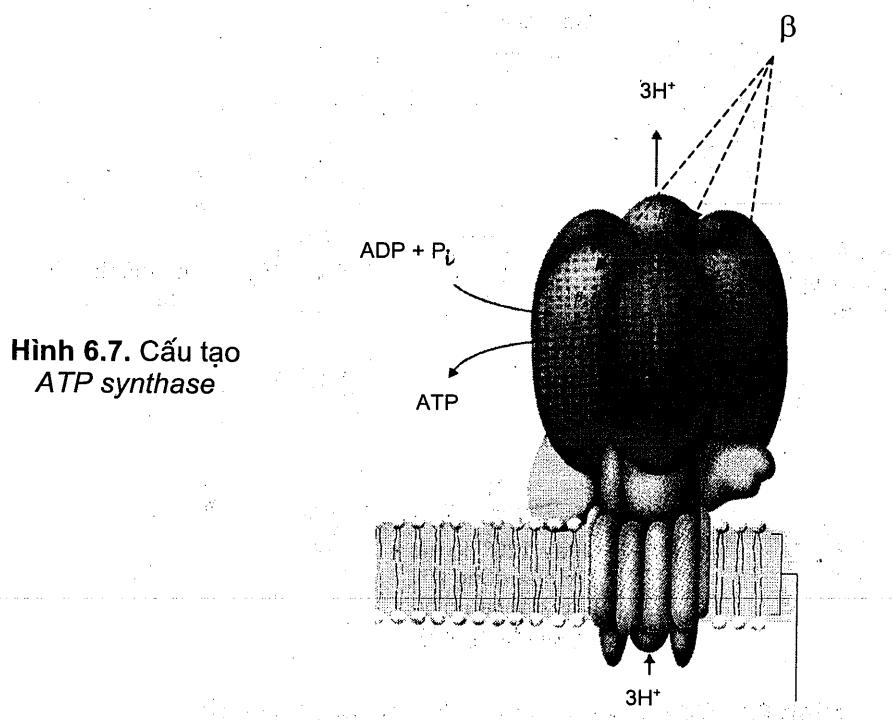
Hình 6.5. Chuỗi vận chuyển điện tử

2.3.2. ATPsynthase

+ ATPsynthase được cấu tạo bởi 2 phức hợp oligome F₀, F₁.

F₀: là một protein gắn chặt vào màng trong ty thể và gồm 3 tiểu đơn vị: a, b, c. 3 đơn vị này tạo ra một kênh cho H⁺ đi qua.

F₁: gồm 3 tiểu đơn vị α, 3 tiểu đơn vị β và được gắn với F₀ qua các tiểu đơn vị γ, ε, δ.



Hình 6.7. Cấu tạo ATP synthase

2.3.3. Cơ chế tạo ATP

- Được Peter Michell đưa ra 1961 có tên là “thuyết thẩm thấu hóa học”. Nhưng gần đây thuyết này mới được công nhận nhờ sự tiến bộ về những kỹ thuật tinh chế và cấu tạo lại màng sinh học của các bào quan.

- Năng lượng trong quá trình vận chuyển e⁻ được dùng để bơm những ion H⁺ trong ty thể ra pha lỏng bên ngoài qua màng trong ty thể. Quá trình này tạo ra một gradient ion H⁺ qua màng trong. Vì H⁺ mang điện dương, sự chênh lệch nồng độ H⁺ tạo ra một sự chênh lệch điện thế giữa 2 phía của màng trong ty thể. Chính sự chênh lệch điện thế này tạo ra một lực đẩy H⁺ trở lại khuôn ty thể qua màng trong và lực này có thể tính được

$$pmf = \psi - \left(\frac{RT}{F} \right) \Delta pH = \psi - 59 \Delta pH$$

1 đơn vị pH = 10 lần chênh lệch nồng độ H⁺

chênh lệch một đơn vị pH qua màng = điện thế là 59 mV (ở 20°C)

R: hằng số khí = 1,987 calo/mol

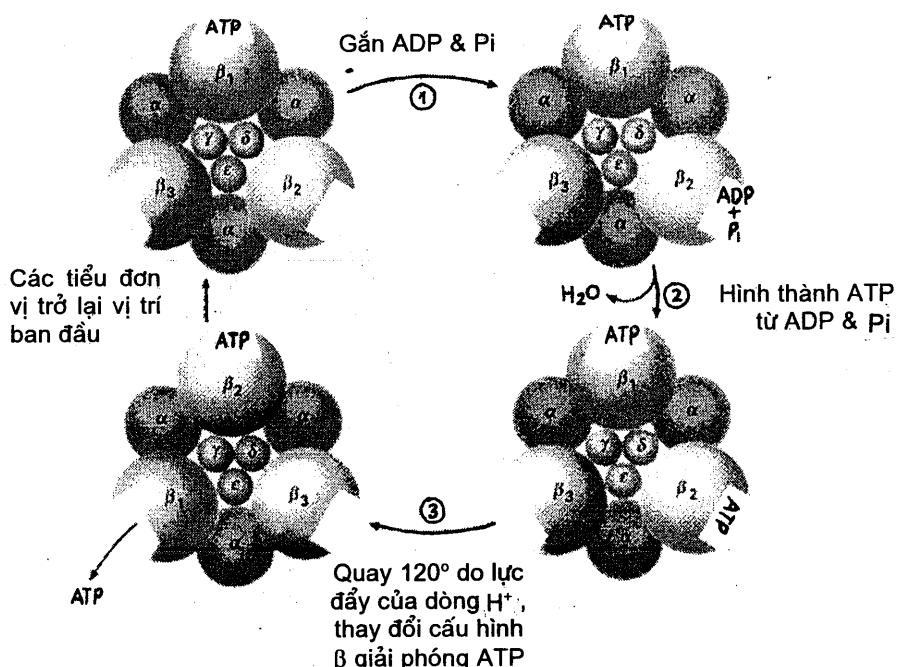
T: Nhiệt độ Kelvin.

F: hằng số faraday (23,062 calo/V⁻¹ · mol⁻¹)

ψ: Điện thế qua màng

pmf: được đo bằng mV. Ở ty thể lúc nghỉ pmf = 220 mV

- Chính lực đẩy H⁺ qua phức hợp F_oF₁ đã tạo ra ATP từ ADP + Pi



Hình 6.8. Cơ chế quay của ATP synthase tạo ATP

Ba tiểu đơn vị β (chứa trung tâm hoạt động) có sự thay đổi ở 3 dạng cấu hình, 3 dạng này khác nhau về ái lực liên kết đối với ATP, ADP và Pi.

Ở phản ứng 1, ADP và Pi gắn vào 1 trong 3 tiểu đơn vị β (ở đây là β2) và đồng thời hình thành ATP (phản ứng 2). Lực đẩy H⁺ tạo ra một sự quay 120° của các phân α₃β₃ của F1 và giải phóng 1 phân tử ATP (ở phản ứng 3) từ 1 tiểu đơn vị β (ở đây là β1) kèm theo sự thay đổi cấu hình của cả 3 tiểu đơn vị β.

Quá trình quay của F1 và tạo ATP được tiếp tục cho đến khi không còn sự chênh lệch về H⁺ giữa 2 phía của màng trong ty thể.

Giả thuyết trên về cơ chế tạo ATP đã được chứng minh bằng các thực nghiệm.

+ Trong quá trình vận chuyển e⁻ của chuỗi vận chuyển điện tử có 3 vị trí mà năng lượng giải phóng từ sự vận chuyển e⁻ đủ để đẩy H⁺ qua màng trong ty thể ra ngoài ty thể.

2e⁻ vận chuyển qua phức hợp NADH-CoQ reductase tạo ra năng lượng đủ để bơm 4 H⁺ qua màng trong.

2e⁻ vận chuyển qua phức hợp CoQH₂-Cyt c reductase bơm 4H⁺ qua màng trong

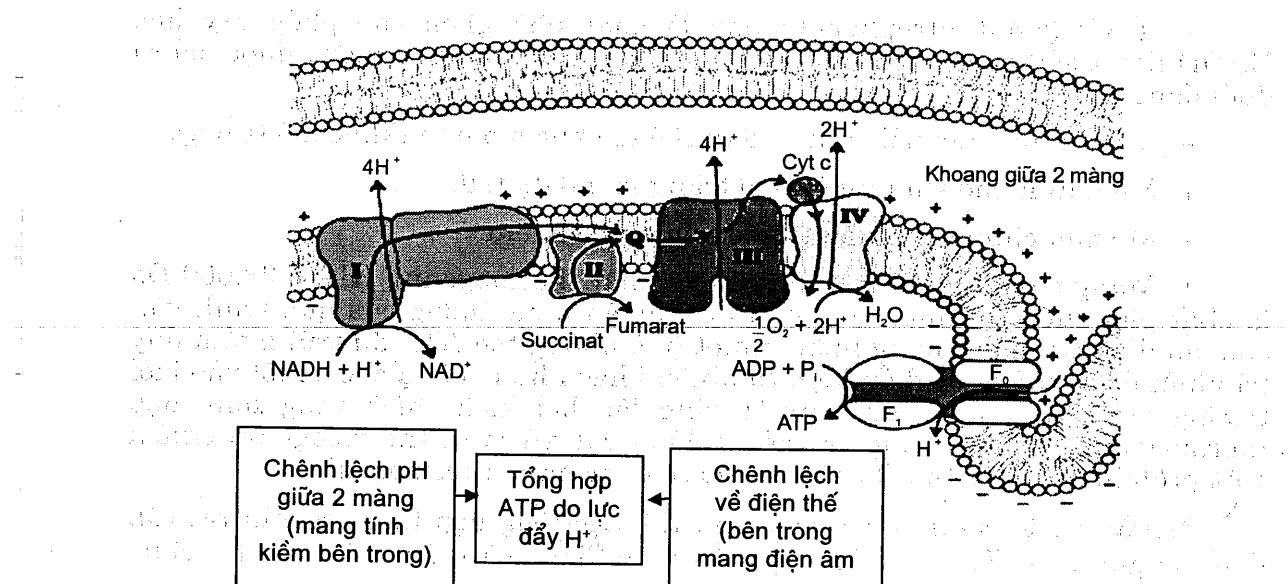
2e⁻ vận chuyển qua phức hợp cytochrome oxidase làm chuyển 2H⁺ qua màng.

Tổng cộng 10 H⁺ được bơm từ trong ty thể qua màng trong ty thể ra ngoài khi 2e⁻ được vận chuyển từ NADH tới O₂. Nếu đi từ Succinat hoặc FADH₂ chỉ có 6 H⁺ được chuyển qua màng.

Các thực nghiệm đã chứng minh rằng, sự vận chuyển 3H⁺ qua phức hợp FoF1 đủ tạo 1 phân tử ATP từ ADP + Pi.

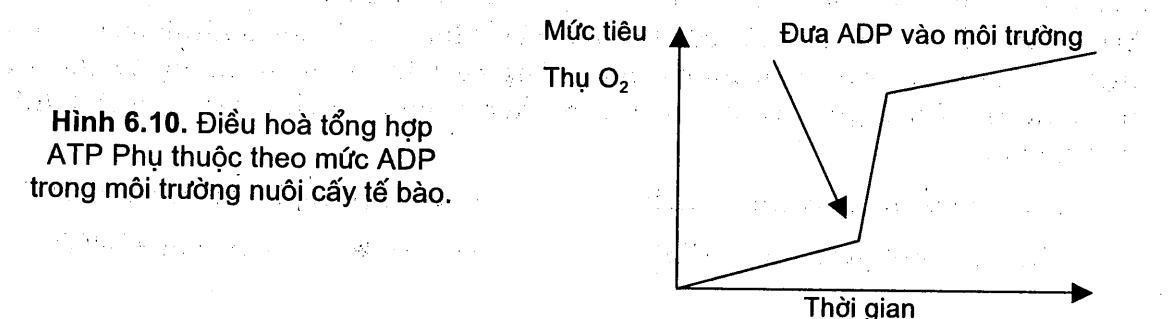
Như vậy, một chuỗi vận chuyển điện tử đi từ NADH tới O₂ tạo ra 3 ATP. Và nếu đi từ succinat tạo ra 2 ATP và nếu đi sau đó tạo 1 ATP.

Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển e⁻ còn được tế bào sử dụng vào các mục đích khác ngoài việc tạo ATP : tạo nhiệt, vận chuyển calci, ..v.v.



Hình 6.9. Năng lượng giải phóng khi vận chuyển e⁻ được dùng để bơm H⁺ qua màng trong ty thể.

2.4. Điều hòa tổng hợp ATP



Hình 6.10. Điều hòa tổng hợp ATP Phụ thuộc theo mức ADP trong môi trường nuôi cấy tế bào.

Ty thể sinh tổng hợp ATP theo nhu cầu của tế bào thông qua nồng độ ADP.

+ Nồng độ ADP thấp làm giảm tiêu thụ O₂, giảm quá trình oxy hóa (vận chuyển e⁻) và giảm tổng hợp ATP.

+ Khi tăng đột ngột nồng độ ADP (ví dụ thuỷ phân nhiều ATP trong trường hợp co cơ mạnh và nhanh) làm tăng tiêu thụ O₂, tăng quá trình oxy hóa (vận chuyển e⁻) và làm tăng quá trình tổng hợp ATP bù lại phần ATP đã bị tiêu hao. Điều hoà tổng hợp ATP được minh họa ở hình 6.10.

2.5. Các chất ức chế chuỗi hô hấp tế bào

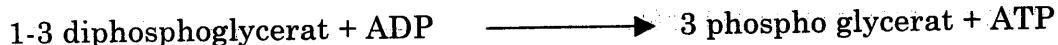
Chuỗi hô hấp tế bào bị ức chế bởi một số chất như sau:

- Rotenon: chặn sự vận chuyển e⁻ giữa NADH và Ubiquinon
- Antimicin A; được phân lập từ một chủng streptomyces, chặn sự vận chuyển e⁻ giữa Ubiquinon đến Cyt c
- CN⁻, CO⁻, HS chặn sự khử O₂ của cytochrom -a, a₃.
- DNP (2,4-dinitrophenol): đây là chất phá ghép cho phép oxy hóa NADH liên tục ở mức độ cao nhưng không tạo ATP mà năng lượng được toả ra dưới dạng nhiệt.
- Chất phá ghép nội sinh có ở ty thể tổ chức mỡ nâu (khác mỡ trắng).
- + Mỡ nâu là mỡ sinh nhiệt, mỡ trắng là mỡ dự trữ.
- + Mỡ nâu chứa rất nhiều ty thể nên có màu nâu.
- + Màng trong ty thể mỡ nâu có một chất thermogenin, KLPT 33.000 Da là chất phá ghép tự nhiên có tác dụng chuyển năng lượng của quá trình vận chuyển điện tử thành năng lượng nhiệt (mà không tạo ATP dự trữ) nhằm duy trì nhiệt độ cơ thể ở các điều kiện tự nhiên khác nhau. Ví dụ cho chuột vào môi trường lạnh, khả năng sinh nhiệt tăng lên bởi kích thích tăng tổng hợp thermogenin ở màng trong ty thể. Ở động vật xứ lạnh thermogenin chiếm 15% protein màng ty thể. Ty thể tế bào cơ cũng chứa thermogenin.

Người lớn ít mỡ nâu, trẻ mới sinh thì việc tổng hợp thermogenin rất cần thiết để giữ nhiệt độ cơ thể khi hệ thần kinh điều hoà thân nhiệt của trẻ chưa hoàn chỉnh.

2.6. Sự tạo ATP ở mức độ cơ chất

Tế bào có 2 cơ chế tạo ATP hoàn toàn khác nhau. Như trên đã trình bày: ở ty thể lực chuyển proton qua màng tạo năng lượng cho sự tổng hợp ATP từ ADP + Pi. Ở tế bào còn một cơ chế tạo ATP khác gọi là sự phosphoryl hóa ở mức cơ chất, xảy ra ở bào tương mà không có liên quan tới màng ty thể và gradient H⁺. Có 2 quá trình phosphoryl hóa ở mức cơ chất trong quá trình đường phân.



3. SỰ PHOSPHORYL - OXY HÓA

Sự giải phóng năng lượng trong quá trình vận chuyển e- (oxy hóa) ở chuỗi vận chuyển e- được tích trữ dưới dạng ATP từ ADP và Pi nhờ quá trình gọi là phosphoryl hóa.

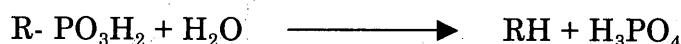
3.1. Sự phosphoryl hóa

- Sự phosphoryl hóa là sự gắn một gốc H_3PO_4 vào một phân tử chất hữu cơ.



Chất hữu cơ A.phosphoric Hợp chất phosphat hữu cơ

- Phản ứng phosphoryl hóa là phản ứng tổng hợp nên cần năng lượng và enzym *phosphoryl kinase*.
- Phản ứng ngược lại là phản ứng khử phosphoryl.



Trong quá trình này năng lượng được giải phóng đúng bằng số năng lượng đã dùng để tạo liên kết phosphat.

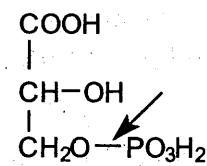
Phosphoryl hóa là một trong những phản ứng quan trọng bậc nhất trong chuyển hóa chất. Nó đóng vai trò chủ yếu trong việc tích trữ và vận chuyển năng lượng, hoạt hóa các chất.

3.2. Các loại liên kết phosphat

Căn cứ vào năng lượng tự do được giải phóng từ phản ứng thuỷ phân cắt đứt liên kết phosphat, các liên kết phosphat được chia làm 2 loại: liên kết phosphat nghèo năng lượng và liên kết phosphat giàu năng lượng.

3.2.1. Liên kết phosphat nghèo năng lượng

- Khi thuỷ phân liên kết này chỉ có từ 1000 - 5000 calo được giải phóng, ký hiệu R-P.
- VD. Liên kết phosphat estephosphat.
- Gốc PO_3H_2 được ký hiệu là $\text{P}\circledcirc$



3.2.2. Liên kết phosphat giàu năng lượng

Khi thuỷ phân liên kết phosphat giàu năng lượng thì có > 7000 calo được giải phóng

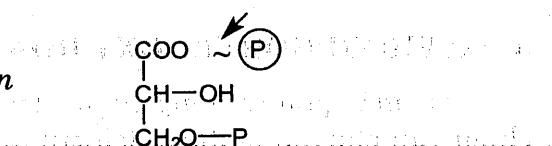
Ký hiệu là $\text{R}-\text{P}\circledcirc$. Một số liên kết phosphat giàu năng lượng là:

- + Acylphosphat: tạo thành do H_3PO_4 kết hợp với gốc acid của chất hữu cơ.

Ví dụ: Acid 1-3 diphosphoglyceric

Năng lượng giải phóng khi thuỷ phân

liên kết này là - 10,1 kcalo



- + Enol phosphat: do H_3PO_4 kết hợp với nhóm chức enol của chất hữu cơ. Ví dụ phosphoenolpyruvic

Năng lượng giải phóng khi

thuỷ phân liên kết này là - 14,8 kcalo

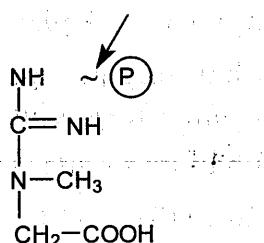


- + Amid phosphat(phosphamid): do H_3PO_4 kết hợp với nhóm amin

Ví dụ Phosphocreatinin.

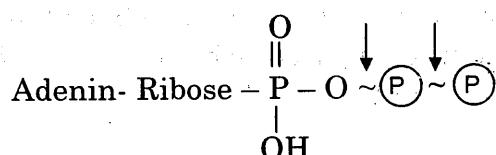
Năng lượng giải phóng khi

thuỷ phân liên kết này là - 10,3 kcalo



- + Anhydrid phosphat(pyrophosphat)

Là liên kết giữa 2 gốc phosphat, ví dụ trong phân tử ATP là liên kết phosphat giàu năng lượng quan trọng nhất.



Năng lượng giải phóng khi thuỷ phân liên kết này là - 7,3 kcalo

3.2.3. Sự phosphoryl – oxy hóa

- Trong chuỗi vận chuyển điện tử, quá trình e^- đi từ chất có thế năng oxy hóa khử thấp tới chất có thế năng oxy hóa cao hơn là những quá trình oxy hóa - khử.

- Trong quá trình trên, năng lượng giải phóng ra được sử dụng để tạo ATP nhờ phản ứng phosphoryl hóa ADP.



(lượng ATP tạo thành của một chuỗi vận chuyển $2e^-$ đã được tính cụ thể ở trên).

- Hai quá trình trên luôn đi kèm (gắn liền), nghĩa là sự phosphoryl hóa ADP thành ATP đi kèm với sự oxy hóa - khử (chuỗi vận chuyển điện tử) nên được gọi thành từ ghép là sự phosphoryl – oxy hóa.

4. CHU TRÌNH ACID CITRIC

4.1. Khái quát về chu trình acid citric và sự hình thành acetyl-CoA từ acid pyruvic

Chu trình acid citric là giai đoạn thoái hóa cuối cùng chung của các chất glucid, lipid và protein. Chất đầu tiên tham gia vào phản ứng của chu trình là acetyl CoA mà sản phẩm thoái hóa các chất chủ yếu tạo ra là acid pyruvic. Vì vậy, phải có phản ứng chuyển acid pyruvic tạo acetyl-CoA.

Sự khử carboxyl- oxyhóa của acid pyruvic thành acetyl-CoA xảy ra trong ty thể và là điểm nối acid pyruvic và chu trình acid citric.

Enzym xúc tác là một phức hợp enzym có tên là *pyruvat dehydrogenase*. Phức hợp gồm 3 enzym:

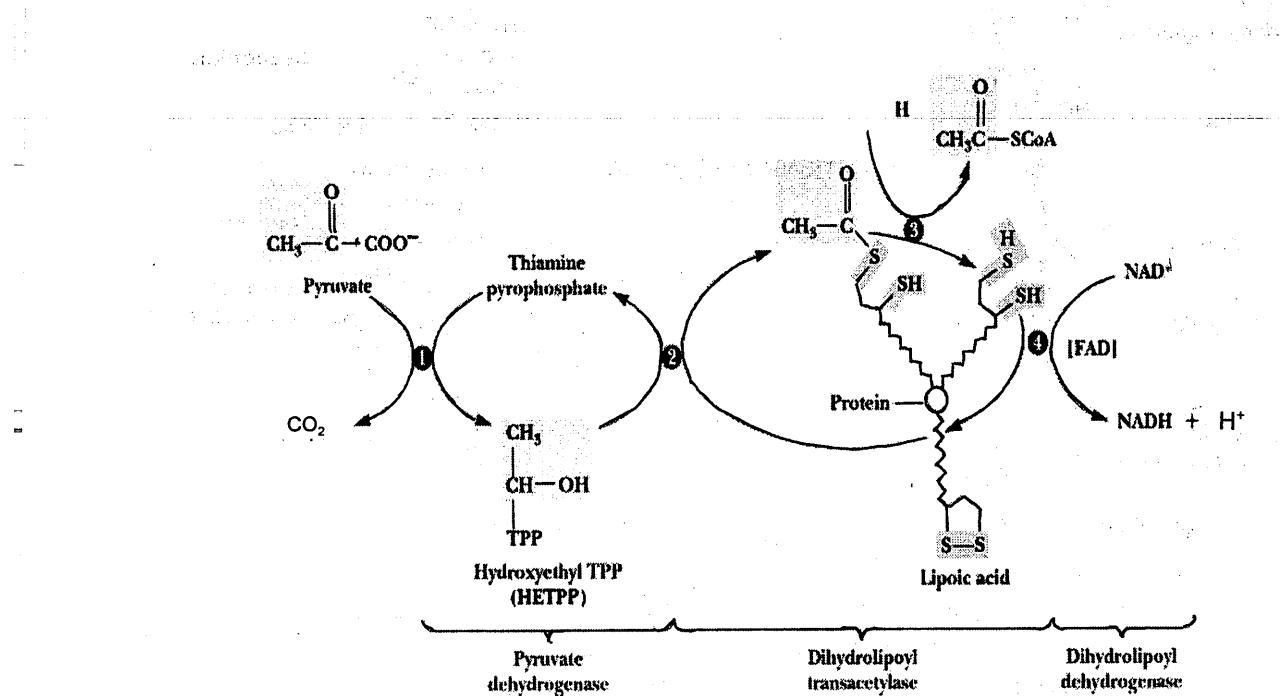
E1: *Pyruvate dehydrogenase* có coenzyme là TPP

E2: *Dihydrolipoyl transacetylase* có coenzym là lipoamid

E3: *Dihydrolipoyl dehydrogenase* có coenzym là FAD

Các bước phản ứng diễn ra được tóm tắt ở hình 6.11.

Bệnh Beriberi do thiếu Vit b1 : nguyên nhân rối loạn do thiếu E1, ứ đọng acid pyruvic làm thoái hóa thần kinh vận động và gây liệt.



Hình 6.11. Chuyển hóa acid pyruvic thành acetylCoA.

4.2. Các phản ứng của chu trình acid citric. (còn gọi là chu trình Krebs)

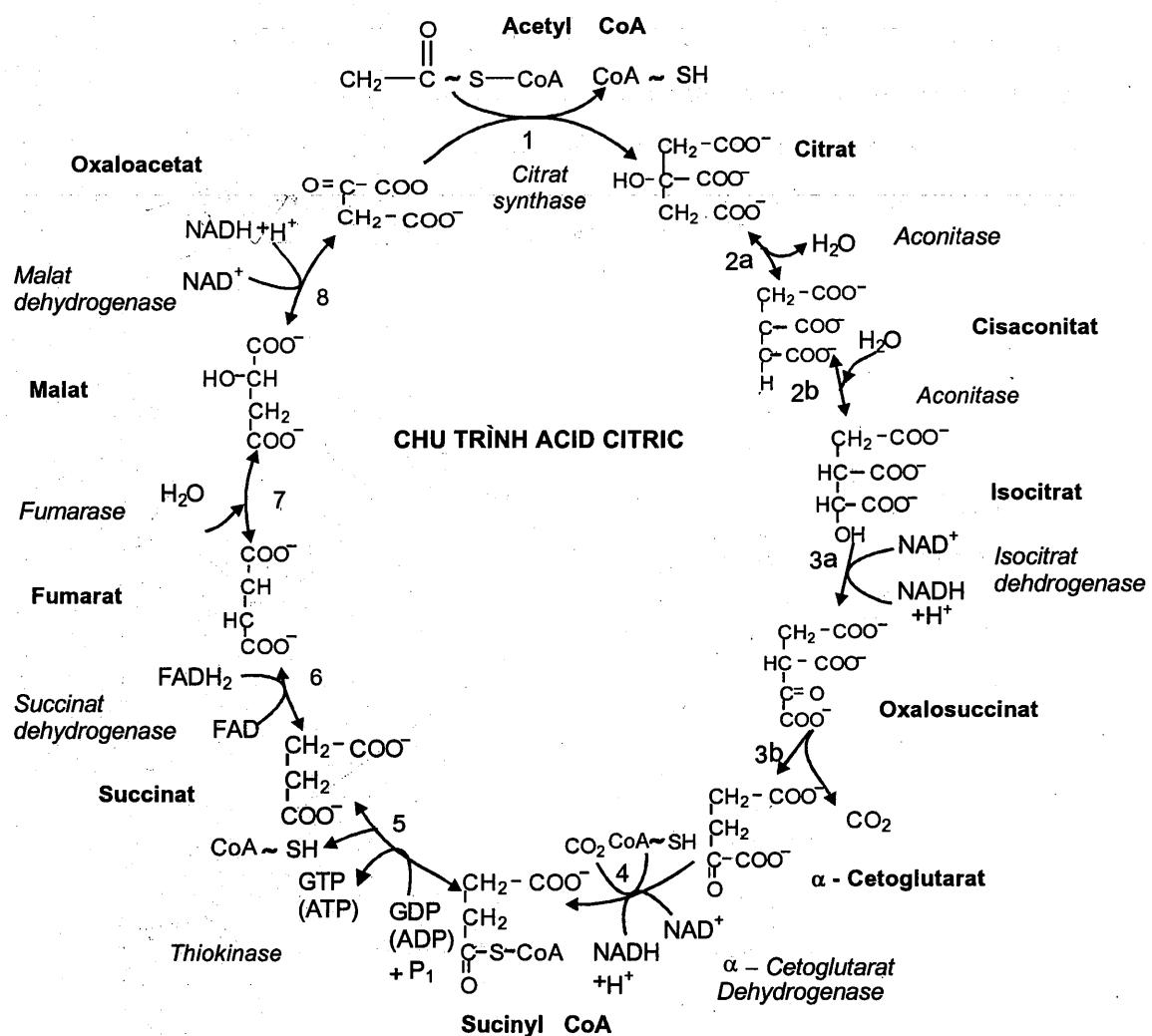
Toàn bộ các phản ứng (kể cả các enzym xúc tác) của chu trình acid citric được trình bày ở hình 6.12.

- Phản ứng 1: tổng hợp citrat.

Một phân tử acetyl CoA kết hợp với một phân tử oxaloacetat (4C) tạo thành citrat (6C) nhờ enzym *citrat synthase*.

- Phản ứng 2: đồng phân hóa citrat thành isocitrat.

Citrate loại đi 1 H_2O tạo thành Cis-aconitate (2a) và lại kết hợp ngay với 1 H_2O tạo isocitrat (2b). Cả 2 phản ứng đều do *enzym aconitase* xúc tác. Kết quả ở phản ứng 2 là vị trí nhóm OH bị thay đổi làm mất tính cân đối bền vững của phân tử citrat và tạo ra một phân tử kém bền vững là isocitrat dễ dàng tham gia vào các phản ứng tiếp theo.



Hình 6.12. Tổng quát các phản ứng của chu trình acid citric

– *Phản ứng 3:* khử carboxyl oxy hóa isocitrat thành α -cetoglutarat.

Isocitrate loại đi một cặp H_2 nhờ xúc tác của enzym *isocitrate dehydrogenase* có coenzym là NAD sẽ chuyển thành oxalosuccinate (3a). Oxalosuccinate loại 1 phân tử CO_2 tự phát (không cần enzym xúc tác) tạo thành α -cetoglutarat (3b).

– *Phản ứng 4:* khử carboxyl oxy hóa α -cetoglutarat.

α -cetoglutarat nhờ xúc tác của phức hợp đa enzym *α -cetoglutarate dehydrogenase* (gồm 3 enzym) sẽ loại đi 1 cặp H_2 dưới dạng $NADH_2$, 1 phân tử CO_2 , và có sự tham gia của HS CoA tạo succinyl CoA. Đây là phản ứng phức tạp, diễn ra qua nhiều bước tương tự như quá trình chuyển pyruvat thành acetylCoA.

– *Phản ứng 5:* tạo succinat.

SuccinylCoA thuỷ phân tạo succinat nhờ *enzym thiokinase*. Năng lượng giải phóng khi thuỷ phân liên kết giàu năng lượng thioeste trong succinyl CoA được dùng để tạo liên kết giàu năng lượng trong phân tử GTP từ GDP và H_3PO_4 .

– *Phản ứng 6:* oxy hóa succinat thành fumarat.

Succinat loại đi 1 cặp H_2 nhờ enzym *succinat dehydrogenase* có coenzym FAD sẽ tạo thành fumarat.

– *Phản ứng 7:* hydrat hóa fumarat thành malat.

Fumarat kết hợp với 1 phân tử H_2O tạo malat nhờ enzym *fumarase*.

– *Phản ứng 8:* oxy hóa malat thành oxaloacetat.

Malat loại đi 1 cặp H_2 nhờ enzym *malat dehydrogenase* có coenzym là NAD. Đây là phản ứng cuối cùng đóng vòng chu trình acid citric.

4.3. Kết quả, đặc điểm và ý nghĩa của chu trình

* *Kết quả.*

– Hai nguyên tử C dưới dạng acetyl CoA vào chu trình ngưng tụ với acid oxaloacetic. Hai nguyên tử C ra khỏi chu trình dưới dạng CO_2 do các phản ứng khử CO_2 ở phản ứng 3 và 4.

– Bốn cặp H_2 ra khỏi chu trình: 3 ở dạng $NADH$ và 1 là $FADH_2$. Các cặp H_2 này vào chuỗi hô hấp tế bào cho 11 ATP. 1 liên kết phosphat giàu năng lượng hình thành ở GTP được dùng tạo 1 phân tử ATP. Tổng cộng 12 ATP.

– Hai phân tử H_2O được sử dụng.

* *Đặc điểm:* - Xảy ra trong ty thể.

- Trong điều kiện ái khí.

* *Ý nghĩa.*

– Là giai đoạn thoái hóa chung, cuối cùng của các chất glucid, lipid và protein.

– Cung cấp nhiều năng lượng.

- Cung cấp các chất chuyển hóa trung gian cho các chuyển hóa khác (liên hệ với các chuyển hóa khác ở những chương sau).

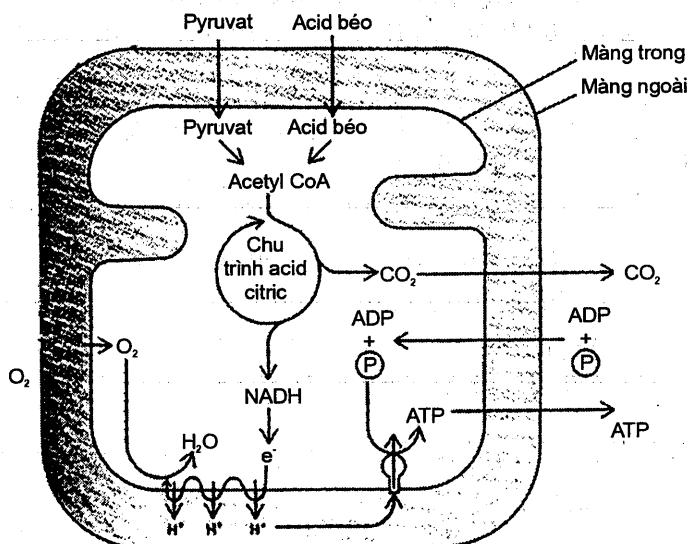
4.4. Điều hoà chu trình acid citric

Điều hoà chu trình acid citric là điều hoà quá trình tạo ATP theo nhu cầu của tế bào sống. Có 3 điểm quan trọng trong chu trình acid citric do những enzym dị lập thể xúc tác có tác dụng điều tiết hoạt động của toàn bộ chu trình.

- Phản ứng 1: ATP là chất ức chế dị lập thể của E1.
- Phản ứng 4: ATP là chất ức chế, ADP là chất kích thích.
- Phản ứng 5: succinylCoA và NADH ức chế phản ứng.

Toàn bộ chương năng lượng sinh học có thể tóm tắt như hình 6.13 .

Trong tế bào, các chất G, L, P thoái hóa sẽ tạo ra acid pyruvic, acid béo. Các chất này thoái hóa tiếp trong ty thể tế bào tạo các mảnh 2C là acetyl CoA. Acetyl CoA thoái hóa hoàn toàn trong chu trình Krebs tạo CO_2 đào thải và H_2 ở dưới dạng NADHH và FADH_2 đi vào chuỗi vận chuyển điện tử gắn ở màng trong ty thể. Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển điện tử được dùng để bơm H^+ từ trong ty thể ra qua màng trong ty thể vào khoang giữa hai màng. Màng trong ty thể không cho H^+ qua lại tự do vì vậy tạo ra một chênh lệch nồng độ H^+ giữa hai phía màng trong ty thể và H^+ có xu hướng bị đẩy vào màng trong ty thể theo quy luật vật lý thông thường. H^+ chỉ có thể đi vào trong ty thể qua ATP synthase và lực đẩy H^+ qua enzym này đã xúc tác tạo nên ATP. ATP từ trong ty thể ra ngoài bào tương cung cấp năng lượng cho mọi hoạt động sống của tế bào.



CÂU HỎI ÔN TẬP

- Hãy chứng minh (bằng sơ đồ) sự đốt cháy các chất hữu cơ sinh năng lượng trong cơ thể khác với sự đốt cháy các chất đó ở ngoài cơ thể.

2. Thành phần, thứ tự của chuỗi vận chuyển điện tử? Hãy tính năng lượng giải phóng dưới dạng calo khi vận chuyển 2e từ NADH₂ đến O₂.
3. Thế nào là sự phosphoryl hóa, liên kết giàu và nghèo năng lượng. Các loại liên kết giàu năng lượng và cho ví dụ.
4. Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển e được gắn với quá trình tạo ATP như thế nào?
5. Đặc điểm màng trong ty thể có gì khác với màng ngoài ty thể. Hãy trình bày cấu trúc ATPsynthase.
6. Antimycin A, CN⁻ ức chế sự vận chuyển e ở những vị trí nào trong chuỗi vận chuyển điện tử? Hậu quả cuối cùng của sự ức chế này là gì?
7. Hãy trình bày chu trình acid citric: các phản ứng, enzym xúc tác, năng lượng, đặc điểm và ý nghĩa.

PHẦN 2

CHUYỂN HÓA CHẤT

Chương 7

CHUYỂN HÓA GLUCID

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được quá trình thoái hóa glucose thành pyruvat, sự chuyển hóa tiếp tục của pyruvat trong điều kiện ối khí (có oxy) và trong điều kiện yếm khí (ít oxy).*
2. *Trình bày được chu trình pentose.*
3. *Trình bày được quá trình thoái hóa các monosaccharid khác.*
4. *Trình bày được quá trình tân tạo glucose.*
5. *Trình bày được quá trình thoái hóa glycogen.*
6. *Trình bày được quá trình tổng hợp glycogen.*

Glucid (carbohydrat) là nguồn cung cấp năng lượng chủ yếu đối với cơ thể người (chiếm khoảng 50 - 55%). Một gam glucid cung cấp 4 kilo calo. Glucose là chất duy nhất có khả năng cung cấp từng lượng nhỏ năng lượng dưới dạng ATP trong điều kiện yếm khí (không có oxy tham gia) cần thiết cho những tế bào phụ thuộc glucose như hồng cầu. Quá trình tân tạo glucose từ các sản phẩm chuyển hóa trung gian, từ các monosaccharid khác xảy ra ở gan. Quá trình tổng hợp glycogen xảy ra ở các mô nhưng chủ yếu là gan và cơ. Glucid tham gia tổng hợp nhiều phân tử lớn cấu tạo tế bào như các glycolipid, glycoprotein... Thông qua chất trung gian là ribose 5 phosphat glucid tham gia tổng hợp acid nucleic.

1. SỰ THOÁI HÓA CỦA GLUCOSE

1.1. Con đường đường phân (glycolysis)

Đường phân là một chuỗi các phản ứng hóa học chuyển hóa glucose (6 carbon) thành pyruvat (3 carbon), xảy ra ở bào tương, qua 2 giai đoạn với 10 phản ứng (hình 1).

– Giai đoạn 1: gồm 5 phản ứng(1-5). Phân tử glucose được phosphoryl hóa và bị chặt đôi thành 2 triose: glyceraldehyd-3-phosphat với sự chi phí 2ATP “năng lượng đầu tư” (phản ứng 1 và 3).

– Giai đoạn 2: gồm 5 phản ứng (6-10). Hai phân tử glyceraldehyd -3-phosphat chuyển hóa thành pyruvat tạo ra 4 ATP (phản ứng 7 và 10). Mười phản ứng trên được xúc tác bởi các enzym:

1.1.1. Hexokinase: Phản ứng 1 của quá trình đường phân là sự vận chuyển của 1 ATP đến glucose để tạo thành *glucose-6-phosphat* (*G6P*) được xúc tác bởi *hexokinase*. *Hexokinase* là enzym không đặc hiệu, có trong tất cả các loại tế bào, xúc tác sự phosphoryl hóa của D-glucose, D-mannose, D-fructose. Hoạt động xúc tác của *hexokinase* đòi hỏi ion Mg^{2+} , nhóm C6-OH của glucose gắn với phosphat γ của phức hợp Mg^{2+} -ATP và phân tử phosphat được chuyển sang glucose. Gan cũng chứa *glucokinase*, cũng xúc tác những phản ứng như trên nhưng chỉ tham gia trong điều kiện glucose trong máu tăng cao.

1.1.2. Phosphoglucose isomerase-PGI (glucose-6-phosphat isomerase)

Phản ứng 2 là sự đồng phân hóa *G6P* thành *fructose-6-phosphat* (*F6P*) được xúc tác bởi *phosphoglucose isomerase*, là phản ứng thuận nghịch, có sự sắp xếp lập thể phân tử

1.1.3. Phosphofructokinase (PFK)

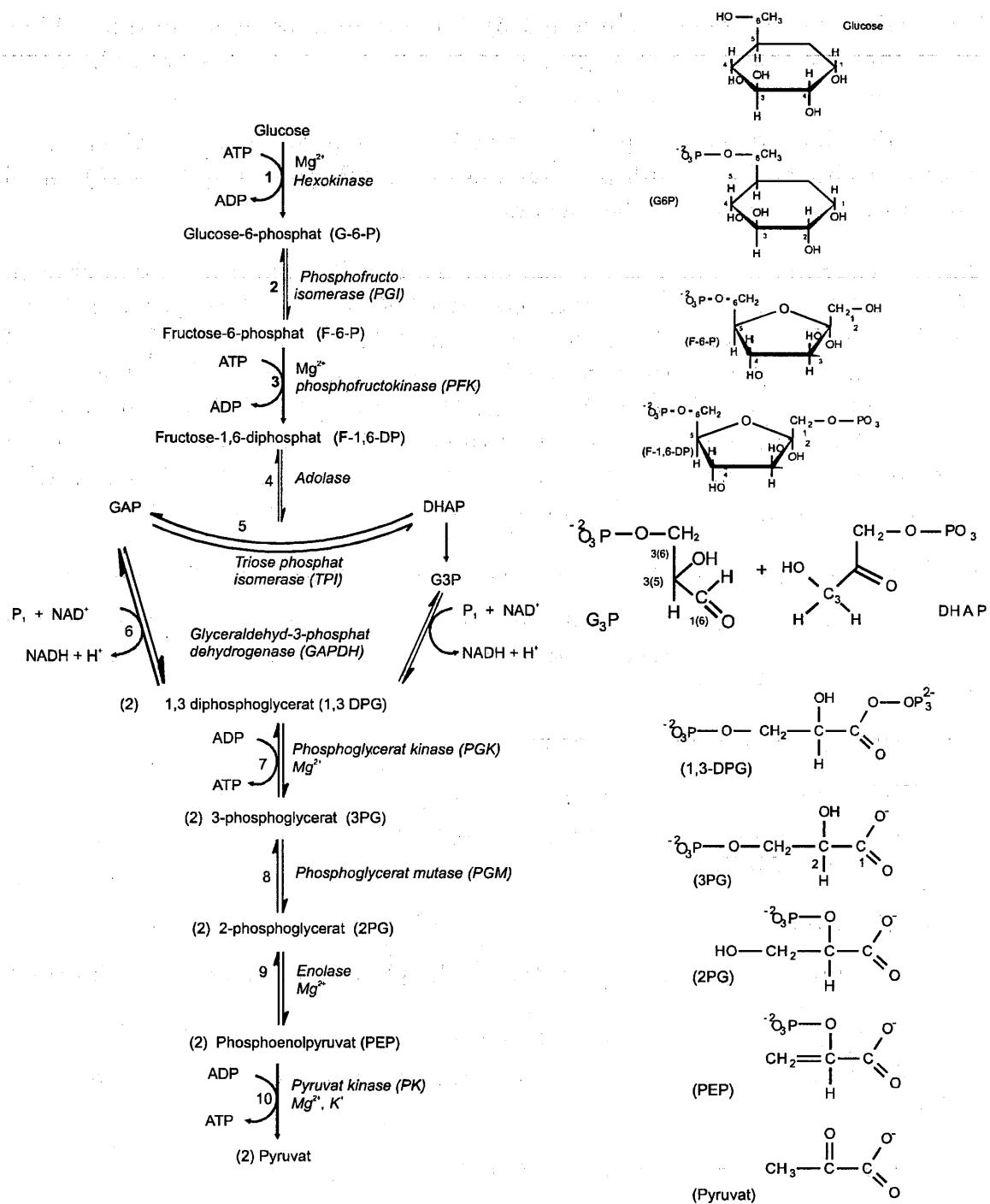
Phản ứng 3 là phản ứng phosphoryl hóa *F6P* thành *fructose-1-6-diphosphat* (*F1,6DP*) bởi *phosphofructokinase* (*PFK*), cũng giống như phản ứng 1, PFK cần Mg^{2+} .

1.1.4. Aldolase

Phản ứng 4 được *aldolase* xúc tác cắt đôi phân tử fructose-1-6-diphosphat thành hai triose: *glyceraldehyd-3-phosphat* (*GAP*) và *dihydroxyaceton phosphat* (*DHAP*). Có 2 loại aldolase, được phân loại theo hóa học, cơ chế xúc tác cũng khác nhau. Loại 1 có trong động vật và thực vật, loại 2 có trong nấm, tảo và vi sinh vật.

1.1.5. Triose phosphat isomerase (TPI)

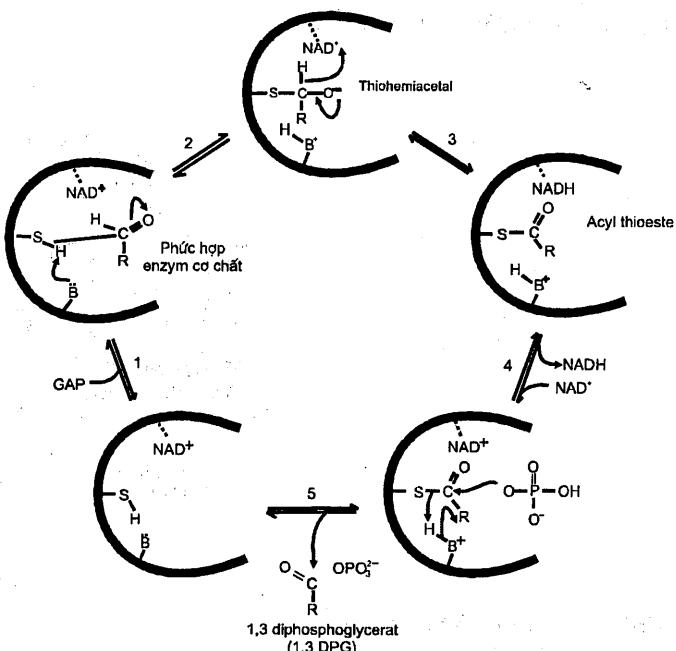
Chỉ có một trong hai triose phosphat ở phản ứng trên là *GAP* có thể được thoái hóa tiếp tục trong các phản ứng của con đường đường phân. *DHAP* có thể biến đổi thuận nghịch một cách nhanh chóng thành *GAP* nhờ enzym *triose phosphat isomerase*.



Hình 7.1. Quá trình thoái hóa glucose theo con đường đường phân

1.1.6. Glyceraldehyd-3-phosphat dehydrogenase (GAPDH)

Hình 7.2. Cơ chế hoạt động của glyceraldehyd-3 phosphat dehydrogenase



Phản ứng 6 là phản ứng oxy hóa và phosphoryl hóa GAP thành 1,3-diphosphoglycerat (1,3DPG) bởi NAD⁺ và Pi được xúc tác bởi *glyceraldehyd-3-phosphat dehydrogenase*. David Trentham từ những kết quả nghiên cứu động học đã đưa ra cơ chế xúc tác của GAPDH gồm 5 bước: bước 1: GAP gắn vào enzym; bước 2: nhóm sulfhydryl của Cys trong enzym gắn vào aldehyd tạo thành thiohemiacetal; bước 3: thiohemiacetal oxy hóa thành thioeste bằng cách vận chuyển hydrid (H^-) sang NAD⁺. Năng lượng của sự khử aldehyd không bị phung phí mà được bảo tồn trong liên kết thioeste và dạng khử NADH.; bước 4: Một phân tử NAD⁺ khác thay thế NADH; bước 5: gốc phosphat gắn vào thioeste tạo thành sản phẩm acyl phosphat (1,3-DPG) và enzym phục hồi (hình 7.2).

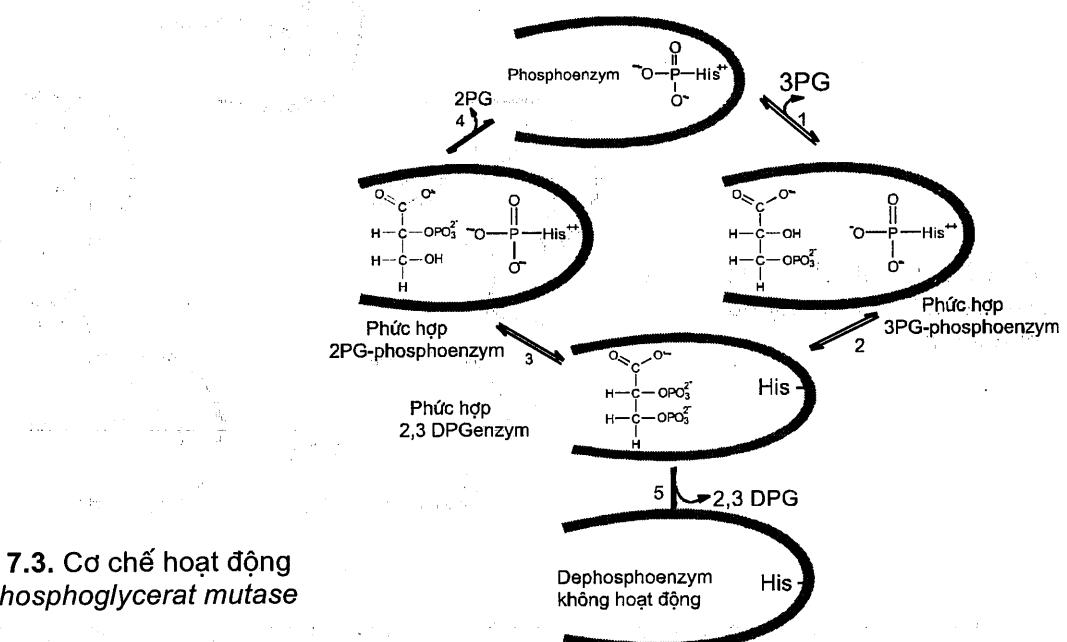
1.1.7. Phosphoglycerat kinase (PGK)

Phản ứng 7 là phản ứng đầu tiên của con đường đường phân tạo ra ATP và 3-phosphoglycerat (3PG) nhờ *phosphoglycerat kinase (PGK)*. Oxy của phosphat tận của ADP gắn vào nhóm phosphat C1 của 1,3-DPG và tạo thành sản phẩm (3PG)

1.1.8. Phosphoglycerat mutase (PGM)

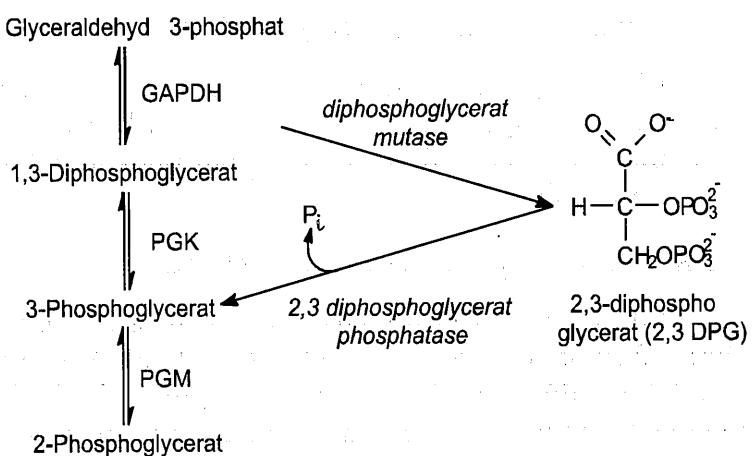
Phản ứng 8 *Phosphoglycerat mutase (PGM)* xúc tác sự chuyển đổi 3PG thành 2-phosphoglycerat (2PG). Dạng hoạt động của PGM chứa phospho His ở vị trí hoạt động. Phản ứng xảy ra qua 5 bước; bước 1: Tạo phức hợp 3PG-phospho enzym; bước 2: nhóm phosphat của enzym được vận chuyển đến cơ chất, tạo phức hợp 2,3-DPG enzym; bước 3: chuyển nhóm phosphat khác của

cơ chất sang enzym tạo phức hợp 2PG enzym; bước 4: tách 2PG khỏi enzym dạng hoạt động; bước 5: Thỉnh thoảng 2,3-DPG được tách ra khỏi enzym dạng không hoạt động (hình 7.3)



Hình 7.3. Cơ chế hoạt động của *phosphoglycerat mutase*

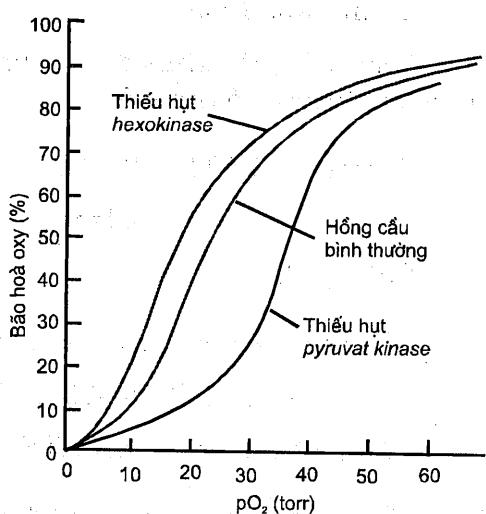
Con đường đường phân ảnh hưởng đến sự vận chuyển oxy. Trong hồng cầu 2,3 DPG gắn vào deoxyhemoglobin và nó làm giảm ái lực của oxy với Hb. Nồng độ 2,3 DPG trong hồng cầu khá cao (~5mM). Trong hồng cầu sự tạo thành và phân huỷ 2,3 DPG phụ thuộc vào con đường đường phân. *Diphosphoglycerat mutase* xúc tác sự chuyển gốc phosphat từ C1 sang C2 của phân tử 1,3 DPG để tạo thành 2,3 DPG. Sau đó 2,3 DPG lại bị thuỷ phân tách phosphat nhờ 2,3 *phosphoglycerat phosphatase* (hình 7.4). Do đó sự vận chuyển oxy trong hồng cầu chịu ảnh hưởng của con đường đường phân. Ở bệnh bẩm sinh, thiếu hụt enzym *hexokinase* và thiếu hụt *pyruvate kinase* ảnh hưởng đến đường cong bão hòa oxy của hemoglobin (hình 7.5).



Hình 7.4. Con đường tổng hợp và thoái hóa của 2,3 DPG trong hồng cầu là mạch nhánh của con đường đường phân.

Đường cong bão hòa oxy ở hồng cầu bình thường, ở hồng cầu bệnh nhân thiếu hụt Hexokinase và ở bệnh nhân thiếu hụt Pyruvate kinase

Hình 7.5. Đường cong bão hòa oxy ở hồng cầu bình thường, ở hồng cầu bệnh nhân thiếu hụt Hexokinase và ở bệnh nhân thiếu hụt Pyruvate kinase



1.1.9. Enolase (tạo thành chất trung gian “năng lượng cao” thứ hai)

Phản ứng 9 là sự khử nước của 2PG thành phosphoenol pyruvate (PEP) bởi enolase xúc tác. Enolase chỉ hoạt động khi ở dạng phức hợp với Mg^{2+} .

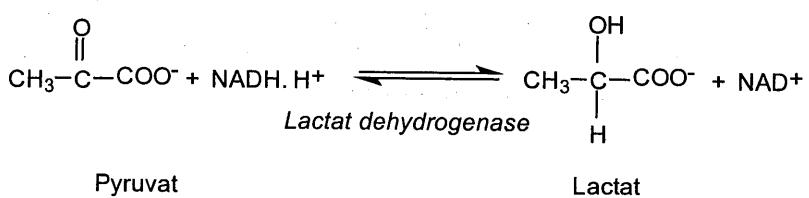
1.1.10. Pyruvate kinase

Phản ứng 10 là phản ứng tạo thành ATP thứ hai do PEP chuyển phosphat từ liên kết enolphosphat (liên kết giàu năng lượng) sang phân tử ADP tạo thành ATP và tạo thành pyruvate dưới tác dụng của pyruvate kinase.

1.2. Sự thoái hóa tiếp theo của pyruvate

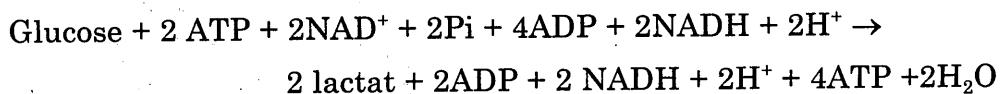
1.2.1. Thoái hóa pyruvate trong điều kiện yếm khí (không có oxy tham gia)

Trong con đường đường phân như đã mô tả ở trên, số lượng NAD^+ giảm sau phản ứng 6. Ở cơ trong quá trình hoạt động khi nhu cầu ATP cao và oxy do máu cung cấp không đủ, lactat dehydrogenase (LDH) xúc tác sự oxy hóa của NADH bởi pyruvate tạo thành lactat và NAD^+ . Phản ứng này cũng thường được gọi là phản ứng 11 của con đường đường phân. LDH được cấu tạo bởi hai dimer đơn vị là H và M để tạo thành 5 izozym M4, M3H, M2H2, MH3, H4. Typ H thường có ở tổ chức có oxy như cơ tim, typ M có ở các tổ chức không có oxy như gan, cơ xương. Typ H của LDH có chức năng trong sự oxy hóa lactat thành pyruvate, typ M của LDH có xu thế xúc tác theo hướng ngược lại.

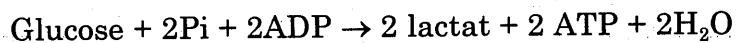


Bilan năng lượng

Toàn bộ quá trình đường phân và sự khử pyruvat thành lactat tính từ phân tử glucose có thể viết:



Rút gọn là:



$$\Delta G^\circ = -196 \text{kJ/mol}$$

Cùng với sự tạo thành ATP, 31% năng lượng đã tạo ra ở dạng nhiệt năng

1.2.2. Sự thoái hóa pyruvat trong điều kiện ái khí

Với sự có mặt của oxy (điều kiện ái khí). Phân tử pyruvat vào ty thể, oxy hóa thành acetat dưới dạng *acetyl CoA*, đi vào chu trình citric và oxy hóa thành CO_2 và H_2O . Phân tử NADH (tạo ra ở phản ứng 6) được chuyển vào ty thể để oxy hóa trong chuỗi hô hấp tế bào (xem chương oxy hóa khử), tại đây mỗi phân tử NADH tạo thành 3ATP, phân tử pyruvat thành acetyl CoA cho 3 ATP, acetyl CoA oxy hóa trong chu trình citric cho 12 ATP.

Như vậy sự thoái hóa hoàn toàn phân tử glucose trong điều kiện ái khí cung cấp 38 ATP.

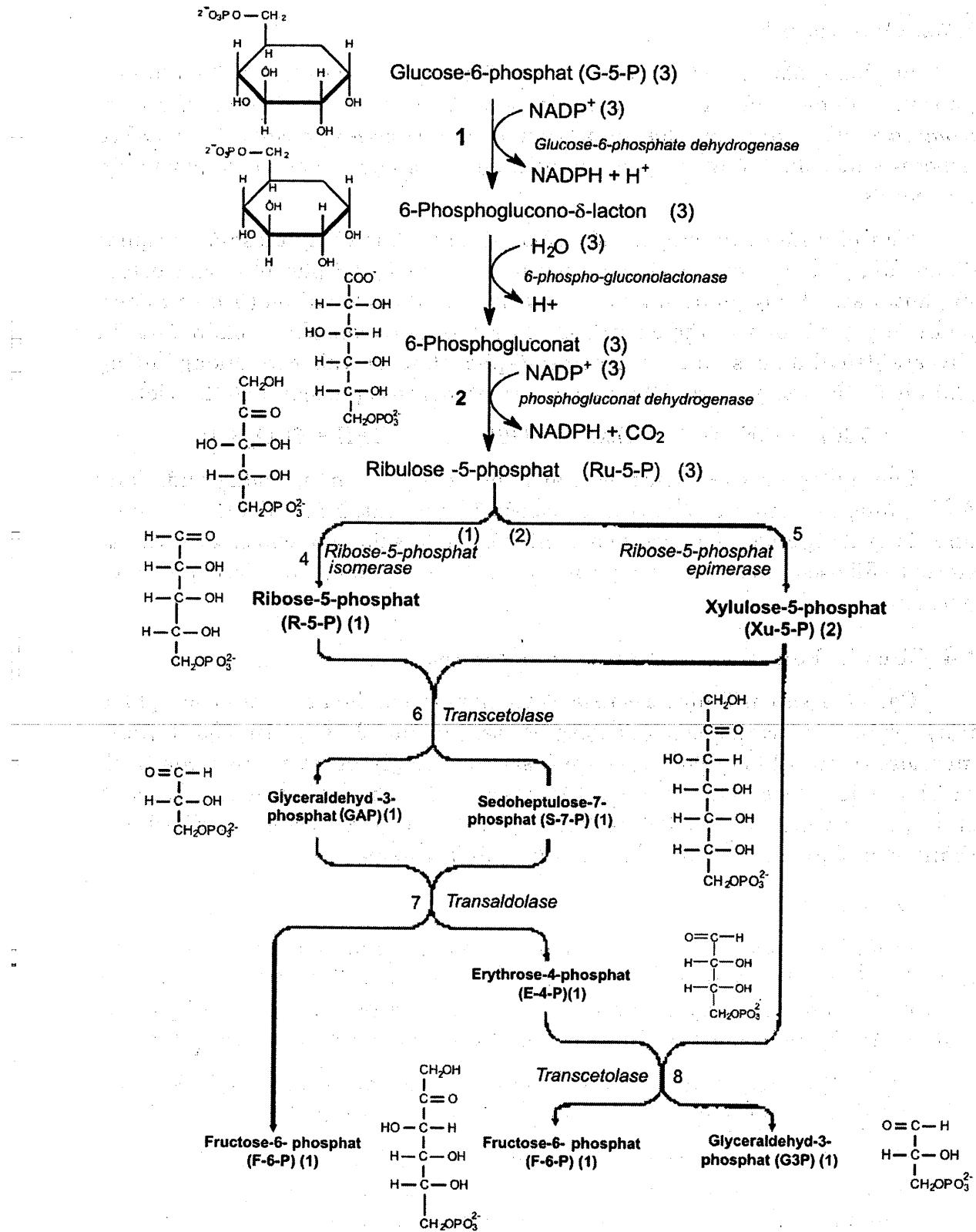
1.3. Con đường hexose monophosphat

Sự oxy hóa glucose theo con đường hexose monophosphat (chu trình pentose) xảy ra trong bào tương của tế bào song song với con đường đường phân, nhưng chiếm tỷ lệ thấp hơn nhiều (7 - 10%). Tuy nhiên ở một số tế bào như hồng cầu, gan, mô mỡ, tuyến sữa thời kỳ hoạt động, con đường này chiếm ưu thế.

Con đường hexose monophosphat được chia làm hai giai đoạn:

1.3.1. Giai đoạn 1:

Oxy hóa glucose-6-phosphat tạo sản phẩm NADPH và pentose phosphat. Trước hết G6P oxy hóa bởi NADP^+ tạo thành *6-phosphoglucono- δ -lacton* dưới tác dụng của *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD), dưới tác dụng của *6-phospho-gluconolactonase* 6-phosphoglucono- δ -lacton hợp H_2O mở vòng tạo thành 6-phosphogluconat. 6-phosphogluconat oxy hóa bởi NADP^+ giải phóng CO_2 và tạo thành ribulose-5-phosphat dưới tác dụng của *6-phosphogluconate dehydrogenase*

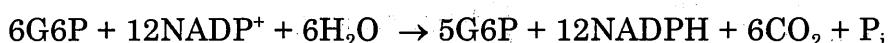


Hình 7.6. Thoái hóa của glucose theo chu trình pentose

1.3.2. Giai đoạn 2

Sự biến đổi tiếp tục của pentose-5-phosphat. Trước hết ribulose-5-phosphat đồng phân hóa thành *ribose-5-phosphat* nhờ *ribose-5-phosphat isomerase* và thành xylulose-5-phosphat nhờ *ribose-5-phosphat epimerase* (*ribose-5-phosphat* cũng là nguồn nguyên liệu tổng hợp các purin và pyrimidin nucleotide).

Nếu nhu cầu chuyển hóa *ribose-5-phosphat* và *xylulose-5-phosphat* đã đầy đủ, phần dư thừa sẽ chuyển thành *glyceraldehyd-3-phosphat* và *fructose-6-phosphat*. Những phản ứng này là sự chuyển nhóm 2 carbon (*transketolase*, phản ứng 6 và 8) và chuyển nhóm 3 carbon (*transaldolase*, phản ứng 7). *Glyceraldehyd-3-phosphat* và *fructose-6-phosphat* đi vào con đường đường phân hoặc tạo glucose. Như vậy chu trình pentose phosphat có thể viết:



Con đường hexose monophosphate không cung cấp năng lượng dưới dạng ATP nhưng nó cung cấp NADPH và *ribose-5-phosphat*. NADPH được sử dụng như dạng năng lượng cho các quá trình tổng hợp acid béo, cholesterol và các steroid. *Ribose-5-phosphat* cung cấp cho quá trình tổng hợp base purin và pyrimidin.

1.4. Chuyển hóa của các monosaccharid khác

Các monosaccharid như fructose có trong mật ong, hoa quả và là sản phẩm thuỷ phân của saccarose, galactose là sản phẩm thuỷ phân của lactose, mannose từ sản phẩm tiêu hóa của polysaccharid và glycoprotein. Sau quá trình tiêu hóa, các monosaccharid vào hệ thống tuần hoàn, chúng được đem đến các tổ chức. Sự chuyển hóa của fructose, galactose, mannose là sự biến đổi của chúng thành sản phẩm trung gian của con đường đường phân.

1.4.1. Fructose

Fructose hấp thu qua niêm mạc ruột không nhanh bằng glucose, nhưng một khi đã vào máu thì sự chuyển hóa lại nhanh hơn. Đời sống bán huỷ của fructose sau khi tiêm truyền ngắn hơn glucose, bằng 18 phút trong khi glucose là 41 phút. Có hai con đường chuyển hóa của fructose: một ở gan và một ở cơ.

- Ở cơ: Fructose chuyển thành fructose-6-phosphat (*F6P*) dưới tác dụng của *hexokinase*, *F6P* thoái hóa tiếp tục theo con đường đường phân.
- Ở gan: có ít *hexokinase*, một phần *glucokinase*, nhưng chúng chỉ phosphoryl hóa glucose (xem phần 2.1.). Ở gan fructose chuyển hóa qua 6 phản ứng để tạo thành sản phẩm trung gian của con đường đường phân.

Fructose được phosphoryl hóa bởi ATP ở C1 thành fructose -1-phosphat (F1P) dưới tác dụng của *fructokinase* (Không có *hexokinase* và cũng không có *fructokinase* có thể phosphoryl hóa F1P thành F1,6DP). Sau đó *aldolase* typ B (có khả năng chặt đôi F1P và cả F1,6DP; đôi khi được gọi là *fructose-1-phosphat aldolase*) xúc tác chuyển F1P thành dihydroxyaceton phosphat và glyceraldehyd. Glyceraldehyd có thể phosphoryl hóa bởi ATP thành glyceraldehyd-3-phosphat nhờ *glyceraldehyd kinase*. Glyceraldehyd có thể khử thành glycerol bởi NADH dưới tác dụng của *alcol dehydrogenase*, rồi phosphoryl hóa bởi ATP thành glycero-3-phosphat nhờ *glycerol kinase* và oxy hóa lại bởi NAD⁺ thành dihydroxyaceton phosphat (DHAP) nhờ *glycerol phosphat dehydrogenase*, cuối cùng nhờ *triose phosphat isomerase* đồng phân hóa thành glyceraldehyd-3-phosphat (hình 7.7).

Fructose là một đường sinh năng lượng tốt vì sự chuyển hóa của nó nhanh hơn glucose (hoạt động của *fructokinase* mạnh hơn hoạt động của *glucokinase*); không phụ thuộc vào hormon.

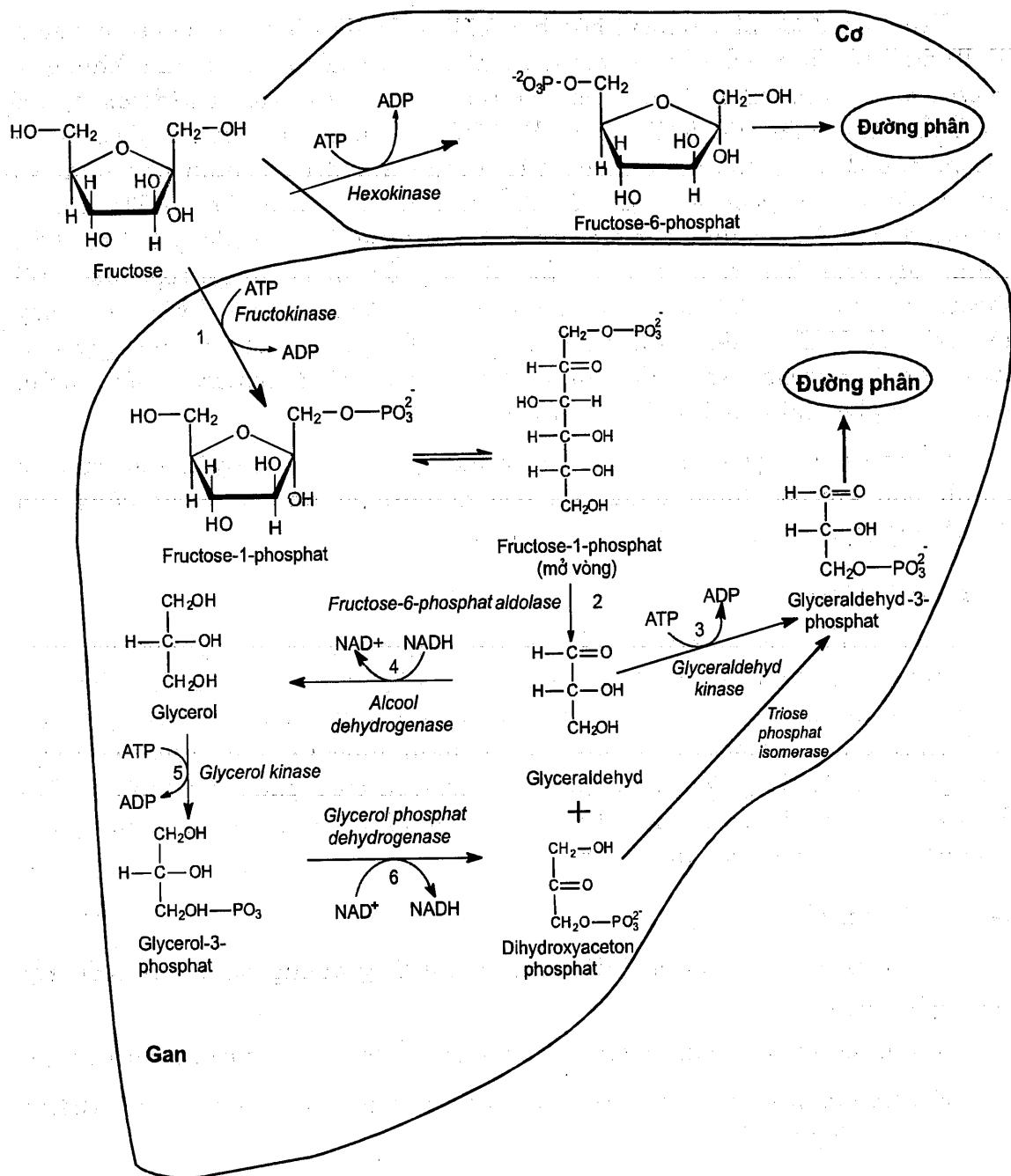
1.4.2. Galactose

Sự chuyển hóa galactose xảy ra trong gan. Trước hết galactose được phosphoryl hóa ở C1 bởi ATP thành *galactose-1-phosphat* nhờ *galactokinase*, sau đó nhờ *galacto-1-phosphat uridylyl transferase* chuyển nhóm uridylyl của UDP-glucose đến galactose-1-phosphat để thành glucose-1-phosphat (G1P) và UDP-galactose. *UDP-galactose-4-epimerase* chuyển UDP-galactose thành UDP-glucose. G1P sẽ đồng phân hóa thành G6P để đi vào con đường đường phân nhô *phosphoglucomutase* (hình 7.8).

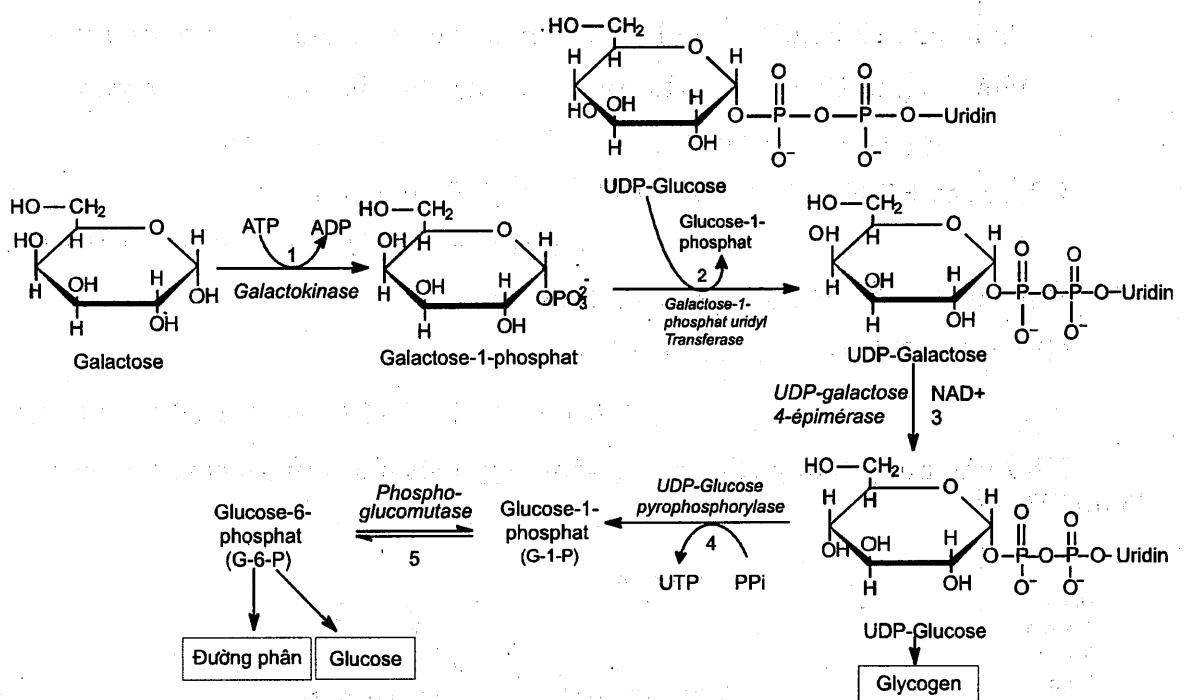
1.4.3. Mannose

Mannose chuyển thành F6P trong con đường đường phân sau khi trải qua 2 phản ứng:

- Mannose chuyển thành mannose-6-phosphat dưới tác dụng của *hexokinase*.
- *Phosphomannose isomerase* đồng phân hóa mannose-6-phosphat thành fructose-6-phosphat.



Hình 7.7. Thoái hóa của fructose ở cơ và gan



Hình 7.8. Thoái hóa của galactose

2. SỰ TỔNG HỢP GLUCOSE (CON ĐƯỜNG TÂN TẠO GLUCOSE)

Não và hồng cầu sử dụng glucose là nguồn năng lượng chính nhưng lại không tổng hợp được glucose. Sự tổng hợp glucose xảy ra khi đói và khi cạn kiệt glycogen dự trữ. Chức năng này rất cần thiết đối với việc cung cấp glucose cho các mô, đặc biệt mô thần kinh. Cơ quan chủ yếu của sự tân tạo glucose là gan và khoảng 10% được tân tạo ở thận (phân vón) và ruột. Hình 7.9 chỉ ra các nguồn nguyên liệu cung cấp cho sự tổng hợp này.

2.1. Các giai đoạn đặc biệt của quá trình tổng hợp glucose

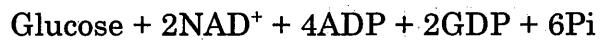
Quá trình tổng hợp glucose (tân tạo glucose) sử dụng các enzym của con đường đường phân. Có 3 enzym trong con đường đường phân không xúc tác phản ứng thuận nghịch đó là hexokinase, phosphofructokinase và pyruvate kinase (hình 7.11).

Các phản ứng tân tạo glucose gồm những phản ứng gần như ngược lại của con đường đường phân, trừ 3 enzym không xúc tác thuận nghịch.

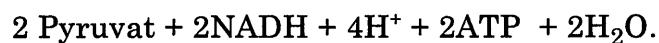
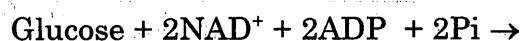
– Từ pyruvate phải trải qua các phản ứng sau: trước hết pyruvate vào trong ty thể, dưới tác dụng của *pyruvate carboxylase* cần ATP để pyruvate chuyển thành oxaloacetate, sau khi tạo thành malate, malate được chuyển ra bào tương nhờ con thoi malat-aspartate (chất vận chuyển dicarboxylate) (hình 7.11), ở bào tương malate chuyển thành oxaloacetate rồi carboxyl hóa dưới tác dụng của *phosphoenol pyruvate carboxykinase* cần GTP tạo thành PEP.

- Phản ứng từ F1,6DP thành G6P cần enzym *fructose-1,6-diphosphatase*.
- Phản ứng từ G6P thành glucose cần sự xúc tác của *glucose-6-phosphatase*;

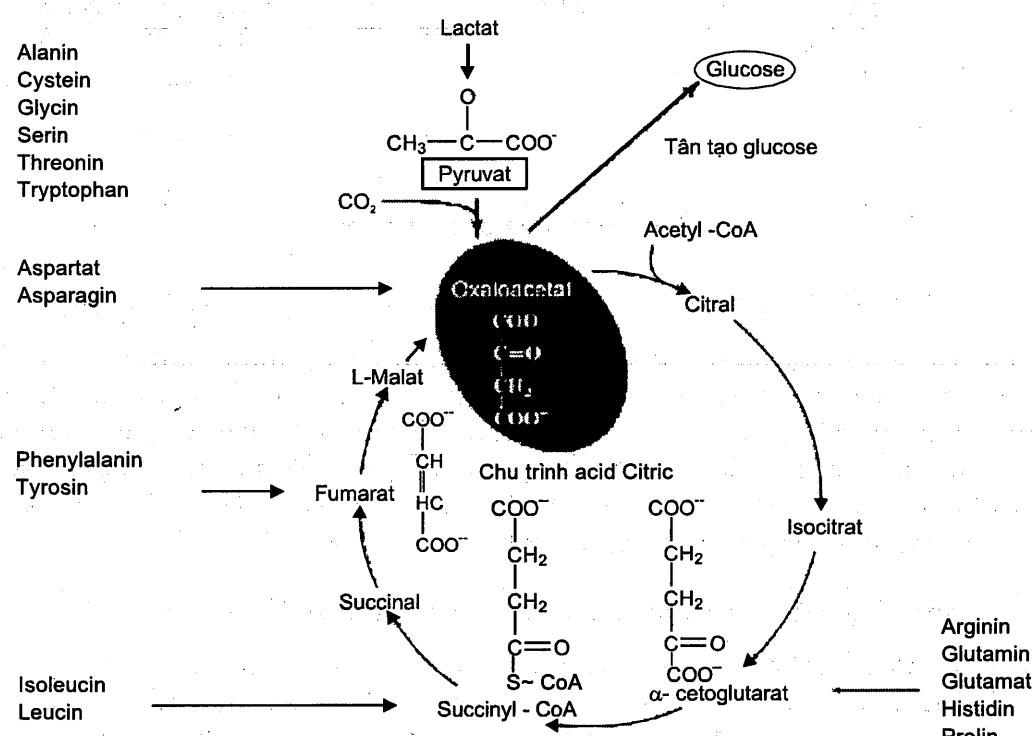
Năng lượng cần thiết để tổng hợp glucose từ pyruvat có thể viết:



Đối với chuyển hóa glucose thành pyruvat :



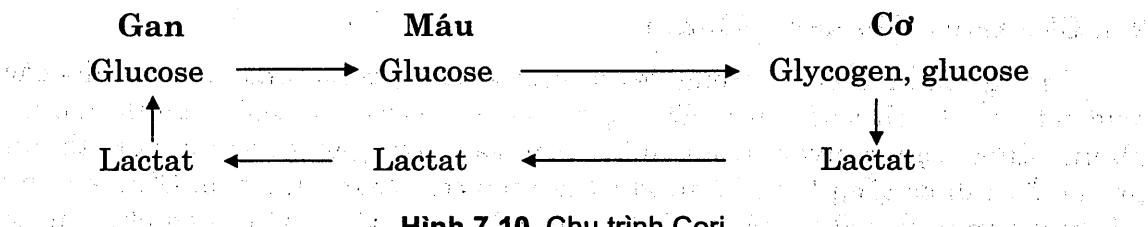
Như vậy năng lượng cần cho sự tổng hợp một phân tử glucose từ pyruvat là 4ATP.



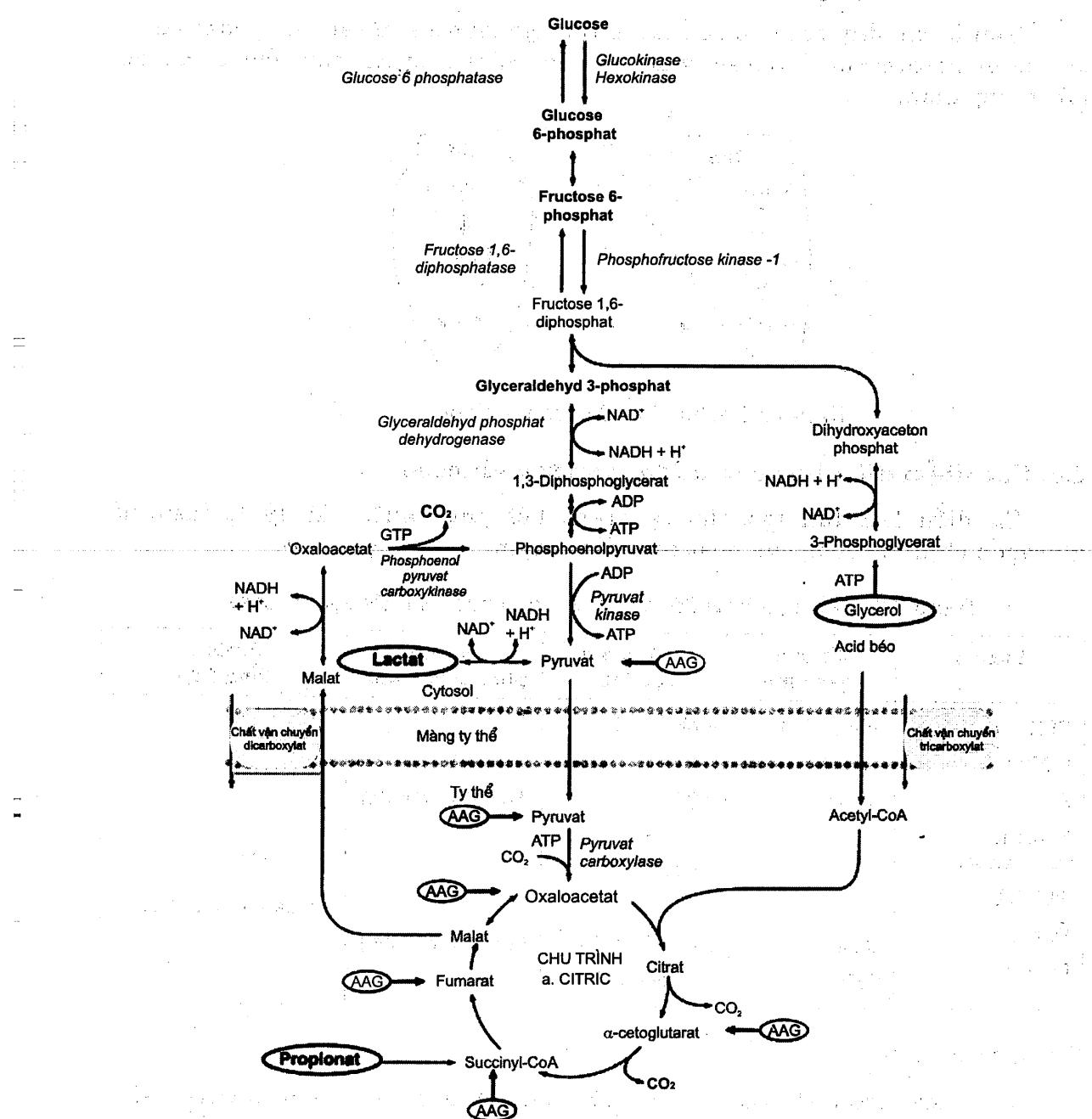
Hình 7.9. Nguồn nguyên liệu tổng hợp oxaloacetat và các sản phẩm trung gian của quá trình tổng hợp glucose

2.2. Chu trình Cori

Cơ thường xảy ra quá trình thoái hóa glucose trong điều kiện yếm khí tạo sản phẩm là lactat. Lactat từ cơ được nhanh chóng chuyển qua máu về gan. Ở gan lactat là nguồn nguyên liệu để tổng hợp glucose theo con đường tân tạo glucose. Vòng vận chuyển và biến đổi này được gọi là chu trình Cori (hình 7.10).



Hình 7.10. Chu trình Cori

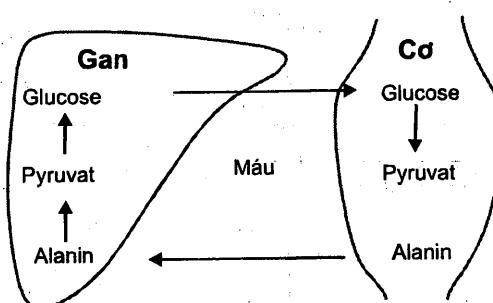


Hình 7.11. Quá trình tân tạo glucose tại gan (AAG: acid amin cho đường)

2.3. Chu trình Glucose - Alanin

Trong nhiều tổ chức, trong đó có cơ, alanin transaminase chuyển đổi các acid ketonic thành acid amin. Thí dụ trong cơ, pyruvat chuyển thành alanin, alanin được vận chuyển trong máu đến gan, tại gan được chuyển thành pyruvat và được tổng hợp thành glucose theo con đường tân tạo. Glucose này lại được cung cấp trở lại các tổ chức trong đó có cơ. Quá trình vận chuyển và chuyển đổi này được gọi là chu trình Glucose – Alanin (hình 7.12).

Gan là nơi duy nhất có khả năng tân tạo glucose từ các sản phẩm khác; từ các monosaccharid: fructose, galactose, mannose; từ các sản phẩm chuyển hóa trung gian.



Hình 7.12. Chu trình Glucose – Alanin

2.4. Các điểm điều hoà con đường tân tạo glucose

Sự điều hoà tân tạo glucose trước hết phụ thuộc vào tỷ lệ insulin/glucagon chịu tác động của hoạt tính các enzym

Bảng 7.1. Điều hoà hoạt động enzym trong quá trình tân tạo glucose

Enzym	Ưc chế dị lập thể	Hoạt hóa dị lập thể	enzym phosphoryl hóa	Protein tổng hợp
PFK	ATP, citrat	AMP, F2.6P		
PDPase	AMP, F2.6P			
PK	Alanin	F1,6P	Không hoạt động	
Pyruvat carboxylase		Acetyl CoA		
PEPCK				
PFK-2	Citrat	AMP, F6P, Pi	Không hoạt động	Glucagon hoạt hóa
FDP-2	F6P	Glycerol 3 P		

Tổng hợp lactose

Ở cơ thể người và động vật cao cấp, lactose được tổng hợp từ tuyến sữa của phụ nữ thời kỳ có thai và cho con bú.

3. CHUYỂN HÓA GLYCOGEN

Glycogen được dự trữ trong bào tương dưới dạng hạt, đường kính khoảng 100-400 Å. Những hạt này chứa nhau những enzym của quá trình thoái hóa và tổng hợp glycogen. Cấu trúc mạch nhánh của glycogen có ý nghĩa sinh học đáng kể. Nó cho phép thoái hóa các mạch nhánh giải phóng nhanh chóng glucose (với số lượng lớn) và G6P. Trong cơ việc giải phóng nhanh chóng glucose (một chất sinh năng lượng bằng con đường đường phân) có ý nghĩa quan trọng khi cơ hoạt động. Trong gan việc thoái hóa glycogen cho phép gan nhanh chóng điều hoà nồng độ glucose bằng sự bài tiết glucose vào vòng tuần hoàn. Thực tế sự thoái hóa lipid cung cấp năng lượng và sự tổng hợp glucose là những quá trình quá chậm chạp để đảm bảo cung cấp năng lượng trong trường hợp nhu cầu cấp. Một khía cạnh thoái hóa lipid không xảy ra trong điều kiện yếm khí.

3.1. Thoái hóa glycogen

Cơ và gan là nơi xảy ra quá trình thoái hóa glycogen. Ở cơ khi tế bào hoạt động cần ATP, glycogen được thoái hóa thành G6P cho con đường đường phân. Ở gan, khi nồng độ glucose trong máu giảm, glycogen thoái hóa thành G6P và trong trường hợp này được chuyển tiếp tục thành glucose để đưa vào vòng tuần hoàn điều hoà mức glucose/máu.

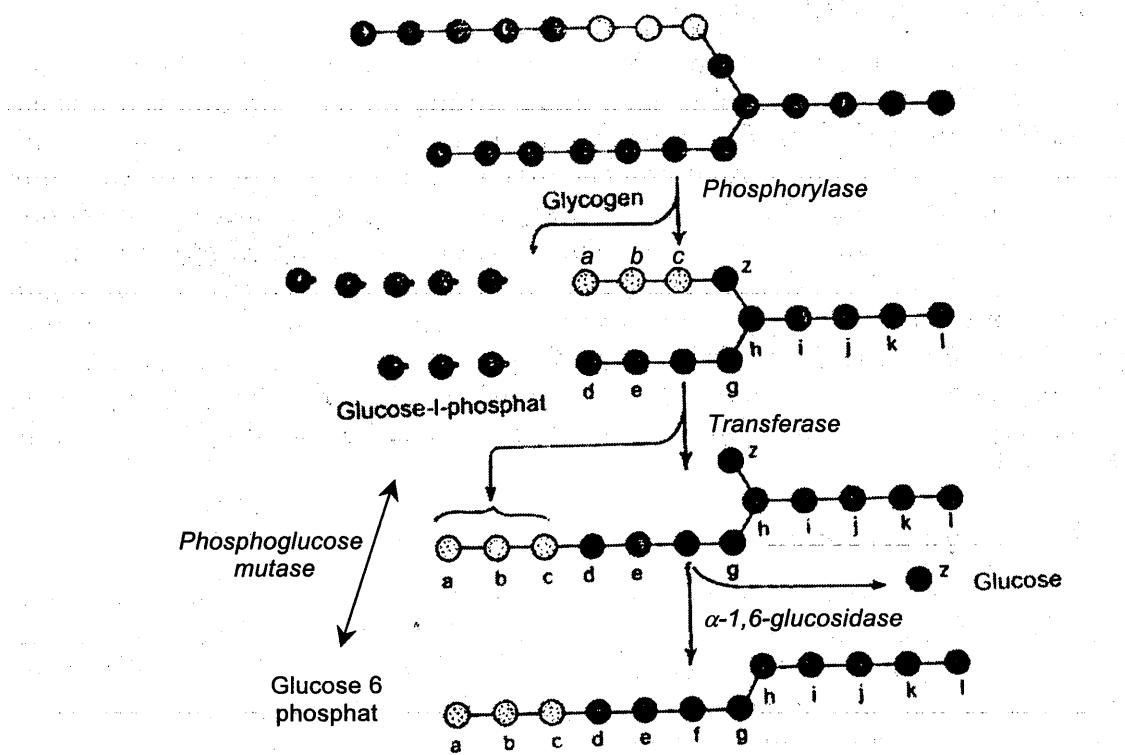
Quá trình thoái hóa của glycogen nhờ hoạt động của 3 enzym (hình 7.13)

- *Glycogen phosphorylase* (gọi đơn giản là *phosphorylase*) xúc tác quá trình phosphoryl phân (bẻ gãy liên kết 1-4 glucosid bằng sự thay thế nhóm phosphat) tạo thành *glucose-1-phosphate* (*G1P*). Enzym này chỉ tác dụng tới khi còn 4 gốc glucose từ điểm chia nhánh thì không hoạt động nữa.
- Tiếp đó *enzym cắt nhánh* (*glycogen debranching enzym*) enzym này có 2 hoạt tính:

Hoạt tính chuyển nhánh [*oligo-(α 1,4 → α 1-4) glucosyl transferase*] thuỷ phân liên kết 1-4 glucosid giữa gốc thứ nhất và gốc thứ hai tách từ gốc nhánh, chuyển một đoạn 3 gốc glucose đến gắn vào đầu một chuỗi thẳng khác bằng cách tạo liên kết 1-4 glucosid, nhánh glycogen này được kéo dài thêm 3 gốc glucose, nhánh còn lại chỉ còn một gốc glucose với liên kết 1-6 glucosid.

Hoạt tính cắt nhánh [*amylo - α (1, 6)-glucosidase*] thuỷ phân liên kết 1-6 của gốc glucose còn lại giải phóng glucose tự do.

- *Phosphoglucomutase* chuyển G1P thành G6P. G6P có thể tiếp tục đi vào con đường đường phân (ở cơ) hoặc có thể bị thuỷ phân thành glucose (ở gan) để cung cấp cho vòng tuần hoàn. Sau quá trình thoái hóa khoảng 90% gốc glucose của glycogen chuyển thành G1P và 10% chuyển thành glucose tự do.



Hình 7.13. Quá trình thoái hóa glycogen

3.2. Tổng hợp glycogen

Sự tổng hợp glycogen xảy ra thực tế ở tất cả các mô nhưng chủ yếu ở gan và cơ. Sự tạo thành glycogen xảy ra trong bào tương. Nguyên liệu để tổng hợp glycogen là glucose. Glucose chuyển thành G6P rồi thành G1P (xem phần 2). Từ G1P sự tổng hợp phân tử glycogen gồm 3 bước nhờ 3 enzym là: *UDP-glucose pyrophosphorylase*, *glycogen synthase* và *enzym gắn nhánh*.

– Trước hết *enzym UDP-glucose pyrophosphorylase* xúc tác sự tạo thành phân tử UDP-glucose từ G1P và UTP. UDP-glucose là chất “năng lượng cao” hoàn toàn cho phép chuyển phân tử glucose để gắn vào phân tử glycogen kéo dài phân tử này.

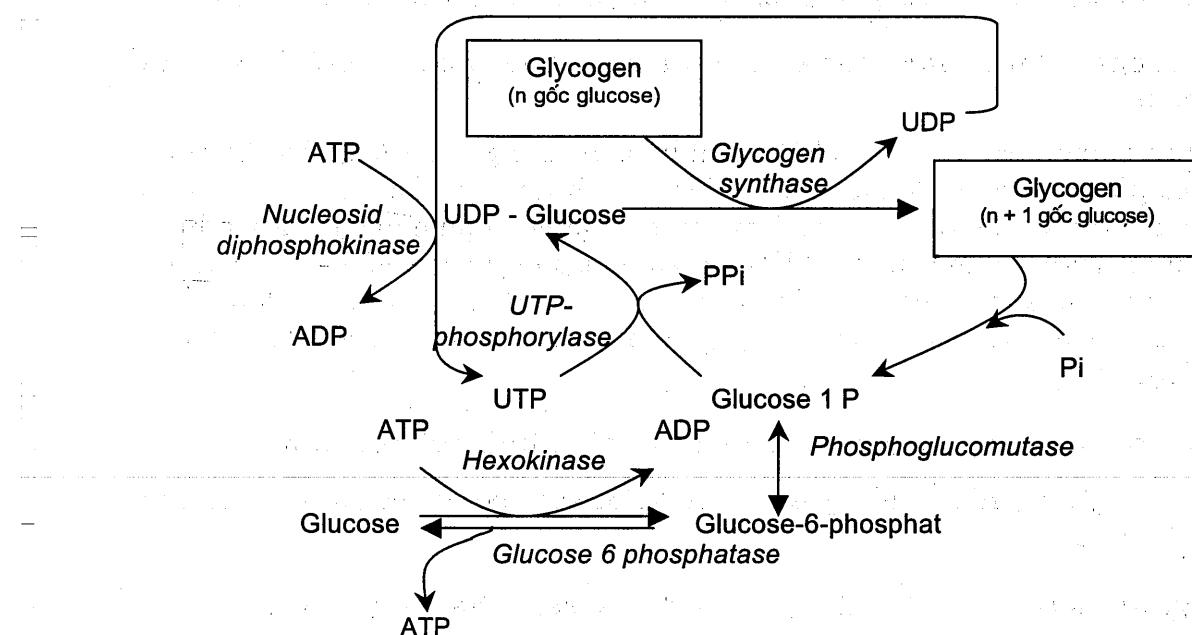
– Sau đó *glycogen synthase* vận chuyển UDP-G đến nhóm C4-OH của phân tử glycogen có sẵn ở đầu không khử tạo thành liên kết 1-4 glucosid và giải phóng phân tử UDP. UDP được tạo thành sẽ tác dụng với ATP dưới tác dụng của *nucleosid diphosphokinase*.

Glycogen synthase không có khả năng tổng hợp phân tử glycogen từ đầu mà chỉ có thể kéo dài mạch glycogen bằng liên kết 1-4.

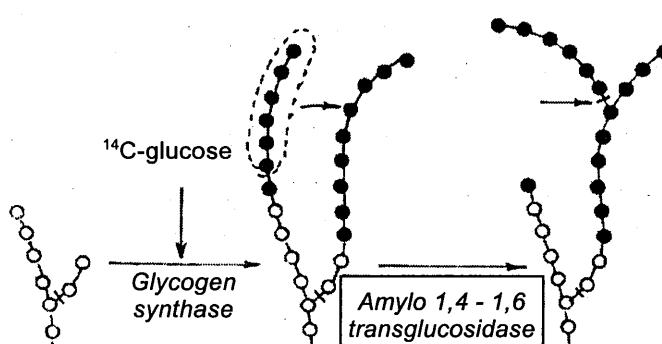
Sự tổng hợp từ đầu một phân tử glycogen là sự gắn gốc glucose vào nhóm OH của tyrosin 194 của phân tử protein được gọi là glycogenin bởi enzym

tyrosin-glucosyltransferase, sau đó tự xúc tác kéo dài chuỗi bởi sự gắn thêm 7 gốc glucose từ UDP-glucose tạo thành đoạn mồi “primer” cho sự mở đầu tổng hợp glycogen. Protein glycogenin tách rời khi hạt glycogen đạt kích thước tối thiểu. Phân tích hạt glycogen cho thấy sự có mặt glycogenin và glycogen synthase với tỷ lệ 1:1.

- Sự tạo mạch nhánh là sự tạo ra liên kết 1-6 glucosid dưới tác dụng của enzym *gắn nhánh* (branching enzyme) gọi là *amylo-(α 1,4 \rightarrow α 1,6) transglucosylase*. Khi chuỗi thẳng dài 11 gốc glucose, enzym amylo - (1,4 \rightarrow 1,6) transglycosylase chuyển một đoạn gồm 6 hoặc 7 gốc glucose ở đầu không khử đến nhóm C6-OH của gốc glucose và mạch nhánh được hình thành. Mạch nhánh cũ và mới được tiếp tục kéo dài bằng sự tạo thành liên kết 1-4 glucosid.



Hình 7.14. Sự tổng hợp glycogen mạch thẳng



Hình 7.15. Sự tổng hợp glycogen mạch nhánh

4. ĐIỀU HOÀ CHUYỂN HÓA GLUCID

Con đường thoái hóa glucose và con đường tân tạo glucose song song nhau và có nhiều phản ứng thuận nghịch. Tuy nhiên có những phản ứng không thuận nghịch giữa thoái hóa và tổng hợp đòi hỏi sự xúc tác bởi enzym khác nhau, chính những phản ứng này là những điểm điều hòa của hai con đường ngược nhau.

Ở cơ, sản phẩm cuối cùng của sự đường phân là sự sản sinh ATP và tốc độ đường phân tăng khi co cơ. Gan có vai trò giữ cho mức glucose máu hằng định bằng cách sản sinh glucose và đưa glucose vào máu khi cần thiết, ngược lại thu nhận và dự trữ glycogen khi được cung cấp dư thừa trong thức ăn. Con đường đường phân ở gan và cơ có 4 enzym đóng vai trò điều hòa: *glycogen phosphorylase*, *hexokinase*, *phosphofructokinase-1* và *pyruvat kinase*.

4.1. Glycogen phosphorylase ở cơ được điều hòa theo cơ chế dị lập thể bởi hormon

Ở cơ epinephrin gắn vào chất nhận bê mặt màng bào tương, có tác dụng hoạt hóa *phosphorylase b* qua cơ chế điều hòa dị lập thể của cAMP (adenylat cyclase xúc tác sự tạo thành cAMP với sự có mặt của epinephrin). cAMP hoạt hóa protein *kinase* phụ thuộc cAMP chuyển *phosphorylase b kinase* sang dạng hoạt động. *Phosphorylase b kinase* dạng hoạt động xúc tác phản ứng phosphoryl hóa *phosphorylase b* (dạng ít hoạt động) sang *phosphorylase a* (hoạt động).

4.2. Glycogen phosphorylase ở gan được điều hòa bởi hormon

Ở gan glycogen *phosphorylase* được kiểm soát bởi glucagon theo cơ chế giống như ở cơ.

4.3. Hexokinase bị ức chế dị lập thể bởi các sản phẩm của nó

Hexokinase bị ức chế dị lập thể bởi glucose-6-phosphat.

4.4. Pyruvat kinase bị ức chế bởi ATP

Ở nồng độ cao của ATP, ATP ức chế dị lập thể *pyruvat kinase* bằng cách làm giảm ái lực của nó với cơ chất PEP.

4.5. Phospho fructokinase -1 được điều hòa theo cơ chế dị lập thể

ATP ức chế *phospho fructokinase -1* bằng cách gắn vào vị trí dị lập thể làm giảm ái lực đối với cơ chất. Citrat làm tăng tác dụng ức chế của ATP. Fructose 2,6 diphosphat hoạt hóa *phospho fructokinase -1* và là một yếu tố điều hòa có ý nghĩa nhất đối với enzym này.

5. RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA GLUCID

Một số tình trạng bệnh lý do rối loạn chuyển hóa glucid có thể gặp là:

5.1. Hạ đường huyết (hypoglycemia)

Hạ đường huyết là một hội chứng được đặc trưng bởi sự giảm nồng độ glucose máu, thường giảm dưới 50 mg/dl tương đương 2,8 mmol/l. Merimee và Tyson đã đưa ra giới hạn thấp của nồng độ glucose trong huyết thanh là 35 mg/dl (1,9 mmol/l) ở phụ nữ khỏe mạnh trước tuổi mãn kinh nhịn ăn 24 giờ là khả năng thấp nhất của nồng độ glucose không bệnh lý. Hạ đường huyết có thể xảy ra do điều trị insulin quá liều, hoặc các thuốc hạ đường huyết khác hoặc bởi sự giảm tạo glucose do hậu quả của uống nhiều rượu. Cũng có thể xảy ra do nhịn ăn, hoặc hạ đường huyết tự phát. Trường hợp này ít gặp nhưng khi xảy ra thường do tổn thương nhiều cơ quan tổ chức.

Hạ đường huyết khi đó có thể xảy ra do sự bài tiết quá nhiều insulin của tuyến tụy: u tụy tế bào tiểu đảo (insulinomas), u ngoài tuyến tụy mà sản xuất ra những chất hoạt tính tương tự insulin, gặp trong các bệnh về gan, thiếu hụt glucocorticoid, nhiễm trùng huyết, giảm dự trữ glycogen.

Hội chứng hạ glucose máu ở người lớn có thể phân biệt thành hai nhóm dựa trên sự hạ glucose trong huyết thanh xảy ra nhanh hay từ từ.

- Giảm glucose trong huyết thanh gây ra sự tăng tiết epinephrin, bệnh nhân có các triệu chứng gây ra bởi epinephrin như vã mồ hôi, đói, run lẩy bẩy, nôn mửa, mạch nhanh...
- Giảm glucose huyết thanh từ từ tới nồng độ 20 hoặc 30 mg/dl (1,1 hoặc 1,7 mmol/l) gây suy yếu chức năng thần kinh trung ương vì vỏ não phụ thuộc vào sự cung cấp đầy đủ glucose về mặt năng lượng. Người bệnh có các triệu chứng như: hoảng sợ, không có ý thức, thò o. Não tổn thương, có thể chết sau hôn mê.

Trẻ em kém nhạy cảm với sự giảm nồng độ glucose, tuy nhiên nếu nồng độ < 30 mg/dl ở tuổi học đường và giảm dưới 20 mg/dl ở tuổi trước học đường là không bình thường. Hiện tượng hạ glucose máu còn gặp ở các bệnh ứ glycogen bẩm sinh như sê trình bày sau đây.

5.2. Bệnh thiếu vitamin B1

Bệnh thiếu vitamin B1 (thiamin) còn được gọi là bệnh Beriberi. Bệnh lần đầu tiên được mô tả ở Java năm 1930, bởi Jacobus Bonitus (người Hà lan). Bệnh xuất hiện khi có sự suy giảm thiamin trong thức ăn, (thiamin có rất ít ở lớp ngoài của gạo). Bệnh được đặc trưng bởi các triệu chứng thần kinh và tim. Với thần kinh ngoại biên thể hiện bằng sự đau tay chân, suy yếu hệ thống cơ, tê bì, rối loạn cảm giác da. Tim có thể to, hoạt động tim suy yếu. Vitamin B1 cấu tạo thiaminpyrophosphat (TPP), là coenzym của 3 enzym *pyruvat dehydrogenase*, *α-cetoglutarate dehydrogenase* và các *transketolase*. Ở bệnh Beriberi, pyruvat và α-cetoglutarate cao hơn bình thường. Trên *in vitro* hoạt độ *pyruvat dehydrogenase*, *α-cetoglutarate dehydrogenase* thấp, hoạt độ *transketolase* trong hồng cầu thấp. Tuy nhiên, mức độ giảm của ba enzym này liên quan như thế nào với các triệu chứng lâm sàng là điều hiện còn chưa rõ ràng.

5.3. Các bệnh ú glycogen bẩm sinh

Các bệnh ú glycogen là một tập hợp các bệnh thiếu hụt enzym của chuyển hóa glycogen, được chia làm 10 typ sau đây:

Typ 1: thiếu hụt *glucose-6-phosphatase* (bệnh Von Gierke).

Glucose-6-phosphatase là enzym xúc tác phản ứng tách glucose khỏi G6P từ gan vào vòng tuần hoàn. Khi nồng độ G6P tăng, *glycogen phosphorylase* bị ức chế và *glycogen synthase* được hoạt hóa, hậu quả là nồng độ glucose trong máu không tăng khi đáp ứng glucagon và epinephrin. Bệnh với biểu hiện: gan to, nồng độ glucose máu giảm trầm trọng, cấu trúc của glycogen bình thường nhưng nồng độ glycogen cao trong gan. Tăng ketonic và tăng lipid máu.

Typ II: thiếu hụt α -1,4-glucosidase (bệnh Pompe)

Thiếu hụt α -1,4-glucosidase gây hậu quả tích luỹ lượng lớn glycogen có cấu trúc bình thường trong lysosom của tất cả các tế bào, người bệnh chết do suy tim, suy hô hấp, thường không sống được quá 1 tuổi.

Typ III: thiếu hụt *amylo-1,6-glucosidase* –enzym cắt nhánh (bệnh Cori)

Thiếu hụt *amylo-1,6-glucosidase* ở tất cả các tổ chức làm cho cấu trúc của glycogen không bình thường, không có *amylo-1,6-glucosidase*, glycogen không thể thoái hóa hoàn toàn gây tình trạng hạ glucose máu, nhưng không trầm trọng như bệnh typ I. Trong trường hợp này điều trị bằng chế độ ăn với nồng độ cao protein. Bệnh có thể hết ở tuổi dậy thì.

Typ IV: thiếu hụt *amylo-(1,4→1,6)-transglycosylase* (bệnh Andersen)

Đây là một bệnh trầm trọng về sự tổng hợp glycogen, người bệnh có nguy cơ không sống quá 2 tuổi do sự hoạt động không bình thường của gan, gan to, xơ gan. Nồng độ glycogen trong gan không tăng nhưng cấu trúc không bình thường, ít nhánh và nhánh rất dài.

Typ V: thiếu hụt *glycogen phosphorylase* cơ (bệnh McArdl)

Ú đọng glycogen trong cơ nhưng cấu trúc glycogen bình thường người bệnh có biểu hiện chuột rút khi luyện tập. Đau cơ, myoglobin niệu. Có bệnh nhân vẫn phát triển bình thường.

Typ VI: thiếu hụt *glycogen phosphorylase* gan (bệnh Hers)

Người bệnh có hội chứng giống như bệnh typ I nhưng diễn biến nhẹ nhàng, với biểu hiện hạ glucose máu, ú glycogen trong gan, cấu trúc glycogen bình thường.

Typ VII: thiếu hụt *phosphofructokinase* cơ (bệnh Tarui)

Ú đọng glycogen trong cơ, nhưng cấu trúc glycogen bình thường, người bệnh có biểu hiện chuột rút khi luyện tập, một số bệnh nhân có myoglobin niệu.

Typ VIII:

Thiếu hụt *adenylat cyclase*. Nồng độ catecholamin cao trong nước tiểu, bệnh nhân chết từ tuổi ấu thơ. Bệnh có biểu hiện như bệnh typ VI.

Typ IX: thiếu *phosphorylasekinase b*

Cấu trúc glycogen bình thường, lượng glycogen trong gan tăng, khối lượng gan tăng.

Typ X: thiếu *kinase* phụ thuộc cAMP. Bệnh chỉ thể hiện khối lượng gan tăng.

5.4. Bệnh galactose máu bẩm sinh

Bệnh gây ra do thiếu một trong ba enzym chuyển hóa galactose là: *galactokinase*, *galactose -1-phosphat uridylyl transferase* và *uridin diphosphate glucose - 4 - epimerase* bẩm sinh. Bệnh kinh điển là thiếu galactose -1-*phosphat uridylyl transferase*. Trẻ em bị bệnh này sẽ còi cọc, thường bị nôn mửa và tiêu chảy sau khi ăn sữa, chậm phát triển trí óc, có galactose niệu, galactose máu tăng gây đục thuỷ tinh thể. Bệnh được điều trị bằng chế độ ăn không có sữa.

5.5. Bệnh về chuyển hóa fructose

Bệnh biểu hiện bằng sự không dung nạp fructose, hạ glucose máu, tình trạng nặng có nhiễm acid lactic, gan to, nguyên nhân do thiếu enzym *fructose-1-phosphat aldolase* hoặc *fructose 1,6 diphosphatase*. Trường hợp không ác tính là do thiếu hụt *fructokinase* gan.

5.6. Bệnh đái tháo đường

Bệnh đái tháo đường (ĐTD) còn gọi là bệnh tiểu đường. Bệnh được xem như một hội chứng bao gồm nhiều rối loạn mà sự tăng glucose máu là dấu hiệu đặc trưng. Trong bệnh ĐTD, mức độ giảm insulin về số lượng và chất lượng là nguyên nhân gây tình trạng thay đổi các con đường chuyển hóa bình thường. Vì thiếu insulin nên sự hấp thu glucose vào trong tế bào nhờ Glut 4 giảm, dẫn đến nồng độ glucose trong máu tăng cao, glucose sẽ đào thải ra ngoài nước tiểu. Kèm theo glucose, nước cũng bị đào thải theo. Vì vậy những bệnh nhân ĐTD không được điều trị sẽ có các triệu chứng khát và đói. Sự đào thải nhiều glucose làm cạn kiệt dự trữ glucid, do đó cơ thể tăng cường thoái hóa các chất lipid và protein để cung cấp năng lượng cho cơ thể, hậu quả trọng lượng cơ thể giảm. Có thể đưa ra biểu hiện điển hình của bệnh ĐTD là: đái nhiều, uống nhiều, ăn nhiều nhưng gầy nhiều. Con đường đường phân bị hạn chế. Sự phân ly glycogen thành glucose tăng, và con đường tổng hợp glucose từ các sản phẩm không phải glucid tăng. Các quá trình này gây sự tăng sản phẩm pyruvat và acetyl CoA. Acetyl CoA này không vào được chu trình acid citric, mà chuyển hóa thành cholesterol và các chất ceton bao gồm acid acetoacetic, acid β hydroxybutyric và aceton. Trong máu nồng độ các chất ceton tăng cao và trong nước tiểu có các chất ceton, hậu quả cuối cùng có thể dẫn đến nhiễm acid chuyển hóa.

Các rối loạn chuyển hóa trong bệnh ĐTD.

- *Hiện tượng glycosyl hóa*: glycosyl hóa là các phân tử protein và enzym trong máu hoặc trong tổ chức gắn với phân tử glucose và các dẫn xuất của glucose, phản ứng kết hợp này không cần enzym mà phụ thuộc vào nồng độ glucose trong máu.

Trong huyết thanh albumin bị glycosyl hóa thành fructosamin. Trong hồng cầu hemoglobin A (HbA), bị glycosyl hóa tạo thành HbA_{1c}.

Người ta định lượng fructosamin và HbA_{1c} để theo dõi bệnh ĐTD trong quá trình điều trị.

- *Hiện tượng gluco - oxy hóa*: trong phản ứng glycosyl hóa có kèm theo phản ứng oxy hóa tạo các gốc tự do, mở đầu một dây truyền sản sinh các gốc tự do nhiều gấp bội. Gốc tự do là một trong các nguyên nhân biến chứng mạch máu ở bệnh ĐTD

- *Tăng chuyển hóa glucose theo con đường polyol*

Glucose chuyển hóa theo con đường đường phân kém, glucose chuyển hóa theo con đường polyol, gây tăng nồng độ sorbitol và fructose trong tế bào. Nồng độ sorbitol và fructose tăng trong thủy tinh thể là nguyên nhân của đục thủy tinh thể trong ĐTD.

Theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới, hai loại ĐTD chính là:

- Đái tháo đường lệ thuộc insulin (insulin dependent diabetes mellitus IDDM) hay ĐTD typ 1, là bệnh tự miễn, được đặc trưng bởi sự phá huỷ tế bào β của tuyến tụy. Những người có nguy cơ phát triển thành bệnh ĐTD trong huyết thanh có kháng thể kháng tế bào đảo, kháng thể kháng insulin và *glutamic acid decarboxylase* (GAD) và sự giảm dần khả năng bài tiết insulin của tế bào β. GAD là enzym xúc tác sự chuyển acid glutamic thành acid amino butyric được xem là một tự kháng thể (auto antigen) của bệnh. ĐTD typ 1 được đặc trưng bởi:

- Sự thiếu hụt tuyệt đối hoặc gần như tuyệt đối insulin.
- Sự xuất hiện những triệu chứng trầm trọng
- Khả năng xuất hiện thể ceton niệu
- Phụ thuộc vào insulin ngoại sinh để đảm bảo đời sống

- Đái tháo đường không lệ thuộc insulin (non insulin dependent diabetes mellitus NIDDM) hay ĐTD typ 2, chiếm 85% các trường hợp ĐTD ở các nước phát triển và gần như 100% ở những nước đang phát triển. ĐTD typ 2 được đặc trưng bởi:

- Nồng độ insulin trong máu bình thường
- Các triệu chứng thường ôn hòa (mệt mỏi, khát nước) đôi khi không có triệu chứng
- Không có khả năng xuất hiện thể ceton niệu.

- Người bệnh không phụ thuộc insulin ngoại sinh

Bệnh thường được chẩn đoán sau tuổi 40, thường được chẩn đoán một cách ngẫu nhiên sau kết quả xét nghiệm glucose máu và glucose niệu. Bệnh cũng gặp ở người trẻ.

ĐTD là bệnh mạn tính dẫn đến những biến chứng trầm trọng về các bệnh tim mạch (hơn 70% bệnh nhân ĐTD có tỷ lệ tử vong do bệnh tim mạch), bệnh thận, thần kinh.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày quá trình thoái hóa từ glucose đến lactat: nơi xảy ra, các phản ứng và năng lượng được tạo thành.
2. Trình bày sự thoái hóa glucose trong điều kiện ái khí (có oxy) đến sản phẩm cuối cùng là CO_2 và H_2O : nơi xảy ra, các phản ứng từ glucose đến pyruvat, tính toàn bộ năng lượng tạo thành.
3. Trình bày chu trình pentose (chú ý viết các phản ứng trong giai đoạn 1), ý nghĩa của chu trình này.
4. Trình bày quá trình thoái hóa của các monosaccharid: galactose, fructose, monnose.
5. Trình bày quá trình tân tạo glucose.
6. Trình bày quá trình thoái hóa glycogen.
7. Trình bày quá trình tổng hợp glycogen ở cơ.
8. Trình bày sự khác nhau của quá trình tổng hợp glycogen ở gan và cơ.

Chương 8

CHUYỂN HÓA LIPID VÀ LIPOPROTEIN

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được quá trình thoái hóa của acid béo bão hòa có số carbon chẵn và acid béo không bão hòa có một liên kết đôi.*
2. *Trình bày được sự tạo thành các thể ceton và sự oxy hóa chung trong tế bào.*
3. *Trình bày được quá trình tổng hợp acid béo bão hòa trong tế bào (ở bào tương và ở ty thể).*
4. *Trình bày được sự chuyển hóa của triglycerid và lecithin.*
5. *Trình bày được các dạng lipoprotein trong máu và đặc điểm, vai trò sinh học chủ yếu của từng loại.*

Lipid trong cơ thể có hai dạng:

- Lipid dự trữ: chủ yếu là triglycerid, hàm lượng thay đổi.
- Lipid màng: chủ yếu là phospholipid và cholesterol, thành phần không đổi và chiếm khoảng 10% trọng lượng khô.

Lipid có hai chức năng chính: sản sinh năng lượng và tham gia cấu trúc của tế bào và mô. Ngoài ra, lipid tạp còn liên quan đến đặc tính của màng tế bào và các hormon steroid, prostaglandin – chất giữ vai trò sinh lý đặc biệt trong kiểm soát sự chuyển hóa các chất.

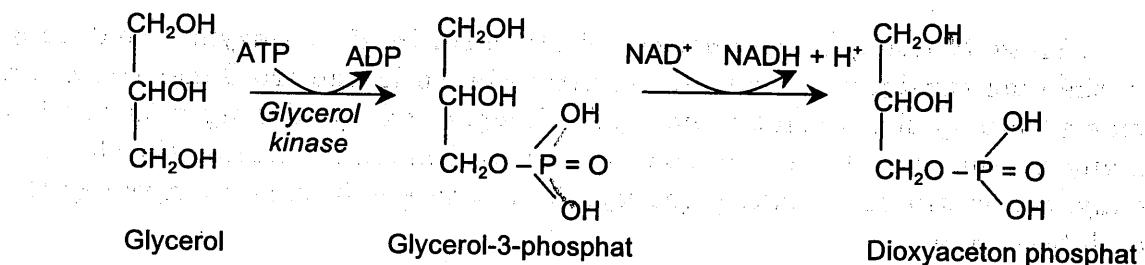
Nhu cầu lipid của cơ thể: 60-100g/ngày với người trưởng thành, 30-80g/ngày với trẻ em và chủ yếu dưới dạng triglycerid.

1. THOÁI HÓA CỦA LIPID Ở TẾ BÀO

Thuỷ phân triglycerid (triacylglycerol) nhờ xúc tác của *lipase*

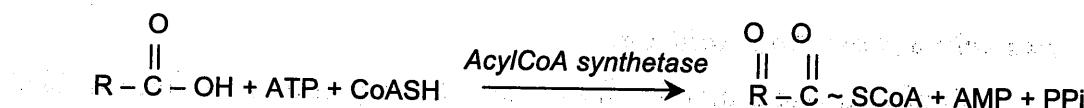
1.1. Thoái hóa của glycerol

Quá trình xảy ra ở gan và một số mô. Mô mỡ không có *glycerokinase*.

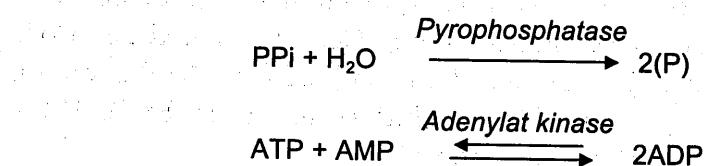


1.2. Thoái hóa của acid béo bão hòa có số carbon chẵn

1.2.1. Hoạt hóa và vận chuyển acid béo vào ty thể

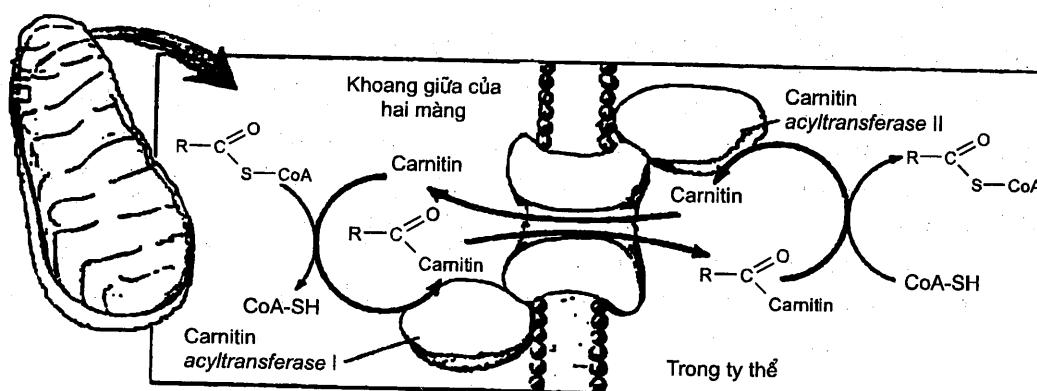


Enzym acylCoA synthetase gồm các isoenzym khác nhau đặc hiệu cho các acid béo chuỗi ngắn, trung bình và dài; chúng có mặt ở màng ngoài ty thể.



Như vậy, sự hoạt hóa acid béo cần 2ATP.

Các acid béo mạch dài dưới dạng acylCoA được hình thành ở màng ngoài ty thể không qua được màng trong ty thể để vào chất khuôn (matrix) – nơi chúng bị oxy hóa. Chúng được vận chuyển theo cơ chế đặc hiệu nhờ carnitin – là amin bậc 4 mang chức alcol bậc nhì, có thể este hóa với acid béo; phản ứng este hóa carnitin và acid béo được xúc tác nhờ carnitin acyltransferase I có ở mặt ngoài của màng trong ty thể. Este acyl-carnitin đi qua màng trong ty thể vào trong ty thể bởi sự khuyếch tán dễ dàng thông qua hệ thống vận chuyển acyl-carnitin/carnitin (Hình 8.1).



Hình 8.1. Vận chuyển acid béo vào ty thể theo hệ thống vận chuyển acylcarnitin/carnitin

Trong ty thể, gốc acyl được chuyển từ carnitin đến coenzym A có ở trong ty thể dưới tác dụng của carnitin acyltransferase II khu trú ở mặt trong của màng trong ty thể. Carnitin được giải phóng sẽ trở lại khoảng giữa của hai màng ty thể theo hệ thống vận chuyển acylcarnitin/carnitin. Cơ chế vận chuyển trên giữ cho 2 nguồn coenzymA và acid béo ở trong và ngoài ty thể cách biệt nhau.

Cần chú ý rằng trong ty thể có một loại *acylCoA synthetase* xúc tác phản ứng hoạt hóa những acid béo ở trong ty thể, enzym này không sử dụng ATP mà đòi hỏi GTP.

1.2.2. Quá trình β -oxy hóa acid béo

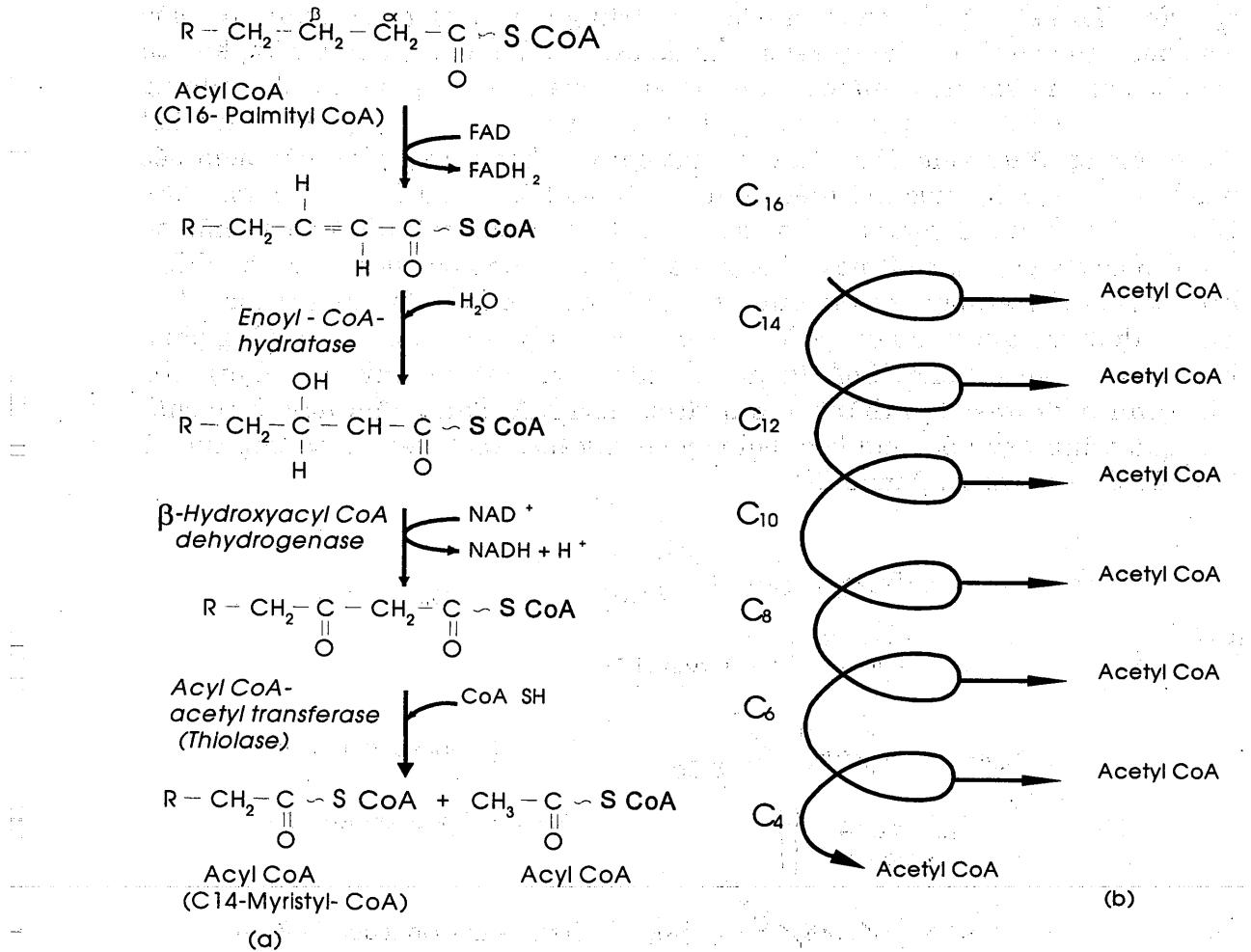
Quá trình xảy ra trong matrix của ty thể, gồm 4 giai đoạn nhằm cắt dần acid béo thành những mẫu 2C dưới dạng acetylCoA từ nhóm carboxyl tận của gốc acyl.

– *Phản ứng khử hydro lần thứ nhất:* sự khử hydro sản sinh một liên kết đôi giữa C_α và C_β (C_2 và C_3) tạo thành trans- Δ^2 -enoylCoA. Có 4 loại acylCoA dehydrogenase, mỗi enzym đặc hiệu với một loại acid béo có độ dài chuỗi hydrocarbon nhất định, các enzym này đều có chất cộng tác là FAD. FAD nhận điện tử và điện tử này đi vào một cặp điện tử.

– *Phản ứng kết hợp nước:* sự kết hợp một phân tử nước vào liên kết đôi Δ^2 -trans dưới tác dụng của *enoylCoA hydratase* có tính đặc hiệu không gian và tạo nên L-3-hydroxyacylCoA. Enzym này cũng có khả năng xúc tác phản ứng kết hợp nước vào liên kết đôi Δ^2 -cis của các acylCoA không bão hòa và sinh ra D-3-hydroxyacylCoA.

– *Phản ứng khử hydro lần thứ hai:* dưới tác dụng của *β -hydroxyacylCoA dehydrogenase* có chất cộng tác là NAD^+ tạo ra 3-cetoacylCoA. Enzym này ít đặc hiệu với chiều dài chuỗi hydrocarbon của acid béo nhưng đặc hiệu tuyệt đối với dạng đồng phân không gian L. NADH hình thành sẽ nhường điện tử cho *NADH-dehydrogenase* và 3 phân tử ATP được tạo ra ứng với một cặp điện tử được chuyển từ NADH đến O_2 trong chuỗi hô hấp tế bào.

– *Phản ứng phân cắt, tạo acetylCoA:* có sự tham gia của *acylCoA acetyltransferase* (thiolase hay β -cetothiolase) và một phân tử coenzymA, cắt ra 1 phân tử acetylCoA. Gốc acyl của acid béo bị ngắn đi hai carbon. Phân tử acylCoA mới này lại tiếp tục trải qua 4 phản ứng như trên của quá trình β -oxy hóa cho đến khi gốc acylCoA chỉ còn một phân tử acetylCoA. Như vậy, ví dụ 1 phân tử acid palmitic có 16C được hoạt hóa thành palmitylCoA và trải qua 7 vòng oxy hóa để giải phóng 8 phân tử acetylCoA (Hình 8.2).



Hình 8. 2. Quá trình β -oxy hóa acid béo

(a): Bốn phản ứng của chu trình oxy hóa acid béo

(b): Bảy vòng oxy hóa của phân tử acid béo 16C dẫn đến sự hình thành 8 mẫu 2C (Acetyl CoA)

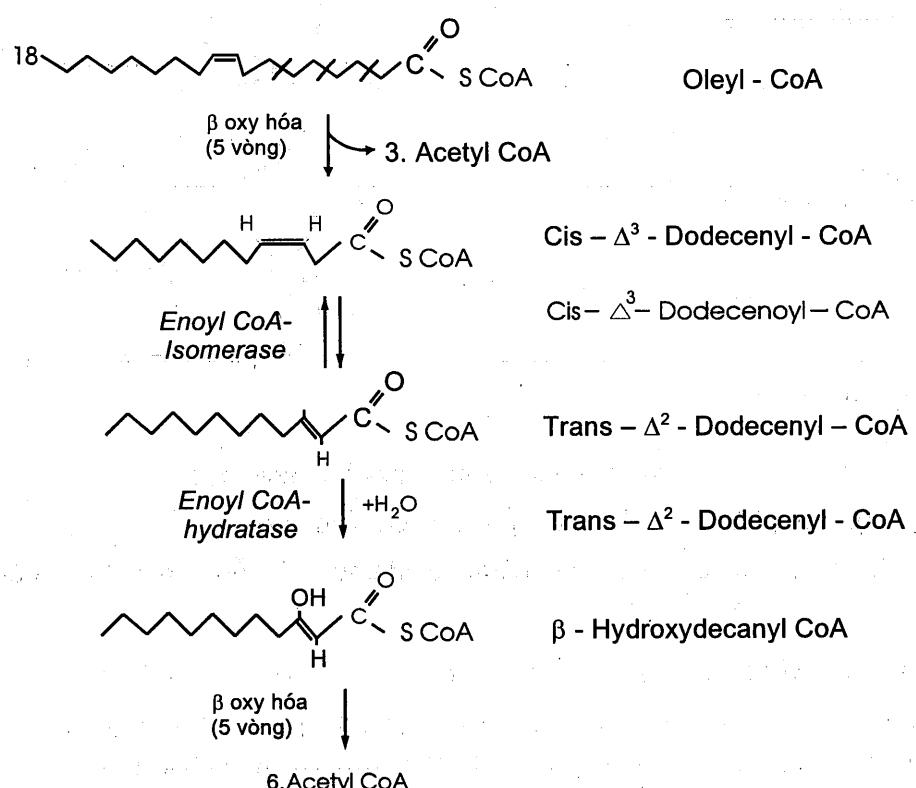
1.2.3. Bilan năng lượng của quá trình β -oxy hóa acid béo

Một phân tử acid béo có số carbon chẵn $2n$ bị oxy hóa hoàn toàn sẽ cho n phân tử acetylCoA, ứng với $12n$ ATP (1 phân tử acetylCoA bị oxy hóa trong chu trình acid citric tạo thành 12 ATP); $(n-1)$ phân tử $FADH_2$ và $(n-1)$ phân tử NADH hoặc 5 $(n-1)$ ATP. Quá trình hoạt hóa acid béo cần 2 ATP. Như vậy, số lượng ATP thu được là: $[5(n-1) + 12n] - 2 = 17n - 7$.

1.3. Thoái hóa acid béo không bão hoà

Các acid béo không bão hoà (ví dụ: acid oleic) được oxy hóa gần giống như con đường oxy hóa acid béo bão hoà, nhưng có hai vấn đề cần chú ý. Một là, liên kết đôi trong phân tử acid béo không bão hoà trong tự nhiên thuộc dạng

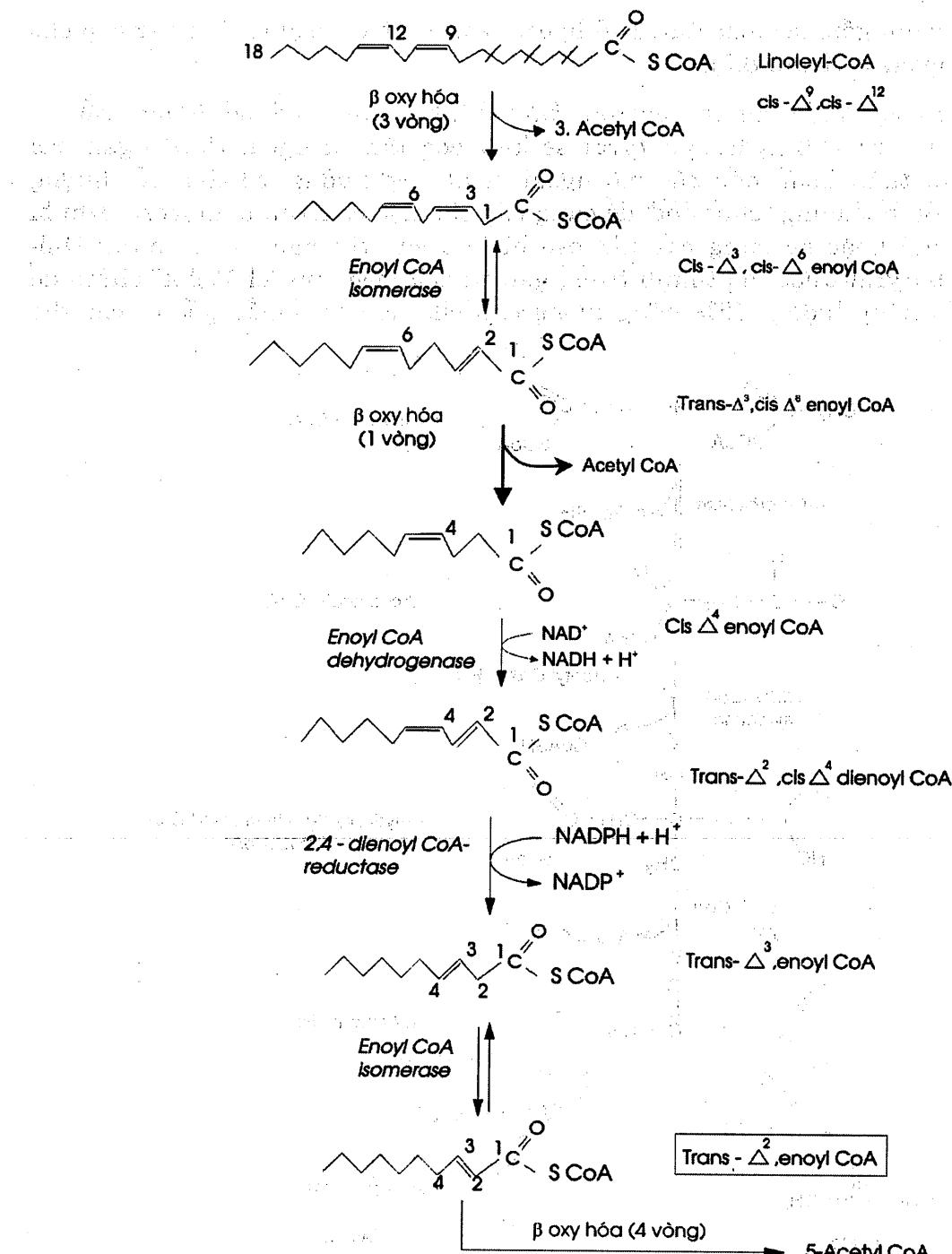
cis, còn liên kết đôi của chất chuyển hóa trung gian trong quá trình oxy hóa acid béo bão hoà thuộc dạng trans. Hai là, các liên kết đôi của hầu hết phân tử acid béo không bão hoà thường ở những vị trí mà sau khi phân cắt dần những mảng 2C kể từ đầu có nhóm carboxyl là liên kết đôi Δ^3 , không phải là liên kết đôi Δ^2 giống như trong phân tử các chất chuyển hóa trung gian của acid béo bão hoà. Điều này được thể hiện trong sự thoái hóa của acid oleic (Hình 8.3). OleylCoA trải qua 3 vòng oxy hóa sản sinh 3 phân tử acetylCoA và 1 phân tử cis- Δ^3 -dodecenylCoA, chất này không thể được chuyển hóa bởi enzym *enoylCoA hydratase* (enzym này chỉ tác dụng trên những liên kết đôi dạng trans). Tuy nhiên, dưới tác dụng của *enoylCoA isomerase*, cis- Δ^3 -enoylCoA được đồng phân hóa thành trans- Δ^2 -enoylCoA (trans- Δ^2 -dodecenylCoA) rồi chịu tác dụng của *enoylCoA hydratase* tạo thành L- β -hydroxyacylCoA. Sản phẩm này là cơ chất của quá trình oxy hóa acid béo, bởi vậy sự oxy hóa acid oleic được tiếp tục và khi kết thúc sẽ tạo ra 9 mảng 2C.



Hình 8.3. Quá trình oxy hóa acid béo không bão hoà có một liên kết đôi (acid oleic)

Đối với các acid béo không bão hoà nhiều liên kết đôi đòi hỏi thêm enzym phụ nữa để hoàn thành sự oxy hóa chúng (Hình 8.4).

Như vậy, các enzym phụ của quá trình oxy hóa acid béo có thể làm cho tất cả acid béo không bão hoà gấp trong các lipid tự nhiên được oxy hóa hoàn toàn.



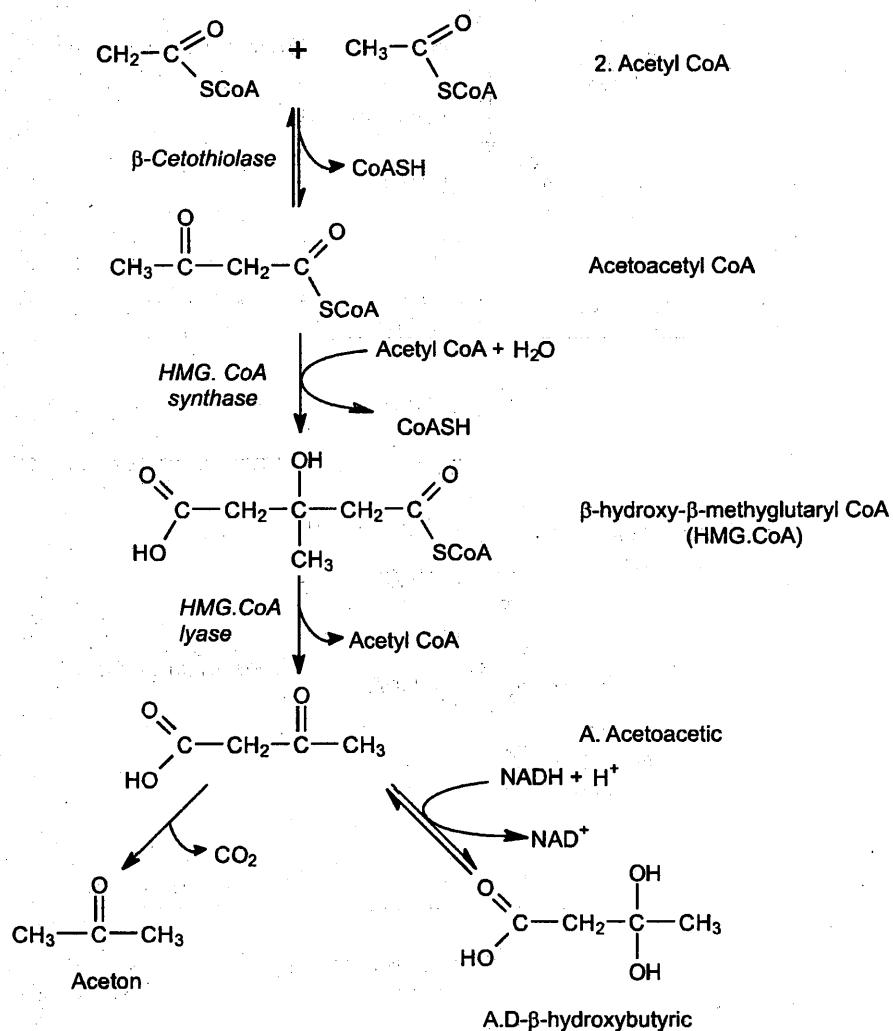
Hình 8.4. Quá trình oxy hóa acid béo không bão hòa có nhiều liên kết đôi (acid linoleic)

1.4. Các thể ceton và sự oxy hóa của chúng

Ở cơ thể người và động vật có vú, acetylCoA được hình thành ở gan trong quá trình oxy hóa acid béo có thể đi vào chu trình acid citric hoặc có thể tạo ra

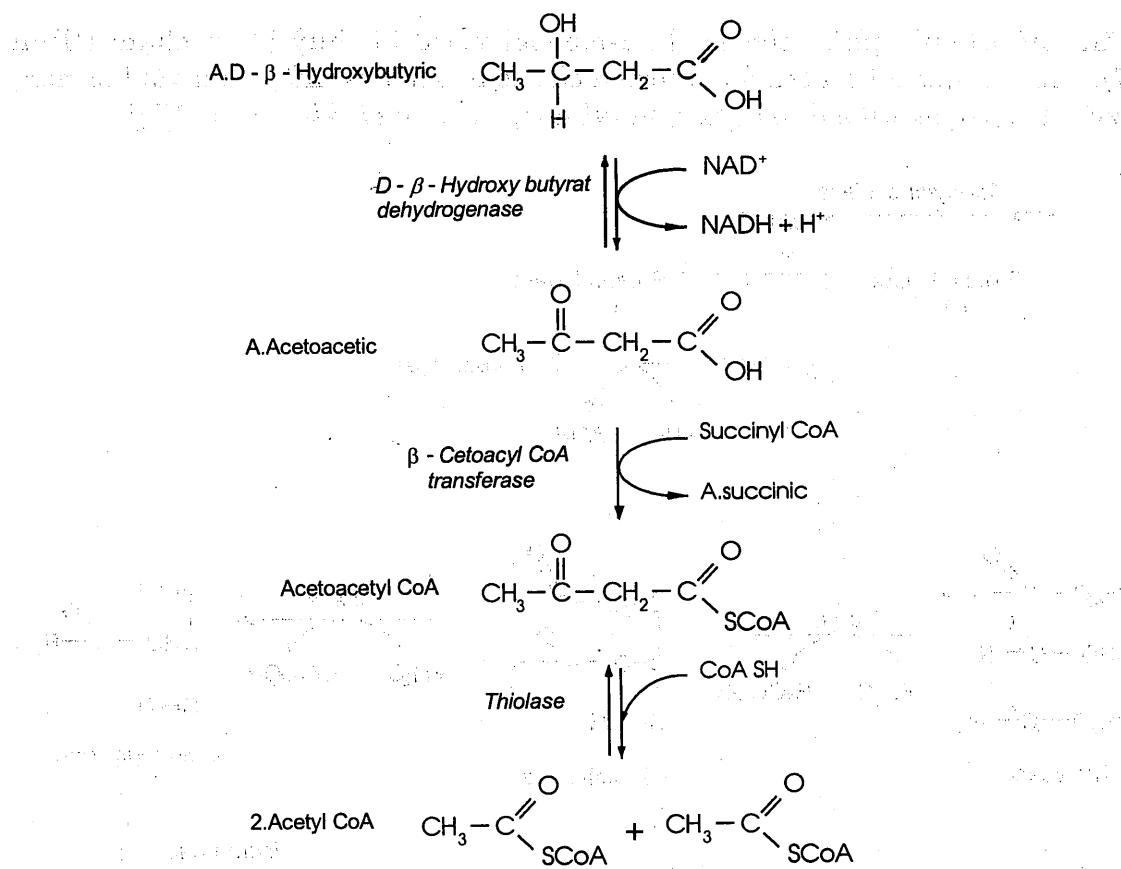
các thể ceton gồm acetoacetat, D- β -hydroxybutyrat và aceton để cung cấp cho các mô ngoại vi (Hình 8.5).

Ở người khỏe mạnh, aceton được hình thành với số lượng rất ít. Acetoacetat và D- β -hydroxybutyrat sẽ khuyếch tán ra ngoài tế bào gan, rồi theo máu tuần hoàn đến các mô ngoại vi như cơ xương, cơ tim, vỏ thượng thận,... Bình thường “chất đốt” để cung cấp cho não chủ yếu là glucose. Khi bị đói kéo dài hoặc sự cung cấp glucose bị hạn chế thì não có thể dùng D- β -hydroxybutyrat được tạo thành trong gan từ acid béo làm “chất đốt” chính để cung cấp năng lượng (75% năng lượng cần cho não có nguồn gốc từ các thể ceton).



Hình 8.5. Sự tạo thành các thể ceton từ acetylCoA

Tại các mô ngoại vi, D- β -hydroxybutyrat được oxy hóa thành acetoacetat, sau đó chất này được hoạt hóa thành acetoacetylCoA và rồi phân tách tạo nên 2 phân tử acetylCoA (Hình 8.6). AcetylCoA sẽ đi vào chu trình acid citric.



Hình 8.6. Sự tạo thành acetylCoA từ D-β-hydroxybutyrat ở các mô ngoại vi

Sự hình thành và vận chuyển các thể ceton từ gan đến các mô ngoại vi tạo điều kiện cho quá trình oxy hóa tiếp tục của acid béo và acetylCoA trong tế bào gan. Bình thường, nồng độ các thể ceton trong máu rất thấp. Khi đói glucid hoặc khi bị bệnh đái đường, sự thoái hóa glucid bị giảm và cơ thể cần phải oxy hóa lipid dự trữ để bù đắp cho nhu cầu của cơ thể và gây nên nồng độ bệnh lý của các thể ceton: các thể ceton tăng rất cao trong máu và nước tiểu, đôi khi có mùi acetone trong hơi thở. Sự tạo thành các thể ceton bệnh lý là hậu quả của sự mất cân đối giữa chuyển hóa glucid và chuyển hóa lipid, dẫn đến:

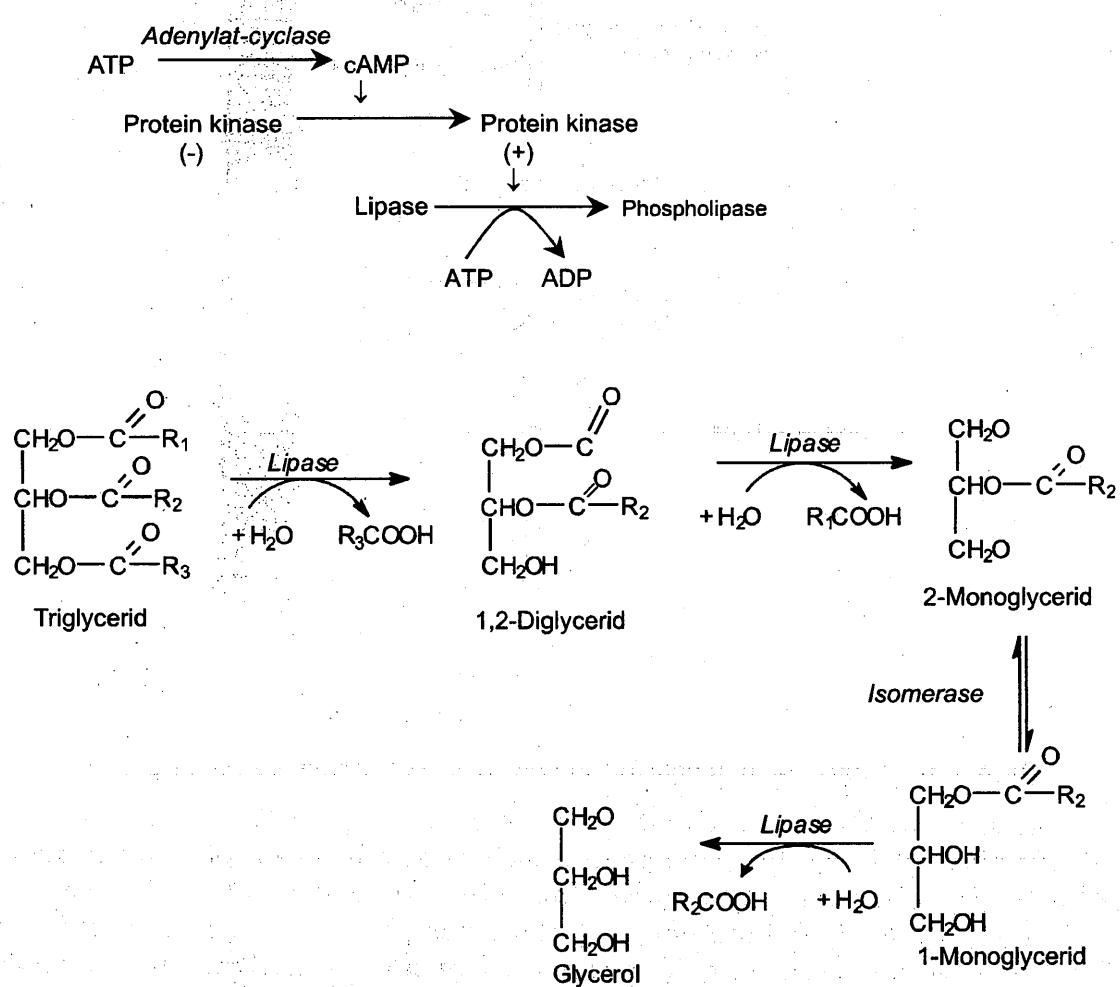
- Thiếu NADPH-coenzym được tạo nên từ con đường hexose monophosphate và cần thiết cho quá trình tổng hợp acid béo.
- Thiếu succinylCoA - sản phẩm chuyển hóa trung gian của chu trình acid citric và là chất cung cấp CoA để hoạt hóa acid acetoacetic.

Tóm lại, sự ứ đọng các thể ceton trong cơ thể là do tốc độ tạo thành các chất này ở gan vượt quá khả năng sử dụng chúng tại các mô ngoại vi.

1.5. Thoái hóa triglycerid (triacylglycerol)

Dưới tác dụng của lipase, triglycerid bị thuỷ phân thành glycerol và acid béo và xảy ra theo từng giai đoạn: trước hết, liên kết este ở C₁ và C₃ bị thuỷ

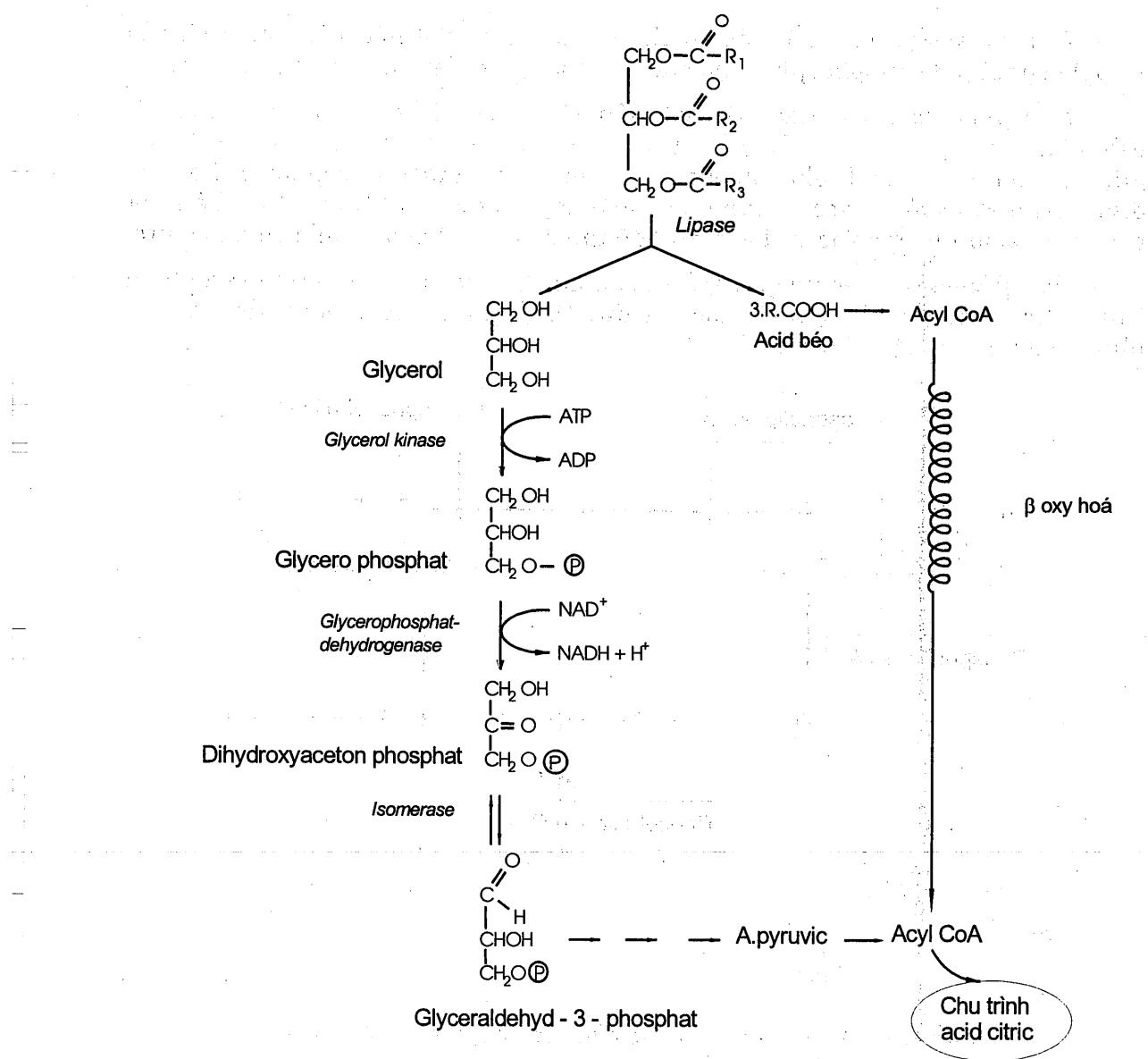
phân khá nhanh, phần còn lại là 2-monoglycerid bị thuỷ phân chậm (Hình 8.7). Enzym *lipase* khu trú ở microsom của tế bào mỡ và nhạy cảm với hormon; enzym hoạt động dưới dạng phosphoryl hóa, cần *proteinkinase* và ATP.



Hình 8.7. Tác dụng của lipase

Enzym *glycerokinase* xúc tác sự hoạt hóa glycerol, tạo glycerol 3-phosphat. Enzym này có nhiều trong gan, thận, niêm mạc ruột và tuyến vú đang tạo sữa. Glycerol 3-phosphat được oxy hóa thành dihydroxyaceton phosphat (DAP), rồi được đồng phân hóa thành glyceraldehyd 3-phosphat (GAP) nhờ *isomerase* xúc tác. Glyceraldehyd 3-phosphat được oxy hóa qua nhiều bước thành acid pyruvic, rồi tạo ra acetylCoA để oxy hóa trong chu trình acid citric (Hình 8.8).

Acid béo tự do vào máu, gắn với albumin huyết tương tạo thành một dạng lipoprotein, rồi được dòng máu đưa đến các mô để thực hiện quá trình oxy hóa và tạo năng lượng (Hình 8.8).



Hình 8.8. Thoái hóa của triacyl glycerol

1.6. Thoái hóa glycerophospholipid

Nhiều enzym xúc tác sự thuỷ phân các liên kết este của các phospholipid (như lecithin, cephalin,...). Đó là những phospholipase có phổ biến ở các mô và mỗi enzym có tính đặc hiệu riêng (Hình 8.9).

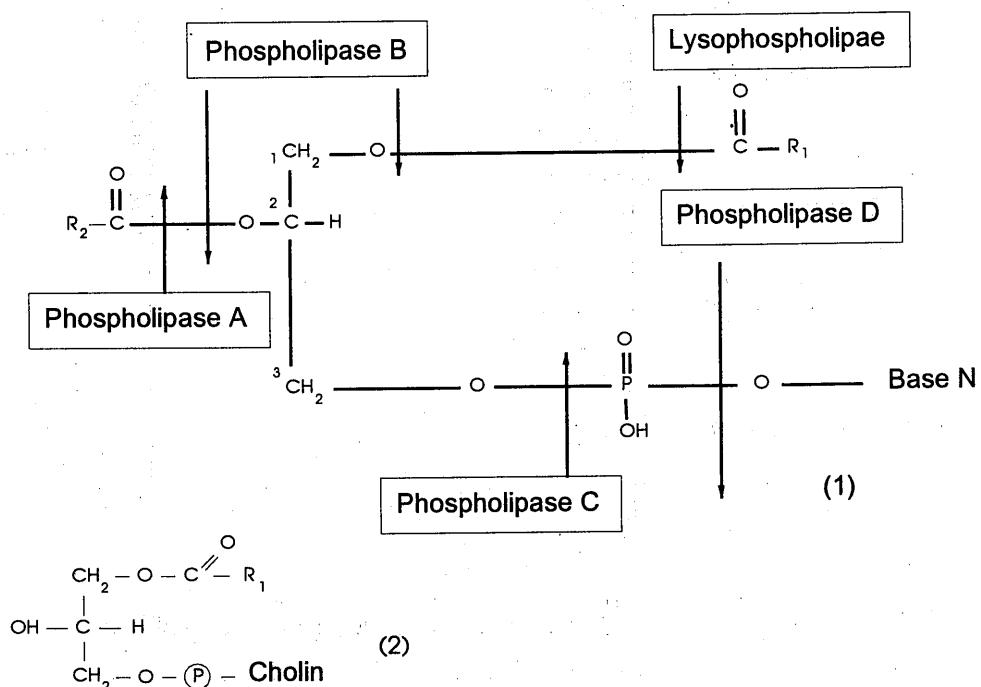
– *Phospholipase A*: xúc tác sự thuỷ phân liên kết este ở $\text{C}_2(\text{C}_\beta)$ của phospholipid, giải phóng 1 phân tử acid béo và tạo lysophospholipid. Enzym này thường có trong nọc rắn, nọc ong và dịch tụy.

– *Phospholipase B*: xúc tác sự thuỷ phân 2 liên kết este ở $\text{C}_1(\text{C}_\alpha)$ và $\text{C}_2(\text{C}_\beta)$ của phospholipid, giải phóng 2 phân tử acid béo và phần còn lại là glycerophosphat-base nitơ.

– *Lysophospholipase*: xúc tác sự thuỷ phân đặc hiệu liên kết este ở C₁ của lysophospholipid (lysophosphatidyl cholin hoặc lysophosphatidyl ethanolamin).

– *Phosphodiesterase*: đặc hiệu với liên kết phosphodiester, cắt một liên kết este của diestephosphat. *Phospholipase C* xúc tác sự thuỷ phân liên kết este giữa glycerol và acid phosphoric tạo base nitơ được phosphoryl hóa và diglycerid. *Phospholipase D* gặp ở các loài cây, xúc tác sự thuỷ phân liên kết este giữa acid phosphoric và base nitơ để tạo ra acid phosphatidic và base nitơ.

– *Phosphomonoesterase (phosphatase)*: xúc tác sự thuỷ phân tiếp sản phẩm thuỷ phân của *phosphodiesterase*, ví dụ: thuỷ phân phosphocholin để giải phóng cholin và acid phosphoric.



Hình 8.9. Sơ đồ mô tả tác dụng của các enzym phospholipase
 (1) Phospholipid (2) Lecithin

Trong thiên nhiên, các loại lysophospholipid thường gặp là lysophosphatidyl cholin (lysolecithin), lysophosphatidyl ethanolamin (lysocephalin). Đó là những chất tẩy và gây vỡ hồng cầu khá mạnh. Nọc rắn thường gây vỡ hồng cầu vì chứa nhiều loại *phospholipase A*. Trong gan và huyết tương có enzym *lecithin - cholesterol acyltransferase*, xúc tác sự vận chuyển gốc acyl ở C₂ của lecithin đến cholesterol để tạo cholesterol este hóa và lysolecithin.

2. TỔNG HỢP LIPID Ở TẾ BÀO

2.1. Sinh tổng hợp acid béo bão hòa có số carbon chẵn

Quá trình tổng hợp acid béo bão hòa từ acetylCoA xảy ra ở tất cả các mô nhưng đặc biệt rất mạnh trong gan, mô mỡ, ruột và tuyến vú của các loài động

vật cấp cao. Sự tổng hợp cũng như sự oxy hóa acid béo được xảy ra theo những con đường khác nhau với sự xúc tác bởi các hệ enzym khác nhau và ở các vị trí khác nhau trong tế bào. Acid béo được tổng hợp bởi những nguyên liệu từ lipid hoặc không phải lipid. Người ta biết ít nhất 3 quá trình tổng hợp acid béo: ở bào tương, trong ty thể và ở microsomes; trong đó sự tổng hợp acid béo ở bào tương đóng vai trò chủ yếu.

2.1.1. Tổng hợp acid béo ở bào tương tế bào

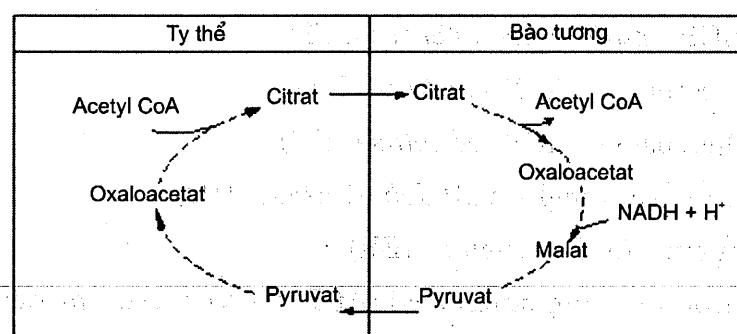
Nguyên liệu: là acetylCoA-được hình thành trong ty thể (do quá trình khử carboxyl oxy hóa pyruvat, oxy hóa một số acid amin, oxy hóa acid béo) và được vận chuyển ra bào tương theo hai cách:

+ Nhờ hệ thống vận chuyển tricarboxylat (1)

Trong ty thể: acetylCoA + oxaloacetat \rightarrow citrat + HSCoA

Bào tương: citrat + ATP + HSCoA \rightarrow oxaloacetat + ADP + Pi + acetylCoA

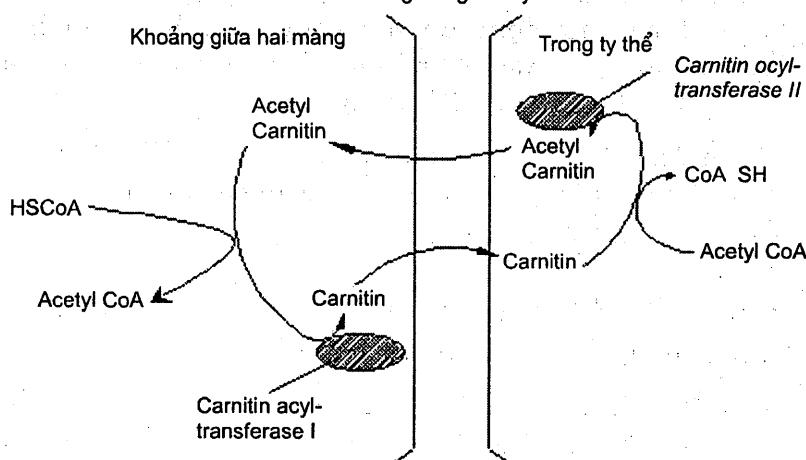
+ Nhờ chất vận chuyển carnitin (2)



(1)

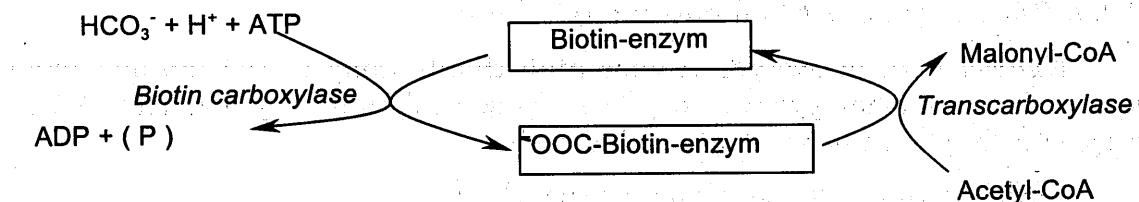
(2)

Màng trong của ty thể



Hình 8.10. Sự vận chuyển acetylCoA qua màng ty thể ra bào tương nhờ carnitin

Chất trung gian để tổng hợp acid béo là malonylCoA: chất này được hình thành nhờ enzym acetylCoA carboxylase xúc tác. Enzym này có 3 vùng chức năng: protein mang biotin, biotin carboxylase hoạt hóa CO₂ bằng cách gắn CO₂ với nguyên tử N của vòng biotin nhờ phản ứng phụ thuộc ATP và trans carboxylase làm nhiệm vụ vận chuyển CO₂ được hoạt hóa từ biotin đến acetyl CoA để tạo thành malonyl CoA. Quá trình trên có thể tóm tắt như sau:



Chu trình tổng hợp acid béo: gồm 6 phản ứng liên tiếp do 6 enzym của hệ thống tổng hợp acid béo xúc tác. Hệ thống này là phức hợp multienzym gọi là acid béo synthase, gồm 6 enzym và một protein không có hoạt tính enzym:

ACP - acyltransferase (AT)

ACP - malonyltransferase (MT)

β -cetoacyl - ACP synthase (KS)

β -cetoacyl - ACP reductase (KR)

β -hydroxyacyl - ACP dehydratase (HD)

enoyl - ACP reductase (ER)

protein mang nhóm acyl (ACP = acyl carrier protein)

Phức hợp multienzym có 2 nhóm -SH: -SH trung tâm (- SH thuộc ACP) và -SH ngoại vi (-SH của cystein trong phân tử KS).

+ Sự tạo thành acetyl ACP và malonyl ACP: sau bước này, phức hợp multienzym được khởi động để sẵn sàng thực hiện chuỗi phản ứng gắn hai mẩu acetyl với nhau, phức hợp mang nhóm acetyl este hóa với -SH ngoại vi và nhóm malonyl este hóa với -SH trung tâm.

+ Phản ứng ngưng tụ: dưới tác dụng của KS, nhóm acetyl được chuyển đến C₂ của nhóm malonyl và đồng thời khử carboxyl.

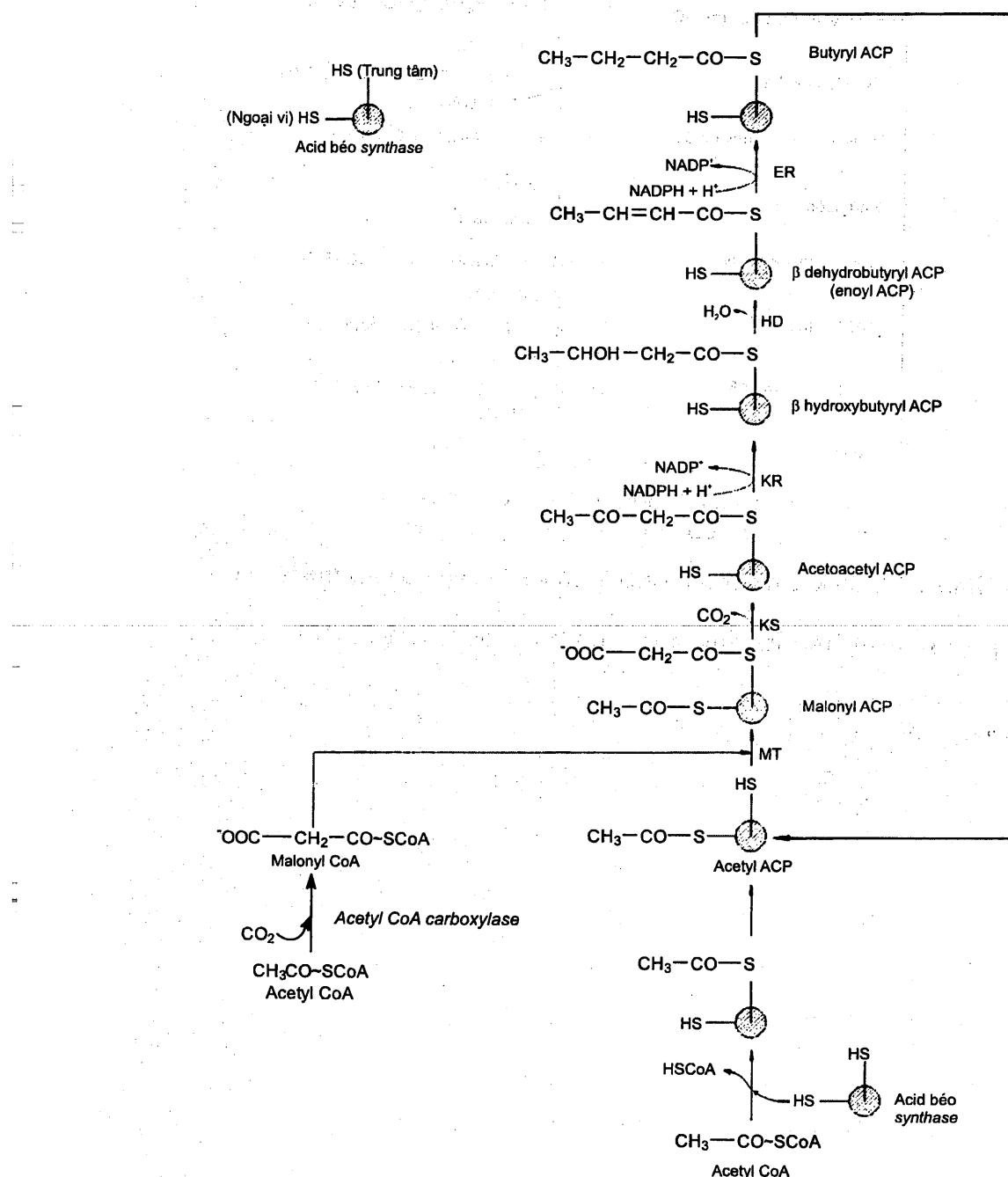
+ Phản ứng khử lần 1: xúc tác bởi KR

+ Phản ứng khử nước: xúc tác bởi HD

+ Phản ứng khử lần 2: xúc tác bởi ER

Sau 6 phản ứng, butyryl ACP được hình thành, nhóm butyryl được chuyển sang -SH của KS, tạo điều kiện cho -SH của ACP tiếp nhận nhóm malonyl mới từ malonylCoA để tiếp tục các phản ứng trên (Hình 8.11) cho đến khi palmitoyl ACP được tạo ra.

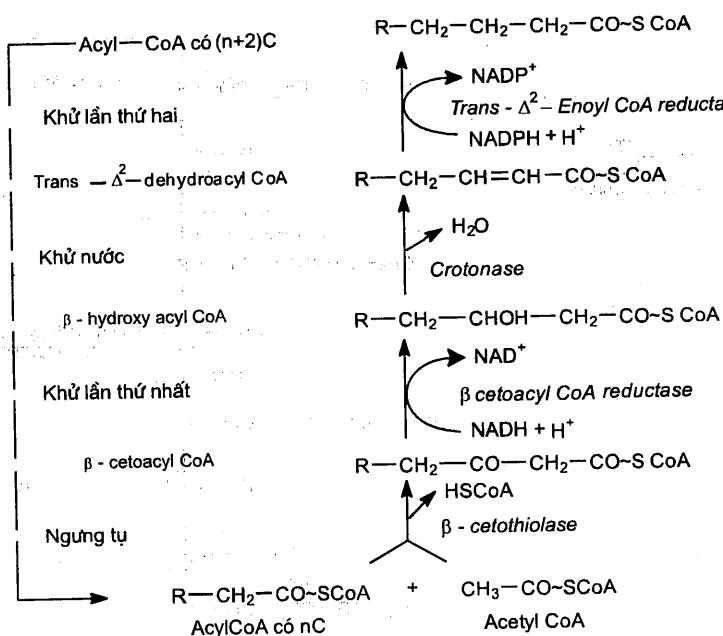
Gốc palmityl có thể được giải phóng, tạo acid palmitic tự do dưới tác dụng của thioesterase; hoặc có thể được chuyển sang phân tử coenzym A, tạo palmitylCoA. Với hầu hết cơ thể sống, sự tổng hợp acid béo ở bào tương sẽ dừng lại khi acid palmitic được tạo thành (có thể do tính đặc hiệu của KS với chiều dài gốc acyl mà nó tiếp nhận).



Hình 8.11. Sơ đồ quá trình tổng hợp acid béo ở bào tương với phức hợp multienzyme

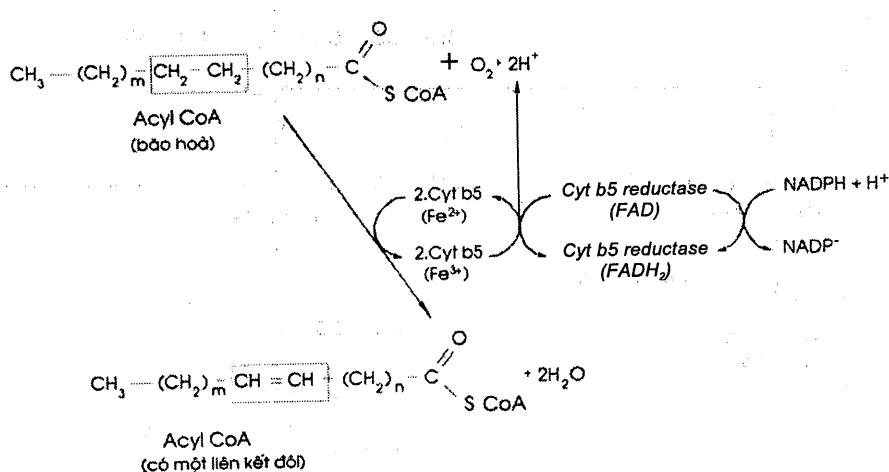
2.2. Tổng hợp acid béo ở ty thể tế bào

Là sự tổng hợp acid béo mạch dài mà chất tiền thân là acid palmitic. Cơ chế kéo dài chuỗi carbon của acid béo được thực hiện tương tự ngược với quá trình β -oxy hóa và chất vận chuyển gốc acyl là phân tử coenzym A (Hình 8.12).



Hình 8.12. Sự kéo dài mạch carbon của acid béo trong ty thể tế bào

2.3. Tổng hợp acid béo không bão hòa có một liên kết đôi

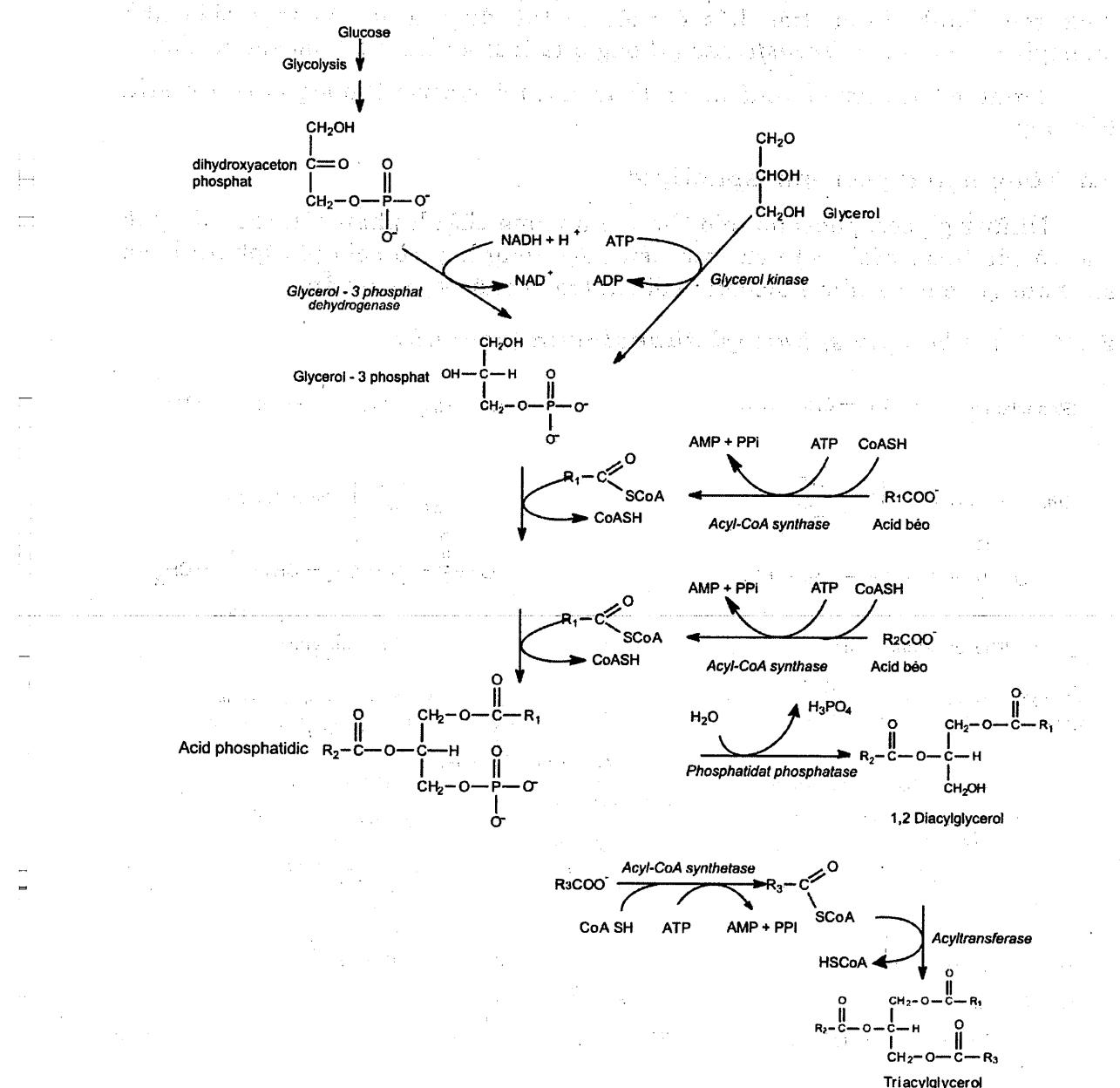


Hình 8.13. Con đường vận chuyển điện tử tạo acid béo không bão hòa có một liên kết đôi

Trong mô động vật, acid palmitic và acid stearic là tiền chất của 2 acid béo không bão hòa có một liên kết đôi phổ biến là acid palmitoleic, $16:1(\Delta^9)$ và acid oleic, $18:1(\Delta^9)$. Sự tổng hợp các acid béo này xảy ra ở hệ thống lưới nội bào

của gan và mô mỡ nhờ hệ *mono-oxygenase* đặc hiệu xúc tác. Một phân tử oxy tiếp nhận hai cặp điện tử, một cặp từ cơ chất acid béo bão hòa (acid palmitic hoặc acid stearic) và một cặp từ NADPH. Sự vận chuyển điện tử được thực hiện nhờ chuỗi vận chuyển điện tử của microsom (Hình 8.13).

2.4. Tổng hợp triglycerid (triacylglycerol)



Hình 8.14. Sự tổng hợp acid phosphatidic và triglycerid

Triglycerid được tổng hợp mạnh ở các tế bào của loài có xương sống (đặc biệt là tế bào gan và tế bào mỡ), cũng như trong các loài thực vật bậc cao. Hai tiền chất chủ yếu cần cho sự tổng hợp triglycerid là glycerol-3-phosphat và acylCoA.

Glycerol-3-phosphat được hình thành từ 2 con đường: (1) từ hydroxyaceton phosphat dưới tác dụng của *glycerol-3-phosphat dehydrogenase* trong bào tương, (2) từ glycerol tự do dưới tác dụng của *glycerokinase* có ở tế bào gan và tế bào thận.

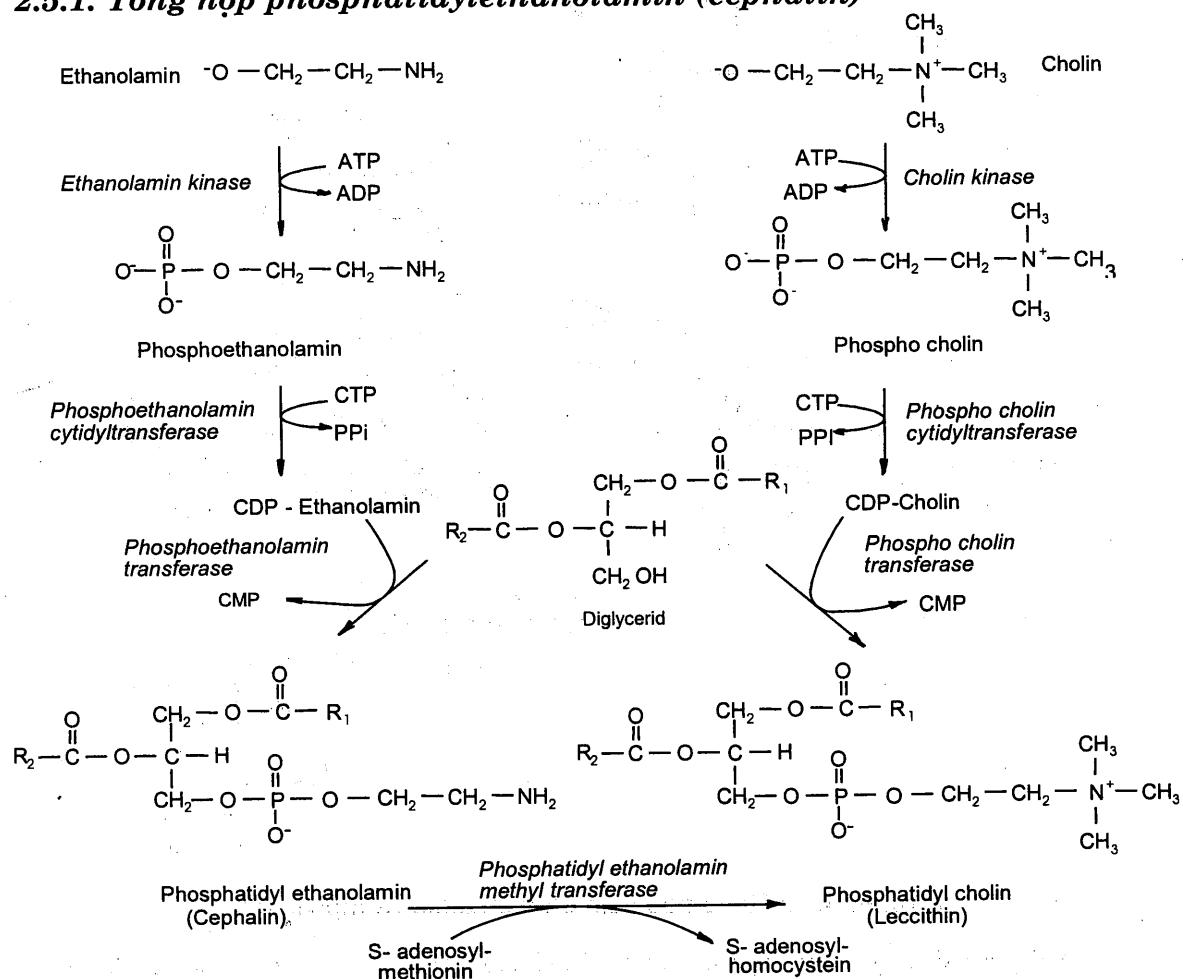
Trong niêm mạc ruột, tổng hợp triglycerid trong thời gian hấp thu acid béo từ lòng ruột xảy ra khá mạnh và trong quá trình này các monoglycerid được tạo thành do sự tiêu hóa ở ruột có thể được acyl hóa trực tiếp nhờ monoglycerid *palmityltransferase* (không qua trung gian acid phosphatidic).

Trong mô dự trữ của mô động, thực vật; triglycerid thường là triglycerid hỗn hợp.

2.5. Tổng hợp glycerophospholipid

Những glycerophospholipid tham gia trong thành phần cấu tạo màng tế bào và các lipoprotein vận chuyển đều được tổng hợp từ acid phosphatidic và sự tham gia của cytidin nucleotid với vai trò là chất vận chuyển.

2.5.1. Tổng hợp phosphatidylethanolamin (cephalin)



Hình 8.15. Sơ đồ tổng hợp lecithin và cephalin

Xảy ra ở các mô động vật. Enzym xúc tác của quá trình này thường gắn chặt vào màng của hệ thống lưới nội nguyên sinh chất (Hình 8.15).

2.5.2. Tổng hợp phosphatidylcholin (lecithin)

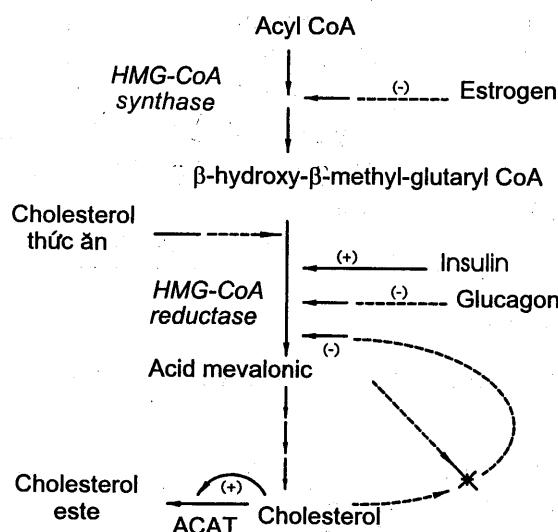
Trong mô động vật, lecithin được tổng hợp theo hai con đường khác nhau: (1) con đường methyl hóa trực tiếp nhóm amin của cephalin bởi nhóm methyl của S-adenosyl methionin (chất cho nhóm methyl), (2) con đường sử dụng cholin ngoại sinh (từ thức ăn) hoặc cholin được giải phóng trong quá trình thuỷ phân phosphatidyl cholin (Hình 8.15).

3. CHUYỂN HÓA CHOLESTEROL

Cholesterol là chất cần thiết của cơ thể, tham gia thành phần cấu tạo của màng tế bào và quá trình tổng hợp các hormon steroid. Cholesterol có hai nguồn: được đưa vào cơ thể từ thức ăn (ngoại sinh) và được tổng hợp bởi tế bào, chủ yếu là tế bào gan (nội sinh). Mỗi người ăn khoảng 300-500mg cholesterol/ngày, thức ăn giàu cholesterol gồm thịt, gan, não, lòng đỏ trứng. Cholesterol do nguồn gốc nội sinh khoảng 1g/ngày. Khoảng 50% lượng cholesterol được bài xuất qua phân dưới dạng acid mật, phần cholesterol còn lại được đào thải dưới dạng steroid trung tính.

3.1. Tổng hợp cholesterol

Cholesterol được tổng hợp chủ yếu ở gan, ruột. Ngoài ra, cholesterol được tổng hợp ở thượng thận, tinh hoàn, buồng trứng, da và hệ thần kinh. Quá trình tổng hợp cholesterol gồm 25 bước, chia làm 4 giai đoạn: (1) tổng hợp acid mevalonic từ acid acetic dưới dạng acetylCoA, (2) biến đổi acid mevalonic thành isopren hoạt hóa, (3) biến đổi 6 đơn vị isopren hoạt hóa thành squalen, (4) biến đổi squalen thành nhân steroid có 4 vòng.



Hình 8.17. Sơ đồ điều hòa sinh tổng hợp cholesterol ở tế bào gan

4. LIPOPROTEIN – DẠNG LIPID VẬN CHUYỂN

Lipid không tan trong nước. Lipid lưu hành trong máu và dịch sinh vật, bao gồm chủ yếu là cholesterol, triglycerid, phospholipid và một số acid béo tự do. Lipid liên kết với protein đặc hiệu-gọi là apoprotein (apo)-tạo nên các phân tử lipoprotein có khả năng hòa tan trong nước và là dạng vận chuyển của lipid trong máu tuần hoàn.

4.1. Cấu trúc của lipoprotein

Lipoprotein được Macheboeuf mô tả năm 1929. Ngoài thành phần protein, lipoprotein còn có các thành phần khác như phospholipid, triglycerid, sterid và cholesterol. Lipoprotein có dạng hình cầu, đường kính khoảng 100-500 Å. Các phân tử lipid và protein liên kết với nhau chủ yếu bởi liên kết Vander Waals. Theo mô hình của Shen (1977), phân tử lipoprotein gồm: apoprotein và phospholipid chiếm phần vỏ bên ngoài, phần trung tâm gồm triglycerid và cholesterol este, giữa 2 phần là cholesterol tự do (Hình 8.18). Phần vỏ có chiều dày khoảng 1 nm, phân cực và đảm bảo tính hòa tan của phân tử lipoprotein trong huyết tương. Các apoprotein khác nhau do cấu trúc của chuỗi peptid quyết định, ít nhất đã có 9 loại apoprotein khác nhau được tìm thấy trong các lipoprotein huyết tương người (Bảng 1). Phân protein của lipoprotein giữ vai trò quyết định chất nhận diện chúng ở màng tế bào hoặc hoạt hóa các enzym của chúng.

Bảng 8.1. Apoprotein của các lipoprotein huyết thanh người

Apoprotein	Trọng lượng phân tử	Lipoprotein chứa đựng	Chức năng
Apo A-I	28.331	HDL	Hoạt hóa LCAT
Apo A-II	17.380	HDL	
Apo A-IV	44.000	Chylomicron, HDL	
Apo B-48	240.000	Chylomicron	
Apo B-100	513.000	VLDL, LDL	Nối với receptor của LDL
Apo C-I	7.000	VLDL, HDL	
Apo C-II	8.837	Chylomicron, VLDL, HDL	Hoạt hóa <i>lipoproteinlipase</i>
Apo C-III	8.751	Chylomicron, VLDL, HDL	Ức chế <i>lipoproteinlipase</i>
Apo D	32.000	HDL	
Apo D	34.145	Chylomicron, VLDL, HDL	

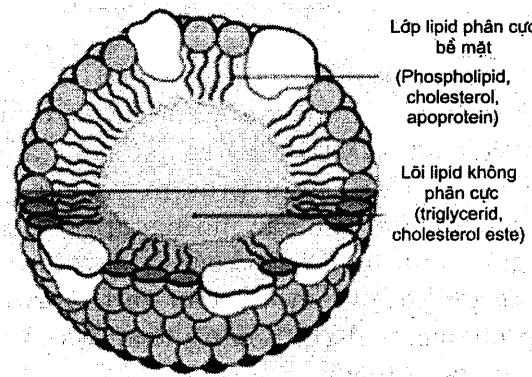
4.2. Phân loại lipoprotein

Với phương pháp siêu ly tâm phân tích, lipoprotein được chia thành các loại sau:

Chylomicron (CM): là lipoprotein có kích thước lớn nhất và hàm lượng triglycerid cao, apoprotein chủ yếu là apoB-48, apoE và apoC-II. CM được tổng hợp độc nhất ở lưỡi nội nguyên sinh của tế bào niêm mạc ruột, chỉ có mặt trong thời gian ngắn ở huyết tương sau bữa ăn giàu mỡ, là yếu tố làm cho

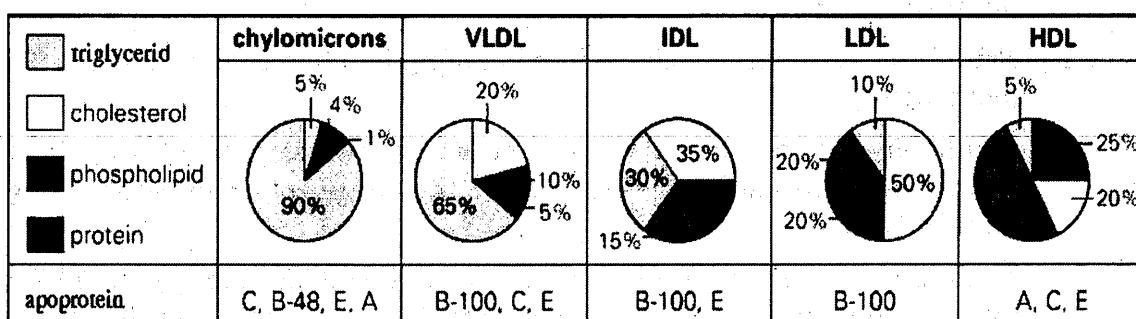
huyết tương có màu đục và trắng. CM sẽ biến mất sau vài giờ và huyết tương của người bình thường khi đổi phai trong.

Hình 8.18. Mô hình cấu trúc chung của lipoprotein



Chức năng của CM là vận chuyển triglycerid ngoại sinh (thức ăn) từ ruột tới gan. ApoC-II hoạt hóa *lipoprotein lipase* trong mao mạch của mô mỡ, tim, cơ xương... để giải phóng acid béo tự do cho các mô này. Phần CM còn lại chứa cholesterol, apoE và apoB-48 (CM tàn dư); tiếp tục vào máu đến gan – tại đây chúng được thoái hóa trong lysosom.

Bảng 8.2. Các loại lipoprotein trong huyết tương người



Lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL – very low density lipoprotein): được tạo thành ở tế bào gan, là dạng vận chuyển triglycerid nội sinh vào hệ tuần hoàn. Apo của VLDL bao gồm apoB-100, apoC-I, apoC-II, apoC-III và apoE. VLDL được vận chuyển từ gan đến mô mỡ và tại đây, enzym *lipoprotein lipase* được hoạt hóa nhờ apoC-II sẽ xúc tác sự thuỷ phân triglycerid, giải phóng acid béo. VLDL còn lại (VLDL tàn dư) tiếp tục được thoái hóa trong lysosom.

Lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL - low density lipoprotein): là sản phẩm thoái hóa của VLDL trong máu tuần hoàn, rất giàu cholesterol và cholesterol este. ApoB-100 là apo chính của LDL. Chức năng chủ yếu của LDL là vận chuyển cholesterol cho các mô. LDL được gắn với receptor đặc hiệu ở màng tế bào, sau đó chúng được đưa vào trong tế bào. Cholesterol trong LDL được coi là cholesterol “xấu” vì nó tham gia vào sự phát triển các mảng vữa xơ động mạch ở thành của động mạch.

Lipoprotein tỷ trọng trung gian (IDL – intermediate density lipoprotein): có tỷ trọng giữa VLDL và LDL. VLDL sau khi giải phóng triglycerid, nhận thêm cholesterol este và mất đi apoC sẽ chuyển thành IDL và chất này nhanh chóng thoái hóa thành LDL.

Lipoprotein tỷ trọng cao (HDL – high density lipoprotein): tạo thành ở gan và ruột non; được giải phóng dưới dạng HDL mới sinh hình đĩa, rồi chuyển thành HDL-3 → HDL-2 nhờ sự xúc tác của LCAT (*lecithin cholesterol acyl transferase*). HDL giàu protein và apo chính của HDL là apoA-I. HDL vận chuyển cholesterol ở các mô ngoại vi về gan (vận chuyển cholesterol “trở về”) và ở gan, chúng được thoái hóa thành acid mật. Cholesterol của HDL là cholesterol “tốt” vì chúng bảo vệ thành mạch, không gây vữa xơ động mạch. Lượng cholesterol-HDL càng thấp (<0,3 g/L) có nguy cơ bị vữa xơ động mạch càng cao và ngược lại.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày sự thoái hóa của acid béo bão hoà có số carbon chẵn (giai đoạn hoạt hóa và vận chuyển acid béo vào ty thể, giai đoạn β-oxy hóa acid béo). Tính năng lượng tạo thành khi thoái hóa hoàn toàn một phân tử acid palmitic.
2. Trình bày sự thoái hóa của acid béo không bão hoà có một liên kết đôi (acid oleic).
3. Trình bày sự tạo thành các thể ceton và sự oxy hóa tiếp tục của chúng trong tế bào? Ý nghĩa của sự tạo thành các thể ceton trong chuyển hóa.
4. Trình bày quá trình tổng hợp acid béo bão hoà ở bào tương của tế bào: nguyên liệu, enzym xúc tác và các phản ứng, sản phẩm tạo thành.
5. Trình bày quá trình tổng hợp acid béo bão hoà ở ty thể tế bào.
6. Trình bày sự liên quan giữa quá trình tổng hợp acid béo bão hoà ở bào tương và ở ty thể tế bào.
7. Trình bày sự thoái hóa triglycerid ở tế bào.
8. Trình bày quá trình tổng hợp triglycerid ở tế bào.
9. Trình bày sự thoái hóa lecithin ở tế bào.
10. Trình bày sự tổng hợp lecithin ở tế bào.
11. Định nghĩa và phân loại lipoprotein huyết tương? Nêu đặc điểm sinh học và những chức năng chính của từng loại lipoprotein huyết tương.

Chương 9

CHUYỂN HÓA ACID AMIN

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được quá trình khử amin oxy hóa và quá trình trao đổi amin của các acid amin. Liên quan giữa sự trao đổi amin và sự khử amin oxy hóa.*
2. *Trình bày được quá trình tạo ure, sự liên quan giữa chu trình ure và chu trình acid citric.*
3. *Trình bày được sự tổng hợp creatin và sự tổng hợp glutathion, vai trò của chúng trong cơ thể.*
4. *Trình bày được thế nào là bệnh lý acid amin.*

Protein là polyme của các acid amin, được tạo ra bởi cơ thể sống và là đặc tính của sự sống. Tất cả các acid amin có thể được tổng hợp bởi những cơ thể sống. Nhưng ở một số động vật bậc cao không tổng hợp được một số acid amin mà phải cung cấp từ thức ăn. Những acid amin này gọi là acid amin cần thiết. Đối với người đó là 8 acid amin: Val, Leu, Ile, Phe, Thr, Trp, Met, Lys. Mặc dù các acid amin cần cho sự tổng hợp protein và một số phân tử khác nhưng không được dự trữ. Những acid amin dư thừa sẽ thoái hóa. Sự thoái hóa acid amin bằng cách tách nhóm amin tạo ra khung carbon. Khung carbon được biến đổi thành acetyl-CoA, aceto-acetyl-CoA, pyruvat hoặc một trong những chất chuyển hóa trung gian của chu trình acid citric. Phần lớn nhóm amin của các acid amin thừa được biến đổi trong chu trình ure.

Những rối loạn chuyển hóa acid amin làm tăng lượng acid amin trong máu và tăng đào thải acid amin ra nước tiểu được coi là các bệnh lý acid amin.

1. SỰ THUỶ PHÂN PROTEIN THÀNH ACID AMIN

1.1. Sự thuỷ phân protein ngoại sinh (sự tiêu hóa protein)

Protein từ thức ăn, quá trình tiêu hóa bắt đầu ở dạ dày. Dạ dày bài tiết HCl và pepsin. Ở dạ dày, pH từ 1 đến 2 cấu trúc bậc 2, bậc 3, bậc 4 của protein bị phá vỡ, protein bị phân giải. Pepsin được bài tiết dưới dạng tiền chất không hoạt động là pepsinogen. Pepsinogen được hoạt hóa bởi HCl thành pepsin hoạt động. Pepsin

thuỷ phân đặc hiệu liên kết của acid amin nhân thơm hoặc liên kết của acid amin acid tạo ra các peptid ngắn hơn. Các peptid này xuống ruột non.

Ở ruột non pH kiềm, pepsin bị bất hoạt. Tuy bài tiết các proenzym (Zymogen) như trypsinogen, chymotrypsinogen, proelastase, *procarboxypeptidase* đổ vào ruột non và được biến đổi thành dạng hoạt động. Trypsinogen được hoạt hóa bởi *enterokinase* của ruột non thành trypsin. Trypsin trở lại hoạt hóa trypsinogen, proelastase, chymotrypsinogen, procarboxypeptidase thành các enzym hoạt động tương ứng. Trypsin thuỷ phân liên kết peptid của các acid amin kiềm. Chymotrypsin thuỷ phân liên kết peptid giữa các acid amin trung tính. Elastase thuỷ phân liên kết peptid của các acid amin nhỏ như Gly, Ala, Ser. *Carboxypeptidase* thuỷ phân liên kết peptid của các acid amin C tận giải phóng acid amin tự do. Ruột non bài tiết *aminopeptidase* thuỷ phân liên kết peptid của acid amin N tận giải phóng acid amin tự do. Các acid amin được hấp thu qua thành ruột theo cơ chế vận chuyển tích cực cần năng lượng.

1.2. Sự thuỷ phân protein nội sinh

Các protein nội sinh cũng thoái hóa và tổng hợp mới với một lượng hằng định ở người trưởng thành. Quá trình này gọi là sự đổi mới protein. Lượng protein đổi mới chiếm khoảng 1-2% protein toàn phần hàng ngày. Tỷ lệ protein đổi mới nhiều hơn ở trẻ em trong thời kỳ phát triển nhanh. Phần lớn các protein này đổi mới trong tế bào nơi chúng tồn tại. Các protein huyết tương kết hợp với các receptor đặc hiệu trên các tế bào gan và được thoái hóa. Sự thoái hóa xảy ra ở lysosom nhờ ubiquitin phụ thuộc ATP. Những protease tiêu hóa protein như: pepsin, trypsin, chymotrypsin, elastase thuỷ phân protein trong khẩu phần ăn không có vai trò trong sự đổi mới protein trong cơ thể. Ubiquitin (UB) là một protein có 76 acid amin. Sự xuất hiện ubiquitin đồng nghĩa với sự thoái hóa protein nội bào. Những protein bị tổn thương hoặc đột biến cũng nhanh chóng thoái hóa qua con đường ubiquitin. Ubiquitin không tìm thấy trong tế bào nhân xơ. Sự đổi mới protein là sự thoái hóa protein thành peptid hoặc acid amin. Phần lớn acid amin tạo ra được sử dụng để tổng hợp protein mới, một số thoái hóa thành sản phẩm để đào thải và bài tiết. Sự thoái hóa protein phụ thuộc ubiquitin và ATP qua bốn bước:

- Bước 1: ubiquitin được hoạt hóa bởi enzym E1 cần ATP để tạo liên kết thioeste thành phức hợp UB-CO-S E1.
- Bước 2: enzym E2 tạo liên kết thioeste với ubiquitin và giải phóng E1
- Bước 3: enzym E3 xúc tác vận chuyển protein tới ubiquitin tạo thành phức hợp ubiquitin- protein.
- Bước 4: ubiquitin - protein được thoái hóa bởi phức hợp protease phụ thuộc ATP thành peptid và ubiquitin được giải phóng có thể trở lại bước 1.

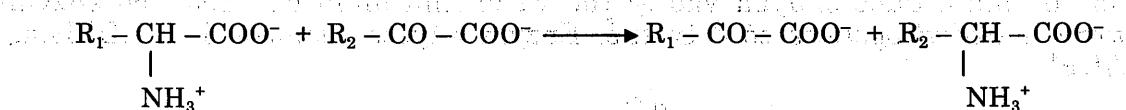
2. SỰ THOÁI HÓA ACID AMIN

2.1. Sự thoái hóa chung của acid amin

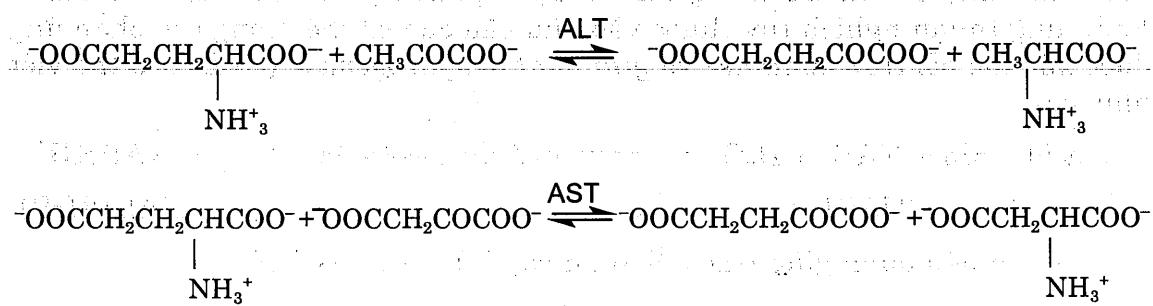
2.1.1. Chuyển hóa của nhóm amin trong acid amin

2.1.1.1. Quá trình trao đổi amin

Phần lớn các acid amin loại nhóm α amin bằng cách vận chuyển nhóm α -amin đến C_α của acid α -cetonic. Acid amin trở thành acid α -cetonic tương ứng còn acid α -cetonic nhận nhóm amin trở thành acid amin mới. Quá trình này gọi là phản ứng trao đổi amin. Xúc tác phản ứng trao đổi amin là các enzym *transaminase*. Phản ứng tổng quát có thể viết:



Hầu hết các acid amin chuyển nhóm amin sang chất nhận là α -cetoglutarat. Enzym xúc tác cho phản ứng này là enzym trao đổi amin *transaminase*. Các enzym này có phổ biến ở các mô và có hoạt tính xúc tác cao như: AST (*aspartate transaminase*), ALT (*alanine transaminase*). Hai enzym này xúc tác cho sự vận chuyển nhóm amin của Asp, Ala sang chất nhận là α -cetoglutarat thành glutamat. Các enzym *transaminase* có ở cả ty thể và bào tương có coenzym là pyridoxalphosphat.



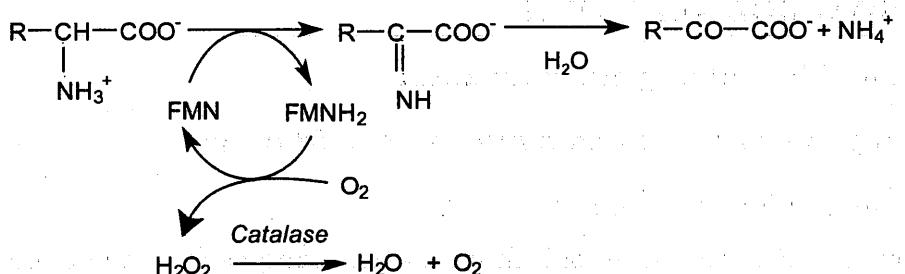
Hai enzym là AST, ALT thường được xét nghiệm đo hoạt độ trong huyết thanh giúp cho chẩn đoán, tiên lượng các bệnh về cơ tim và bệnh về gan.

Kết quả của quá trình trao đổi amin, nhóm amin của nhiều acid amin được vận chuyển đến α -cetoglutarat tạo ra glutamat.

2.1.1.2. Quá trình khử amin oxy hóa

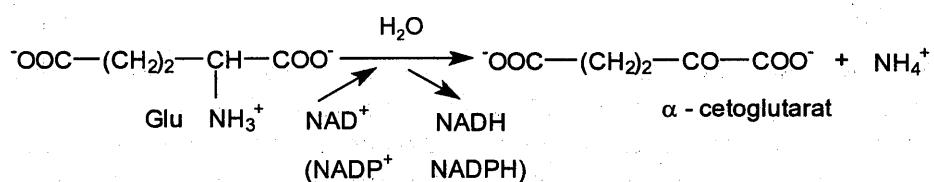
+ Khử amin oxy hóa các acid amin thông thường

Quá trình khử amin oxy hóa gồm hai giai đoạn: Oxy hóa acid amin tạo ra *acid α -Imin* thuỷ phân tự phát acid Imin tạo ra acid α -cetonic và NH_4^+ . Quá trình này xảy ra ở bào tương, xúc tác cho phản ứng là các *L* acid amin oxidase có coenzym là FMN. Phản ứng có thể viết như sau:

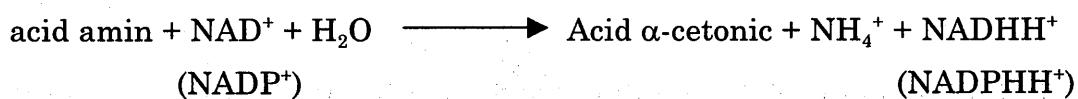


Các L acid amin *oxidase* có ở lưới nội bào gan thận, hoạt tính thấp nên không có vai trò quan trọng trong phản ứng khử amin oxy hóa.

+ Khử amin oxy hóa glutamat: glutamat tạo ra chủ yếu trong quá trình trao đổi amin, được chuyển vào ty thể và bị khử amin oxy hóa nhờ enzym *glutamat dehydrogenase* có ở ty thể. Enzym này có coenzym là NAD⁺ hoặc NADP⁺

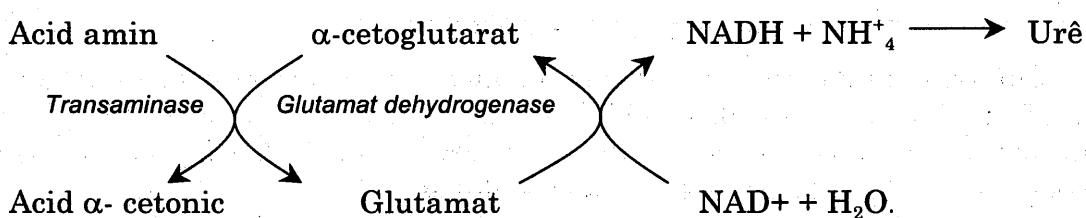


Enzym glutamat dehydrogenase có hoạt tính xúc tác mạnh, nên trong hầu hết các sinh vật glutamat được khử amin oxy hóa với tốc độ cao. Vì vậy quá trình này có vai trò trung tâm trong việc khử amin của các acid amin. Phản ứng thuận nghịch tuỳ thuộc vào nhu cầu của cơ thể. Tổng các phản ứng được xúc tác bởi *transaminase* và *glutamat dehydrogenase* (GLDH) có thể viết như sau:



- Sự liên quan giữa trao đổi amin và khử amin oxy hóa.

Các acid amin thông thường đã khử amin oxy hóa gián tiếp qua glutamat vì nhóm amin của hầu hết acid amin tập trung tạo ra glutamat trong quá trình trao đổi amin do hoạt tính của enzym glutamat *aminotransferase* cao. Hoạt tính của *glutamat dehydrogenase* cũng rất mạnh nên glutamat được khử amin oxy hóa với tốc độ cao và có lợi về mặt năng lượng. Hơn nữa các enzym L acid amin *oxidase* xúc tác cho quá trình khử amin oxy hóa các acid amin thông thường hoạt động yếu và quá trình này sinh ra chất độc là H₂O₂.

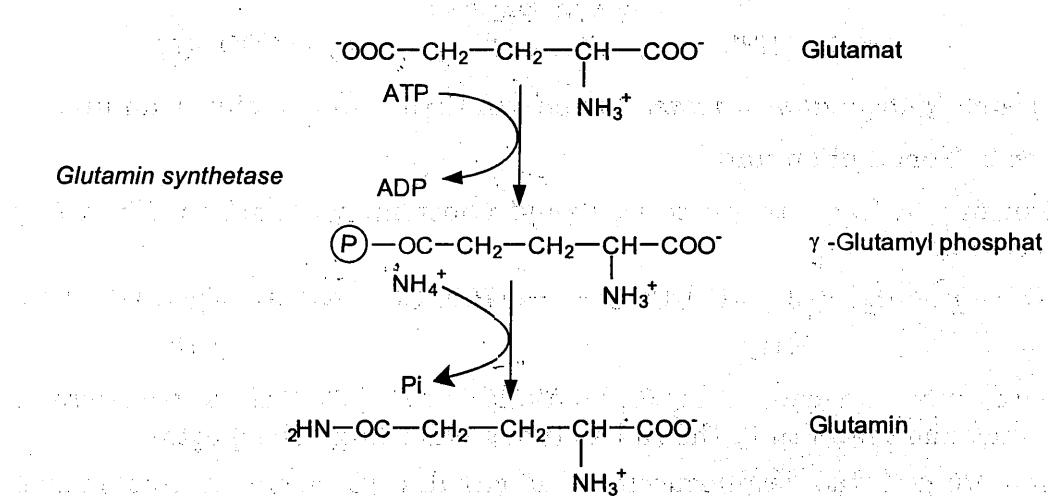


- Số phận của NH_4^+

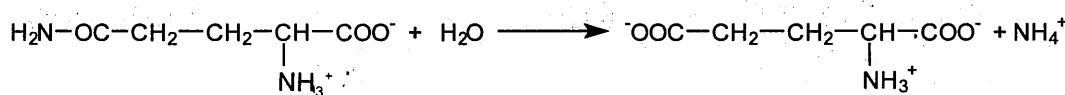
NH_4^+ được sinh ra ở hầu hết các mô và là chất độc đối với cơ thể. Khi NH_4^+ tăng cao có biểu hiện nhiễm độc, thể hiện trạng thái hôn mê cấp tính do thay đổi pH của tế bào, làm cạn kiệt cơ chất của chu trình acid citric. Vì là chất độc đối với tế bào và mô, nên NH_4^+ phải được biến đổi thành chất không độc trước khi được đưa vào máu để tới gan hoặc thận. NH_4^+ được gắn vào glutamat để tạo ra glutamin nhờ enzym *glutamin synthetase*. Phản ứng qua hai bước:

Bước 1: Tạo hợp chất trung gian *gamma glutamyl phosphat*.

Bước 2: Tạo ra Glutamin.



Glutamin không độc, trung tính nên dễ dàng qua màng tế bào. Glutamin từ các mô vào máu tuần hoàn rồi đến gan và thận, nhờ enzym *glutaminase* ở ty thể thuỷ phân glutamin thành glutamat và NH_4^+ . Phản ứng xảy ra như sau:



+ Ở thận sự thuỷ phân glutamin tạo NH_4^+ cung cấp cho nước tiểu. Sự đào thải NH_4^+ ở thận góp phần điều hoà thăng bằng acid base của cơ thể. Nếu lượng H^+ trong nước tiểu cao, quá trình thuỷ phân glutamin ở thận xảy ra mạnh.

+ Ở gan: NH_4^+ được biến đổi thành ure rồi đào thải qua thận ra nước tiểu.

(*) Quá trình tổng hợp ure.

Sự tổng hợp ure xảy ra trong tế bào gan, NH_4^+ được biến đổi thành ure qua chu trình ure. Nguyên liệu để tổng hợp ure gồm có:

- Một phân tử N lấy từ NH_4^+ tự do.
- Một phân tử N lấy từ aspartat

- Một phân tử C lấy từ CO_2 dưới dạng HCO_3^-
- Ba phân tử ATP.
- Một phân tử ornitin làm mồi
- Năm enzym.

Quá trình tổng hợp ure qua 2 bước:

Bước 1: Tổng hợp carbamyl phosphat.

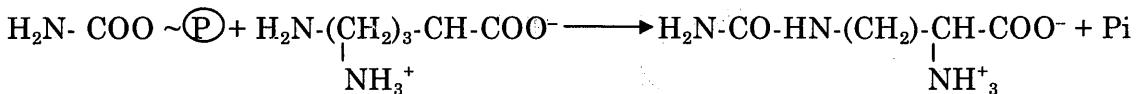
Phản ứng xảy ra ở ty thể tế bào gan, từ nguyên liệu là HCO_3^- và NH_4^+ nhờ enzym *carbamylphosphat synthetase I* có ở ty thể:



Carbamylphosphat synthetase I là enzym then chốt của chu trình ure.

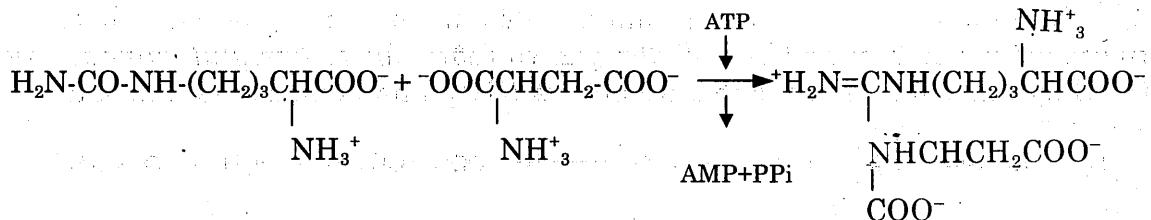
Bước 2: Gồm 4 phản ứng.

Phản ứng 1: Tạo citrulin từ carbamyl phosphat và ornithin. Phản ứng xảy ra ở ty thể.

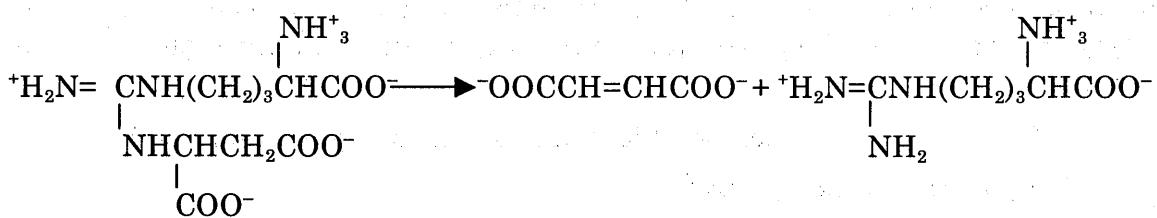


Enzym xúc tác cho phản ứng này là *ornitin carbamyl transferase*. Citrulin được tạo thành từ ty thể ra bào tương phản ứng với aspartat.

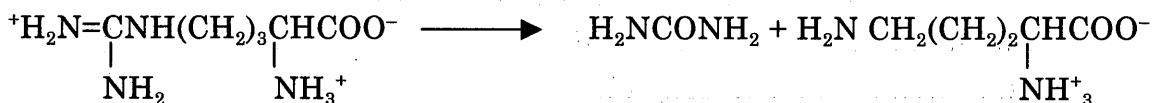
Phản ứng 2: tạo arginosuccinat từ citrulin và aspartat nhờ enzym *arginosuccinat synthetase*:



Phản ứng 3: tạo arginin và fumarat từ arginosuccinat, enzym xúc tác cho phản ứng là *arginosuccinat lyase*:

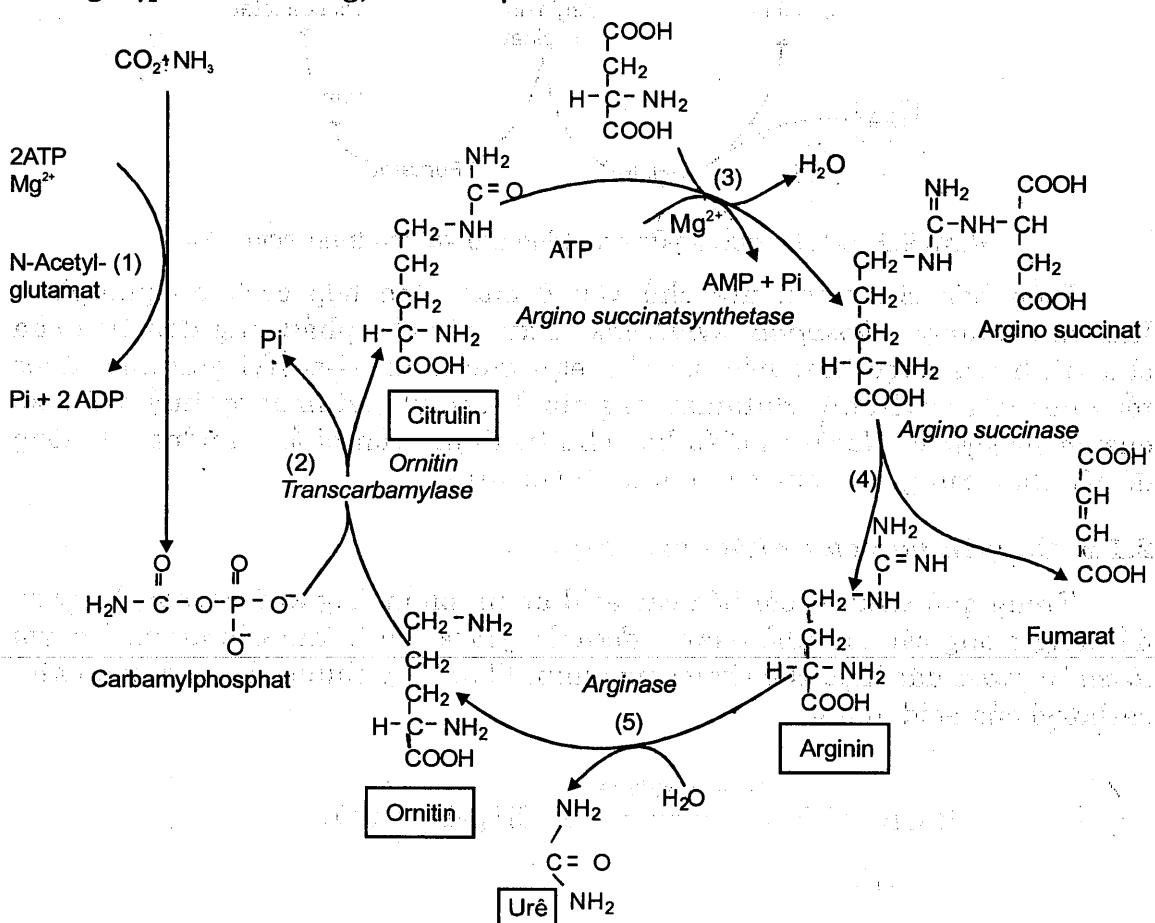


Phản ứng 4: tạo ure và ornitin từ arginin nhờ enzym là *arginase*.



Arginase là protein có 4 tiểu đơn vị, cần ion Mn^{2+} cho hoạt động xúc tác. Enzym thấy ở não, thận và một số cơ quan khác. Ornitin tạo thành được vận chuyển vào ty thể và phản ứng với carbamyl phosphat, bắt đầu một chu trình mới.

Ure hình thành ở gan vào máu, tới thận để đào thải. Bình thường lượng ure trong máu từ 0,2 đến 0,4g/L (3,5- 7mmol/L), trong nước tiểu từ 15-20g/24h. Lượng ure thay đổi phụ thuộc vào khẩu phần ăn giàu protein. Việc xét nghiệm ure máu có ý nghĩa cho việc chẩn đoán bệnh thận, bệnh gan, các trường hợp nhiễm trùng, nhiễm độc.



Hình 9.1. Chu trình Ure

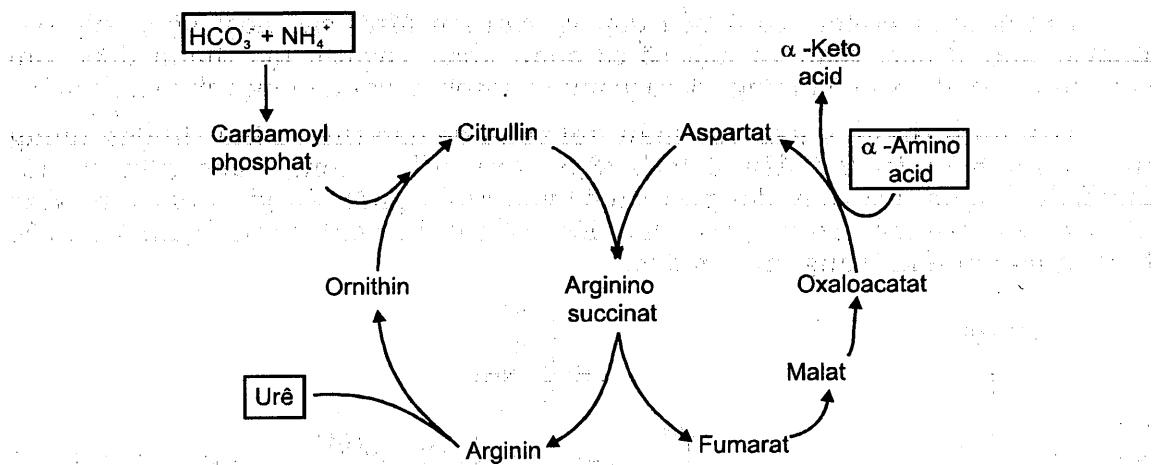
Năng lượng sử dụng trong việc tổng hợp ure là:



Sự bài tiết nitơ dưới dạng ure từ NH_4^+ tiêu tốn khoảng 15% năng lượng của thoái hóa acid amin.

- Liên quan giữa chu trình ure và chu trình acid citric:

Chu trình ure cung cấp fumarat cho chu trình citric. Oxaloacetat trong chu trình acid citric tham gia phản ứng trao đổi amin với acid amin đặc biệt glutamat tạo thành aspartat và α -cetoglutarat. Aspartat phản ứng với citrulin của chu trình ure tạo ra arginosuccinat.

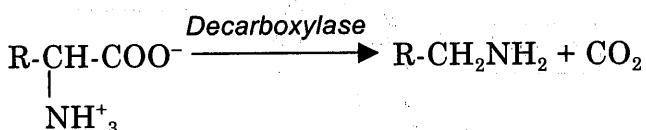


Hình 9.2. Sự liên quan giữa chu trình ure và chu trình acid citric

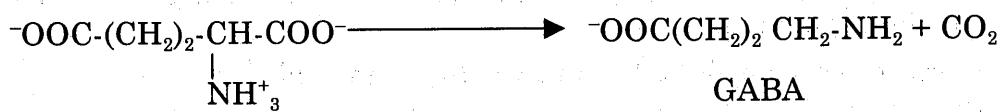
Điều hoà chu trình ure chủ yếu ở mức tổng hợp carbamylphosphat. Enzym carbamyl phosphat synthetase I xúc tác cho phản ứng đầu tiên của chu trình ure được hoạt hóa bởi N-acetyl glutamat. N-acetyl glutamat được tổng hợp từ acetyl-CoA, glutamat, arginin. N-acetyl glutamat bị thuỷ phân bởi enzym deacylase. Ngoài ra điều hoà chu trình ure còn bị ảnh hưởng bởi nồng độ các chất trung gian của chu trình như ornitin.

2.1.2. Chuyển hóa của nhóm carboxyl

Trong quá trình thoái hóa các acid amin, phản ứng khử carboxyl xảy ra dễ dàng trong các mô nhờ enzym decarboxylase tạo thành các amin. Enzym decarboxylase đặc hiệu cho từng acid amin. Phản ứng chung cho quá trình khử carboxyl của acid amin:



Một số acid amin khử carboxyl tạo thành amin có hoạt tính sinh học. Khử carboxyl của glutamat tạo thành γ -amino butyric acid (GABA) là chất ức chế dẫn truyền thần kinh. Chất này có nhiều trong thần kinh trung ương đặc biệt trong não. Sự khử carboxyl của histidin tạo thành histamin là chất dẫn truyền thần kinh. Histamin có ở nhiều mô khác nhau. Phản ứng khử carboxyl của glutamat:



Khi hết tác dụng các amin tiếp tục khử amin oxy hóa nhờ các enzym: mono amino oxidase (MAO) hoặc diamino oxidase tạo thành aldehyd, rồi thành acid tương ứng.

Phản ứng tổng quát:



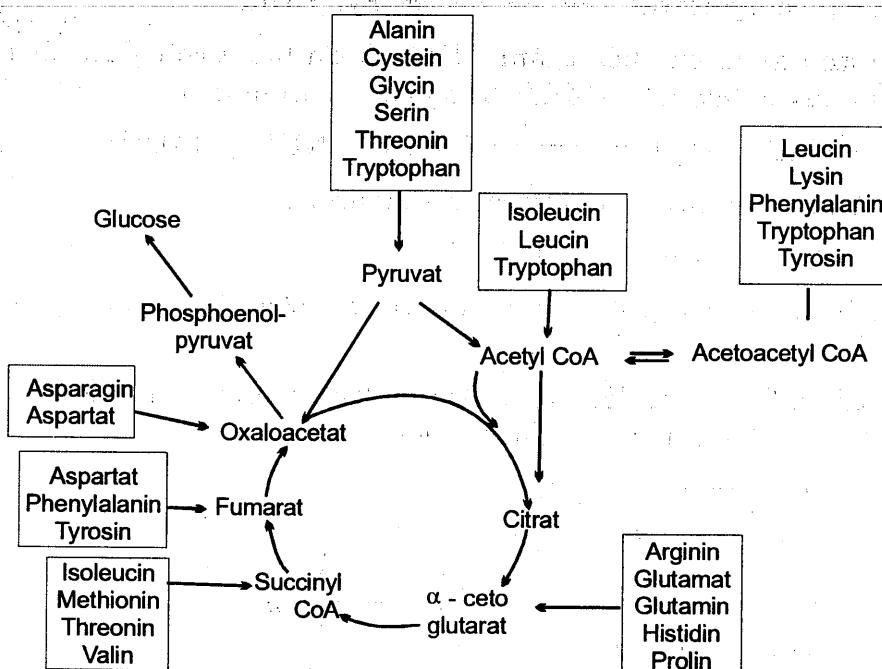
Acid carboxylic tiếp tục thoái hóa đến CO_2 và H_2O (xem phần thoái hóa acid béo)

2.1.3. Chuyển hóa của khung carbon

Sau khi mất nhóm amin, các acid amin thành các sản phẩm như pyruvat, oxaloacetat, α -cetoglutarat hoặc biến đổi thành acetyl CoA, succinyl-CoA. Các sản phẩm này có thể đi vào chu trình acid citric hoặc tổng hợp nên glucose hoặc tổng hợp nên thể cetonic.

- Có 6 acid amin tạo ra pyruvat là: Gly, Ala, Cys, Ser, Thr, Trp
- Có 2 acid amin tạo ra oxaloacetat: Asp, Asn.
- Có 5 acid amin tạo ra α -cetoglutarat: Glu, Gln, Arg, His, Pro.
- Có 4 acid amin biến đổi thành Succinyl CoA: Val, Ile, Thr, Met.
- Có 5 acid amin biến đổi thành acetyl CoA và acetoacetyl CoA: Leu, Lys, Trp, Tyr, Phe.

Các sản phẩm chuyển hóa trung gian đi vào chuyển hóa trong chu trình acid citric hoặc tổng hợp glucose hoặc tổng hợp thể cetonic.



Hình 9.3. Số phận khung carbon của các acid amin

- Thoái hóa trong chu trình acid citric

Tất cả các sản phẩm trên của sự thoái hóa acid amin đều có thể đi vào chu trình acid citric và tiếp tục thoái hóa hoàn toàn đến CO_2 và H_2O .

- Tổng hợp nên glucose- các acid amin sinh đường.

Ở những bệnh nhân đái đường tuy, khi đưa một số acid amin vào cơ thể thấy tăng đào thải glucose ra nước tiểu gọi là các acid amin sinh đường. Đó là 14 acid amin: Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Arg, His, Pro, Glu, Gln, Met, Val, Asp, Asn.

- Tổng hợp thể cetonic- acid amin sinh cetonic.

Trên thực nghiệm một số acid amin làm tăng bài xuất thể cetonic ra nước tiểu nên gọi là các acid amin tạo cetonic. Những acid amin khi thoái khung carbon tạo ra aceto acetyl CoA và acetyl CoA đều có thể tạo ra thể cetonic. Thực tế khung carbon của một số acid amin thoái hóa vừa tạo ra đường vừa tạo ra cetonic như: Phe, Tyr, Trp, Ile, Lys.

2.2. Sự thoái hóa riêng biệt của các acid amin

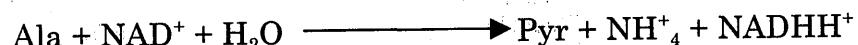
Các acid amin có thể thoái hóa riêng biệt tạo thành các sản phẩm như: oxaloacetat, Sucinyl-CoA, Acetyl-CoA hoặc tạo thành α -cetoglutarat

2.2.1. Họ những acid amin có 3 carbon biến đổi thành pyruvat: Ala, Ser, Cys

Các acid amin có 3C biến đổi thành Pyr, từ Pyr đi vào những đường chuyển hóa chính:



Glu khử amin oxy hóa thành NH_4^+ và tái tạo α -cetoglutarat nhờ enzym glutamat dehydrogenase (GLDH). Tổng của phản ứng là:

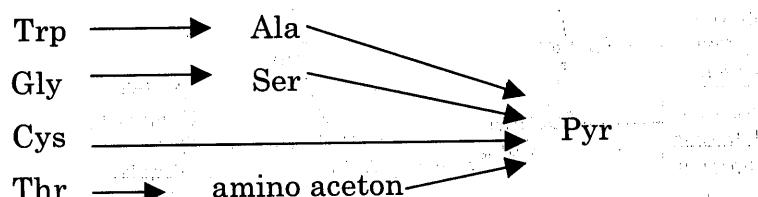


Ser loại amin nhờ serin hydratase thành Pyr.



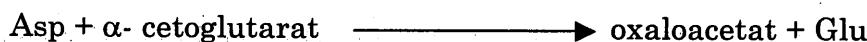
Cys biến đổi thành Pyr với sự tạo ra một số chất có lưu huỳnh như H_2S , SO_3^{2-} , SCN^- .

Ngoài ra Trp biến đổi thành Ala và Thr thành amino aceton rồi thành Pyr. Sơ đồ biến đổi thành Pyr của các acid amin:



2.2.2. Họ những acid amin có 4C biến đổi thành oxaloacetat: Asp, Asn

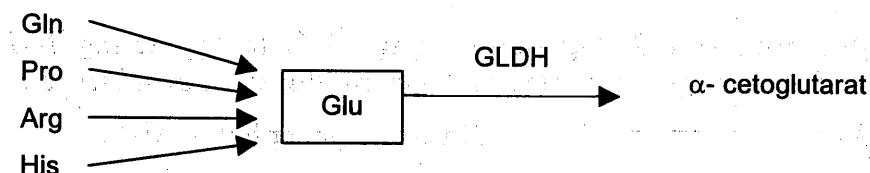
Asp trao đổi amin với α -cetoglutarat thành glutamat, rồi Glu khử amin oxy hóa như phản ứng trên.



Còn Asn bị thuỷ phân bởi *asparaginase* thành NH_4^+ và Asp, rồi Asp trao đổi amin như phản ứng trên. Hoặc Asp có thể biến đổi thành fumarat qua chu trình ure.

2.2.3. Họ những acid amin có 5C biến đổi thành α -cetoglutarat qua glutamat

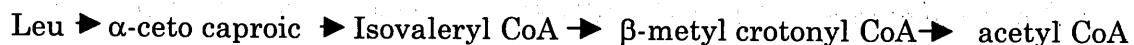
Những acid amin trước hết biến đổi thành glu, rồi glu khử amin oxy hóa nhờ GLDH thành α -cetoglutarat.



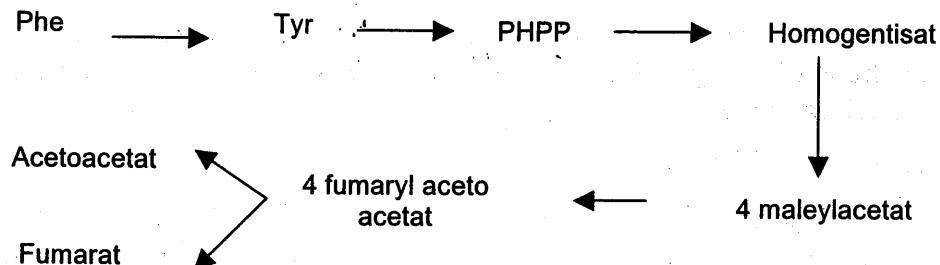
Gln bị thuỷ phân thành Glu và NH_4^+ , enzym xúc tác là *glutaminase*. Pro, Arg biến đổi thành semialdehyd glutamat rồi thành Glu.

2.2.4. Sự biến đổi thành acetyl CoA và acetoacetat của các acid amin mạch nhánh: Leu, Ile, Val.

Các acid amin mạch nhánh thoái hóa tương tự thành acetyl CoA hoặc acetoacetat



2.2.5. Sự thoái hóa thành fumarat và acetoacetat: Phe, Tyr



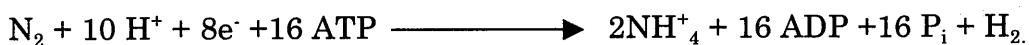
3. SỰ TỔNG HỢP CÁC ACID AMIN

Cơ thể người và động vật bậc cao tổng hợp được 10 hoặc 12 acid amin trong tổng số 20 loại acid amin thường gặp. Còn các acid amin khác phải được cung cấp từ thức ăn. Những acid amin mà cơ thể tổng hợp được là những acid amin không cần thiết. Còn 8 acid amin cơ thể không tổng hợp được đó là những

acid amin cần thiết: Val, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Trp, Thr. Riêng Arg và His cơ thể trẻ em không tổng hợp được, nên gọi là các acid amin bán cần thiết.

3.1. Quá trình tạo thành NH_4^+ từ N_2 , nitrit và nitrat

Quá trình này chỉ có ở vi sinh vật và thực vật thường đẳng. Việc cố định N_2 trong hệ thống sinh học được xúc tác bởi phức hợp *nitrogenase*. Phản ứng có thể viết như sau:



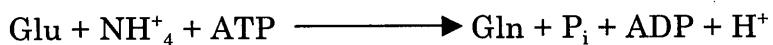
3.2. Sự vận chuyển NH_4^+ vào các hợp chất sinh học

NH_4^+ hình thành sẽ được chuyển vào các hợp chất sinh học qua glutamat và glutamin. Con đường tổng hợp glutamin đơn giản và giống nhau ở mọi cơ thể sống.

- Tạo glutamin: con đường quan trọng nhất là tập trung NH_4^+ vào glutamat tạo ra glutamin qua hai bước nhờ enzym *glutamin synthetase*.



Phản ứng tổng quát của quá trình trên:

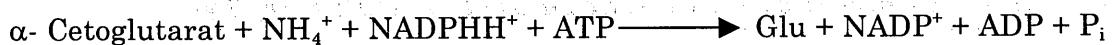


- Tạo thành glutamat,

+ Ở vi khuẩn: sự tổng hợp glutamat bằng cách amin hóa α -cetoglutarat nhờ enzym *glutamat synthetase*. Glutamin là chất cung cấp nhóm amin:



Glutamat cũng có thể được tạo ra qua phản ứng sau:



+ Ở động vật: sự tạo glutamat chủ yếu bằng trao đổi amin với α -cetoglutarat, hoặc có thể gắn NH_4^+ với α -cetoglutarat enzym xúc tác phản ứng *glutamat dehydrogenase*:



Trong cơ thể sống NH_4^+ đã được đưa vào phân tử sinh học ở dạng nhóm amin của glutamat hoặc glutamin. Các nhóm amin này sẽ tham gia vào các quá trình sinh tổng hợp các acid amin và những hợp chất hữu cơ có nitơ khác.

3.3. Sự tổng hợp các acid amin

Sự tổng hợp 20 acid amin thường gặp ở các cơ thể sinh vật có sự khác nhau. Thực vật thường đẳng tổng hợp được tất cả các acid amin cần cho sự

tổng hợp protein từ nguồn N₂, nitrit, nitrat. E. Coli tổng hợp được tất cả các acid amin từ NH₄⁺.

Cơ thể người và động vật cao cấp chỉ tổng hợp được 10 trong số 20 acid amin từ các nguyên liệu hữu cơ. Các acid amin cần thiết phải nhận từ thức ăn. Quá trình tổng hợp acid amin là quá trình gắn nhóm amin vào khung carbon tương ứng tạo ra các acid amin tương ứng. Từ khung carbon, còn gọi các chất chuyển hóa trung gian mà tổng hợp nên một số acid amin gọi là họ của các acid amin họ α- cetoglutarat, họ 3- phosphoglycerat, họ oxaloacetat và họ pyruvat, họ phosphoenol pyruvat và họ erytrose-4 phosphat, tổng hợp histidin từ ribose 5-phosphat.

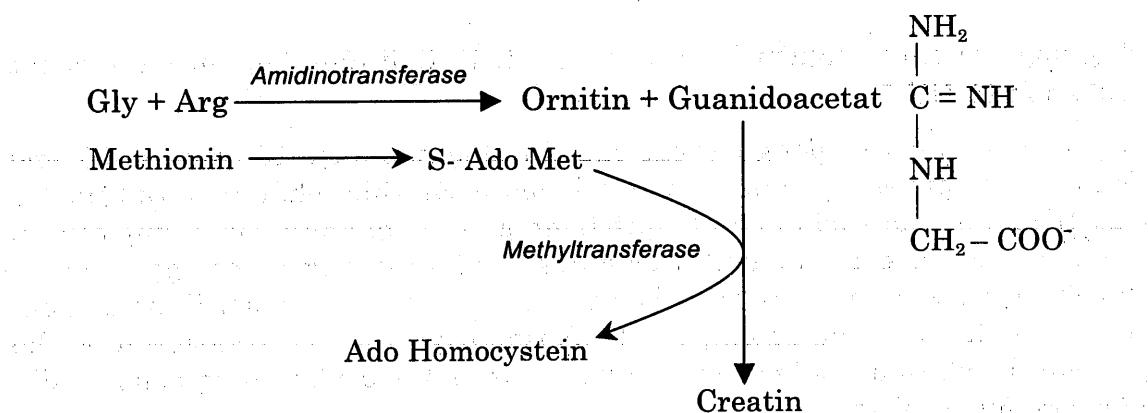
Sự tổng hợp các acid amin được điều hoà theo cơ chế điều khiển ngược (feedback), sản phẩm cuối cùng của quá trình ức chế enzym xúc tác phản ứng đầu tiên. Các enzym này là những enzym dị lập thể và nồng độ cao của sản phẩm là chất ức chế dị lập thể. Có thể các sản phẩm của quá trình chuyển hóa là chất ức chế ngược enzym theo cơ chế ức chế phối hợp. Những chất trung gian cũng đóng vai trò ức chế ngược theo từng chặng gọi là cơ chế ức chế ngược kế tiếp nhau.

3.4. Tổng hợp một số chất có hoạt tính sinh học từ acid amin

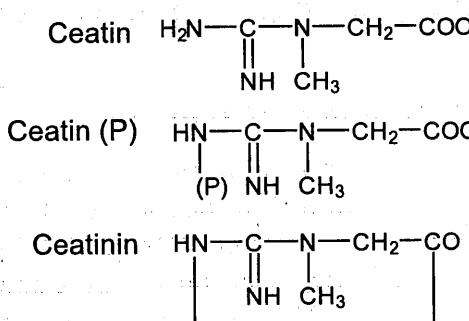
Trong cơ thể acid amin là tiền chất để tổng hợp nên một số chất có hoạt tính sinh học như: Gly và succinyl-CoA cần cho tổng hợp porphyrin. Các base purin và pyrimidin cần cho sự tổng hợp acid nucleic (DNA, RNA), các nucleotid (ATP, UTP) và các coenzym (NAD⁺, FAD). Các base này được tổng hợp từ một số acid amin như Gly, Asp, Gln và Ser. Một số hormon là dẫn xuất của acid amin: hormon T₃, T₄ của tuyến giáp và epinephrin, nor-epinephrin của tuỷ thượng thận đều được tổng hợp từ Phe hoặc Tyr. Serin là tiền chất để tổng hợp nên cholin, ethanolamin có trong thành phần phospholipid. Một dạng dự trữ năng lượng trong cơ là creatin phosphat. Creatin được tổng hợp từ Arg, Gly, Met ở gan vào máu tuần hoàn đến các mô và cơ. Ở cơ creatinin chuyển thành creatin phosphat nhờ enzym *creatine kinase*. Glutathion là một tripeptid gồm Glu- Cys -Gly có chức năng chống oxy hóa bảo vệ màng, đặc biệt màng hồng cầu. Ngoài ra, một số acid amin là tiền thân của một số chất dẫn truyền thần kinh như: Glu tạo GABA, His tạo histamin, Trp tạo ra serotonin, Phe tạo ra catecholamin. Taurin là thành phần của acid mật là sản phẩm chuyển hóa của cystein.

3.4.1. Sự tạo thành creatin, creatin phosphat và creatinin

Creatin được tổng hợp từ 3 acid amin: Gly, Arg, Met

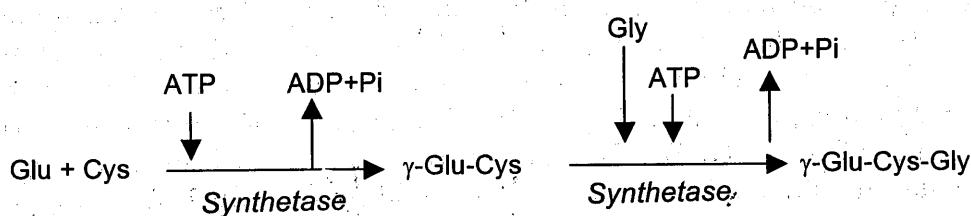


Creatin kinase xúc tác vận chuyển nhóm phosphat từ ATP sang creatin tạo thành creatin phosphat khi cơ nghỉ và tái tạo lại ATP khi cần. Creatin mất nước đóng vòng tạo creatinin. Mỗi ngày sự tạo thành creatinin với một lượng hằng định. Creatinin được bài xuất qua thận ra nước tiểu. Lượng creatin và creatinin tỷ lệ với khối lượng cơ.

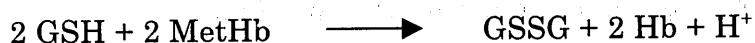


3.4.2. Sự tổng hợp glutathion

Glutathion là tripeptid: γ -Glu-Cys-Gly. Trong hồng cầu glutathion có nồng độ cao, có vai trò như là một chất khử. **Sự tổng hợp glutathion:**



Glutathion dạng khử (GSH) khử MetHb thành Hb và thành glutathion dạng oxi hóa (GSSG).



Coenzym khử NADPHH⁺ được cung cấp từ chu trình pentose phosphat để tái tạo lại GSH nhờ *glutathion reductase*.



Trong các tế bào tỷ lệ GSH/ GSSG (khử/ oxy hoá) là 500. Ngoài ra, glutathion khử độc của H_2O_2 và các gốc tự do nhờ enzym GSH peroxidase.

3.4.3. Tổng hợp các chất dẫn truyền thần kinh

Nhiều chất dẫn truyền thần kinh là dẫn xuất của các acid amin: Catecholamin là dẫn xuất của Phe, Tyr. Serotonin được tạo ra từ Trp, histamin là dẫn xuất của His. Còn GABA là sản phẩm khử carboxyl của Glu. Glycin cũng là chất ức chế dẫn truyền thần kinh (xem chương 21: hóa sinh thần kinh).

3.4.4. Tổng hợp base nitơ: purin và pyrimidin

Các acid amin Gly, Asp, Gln cần cho sự tổng hợp các base nitơ (xem chương chuyển hóa acid nucleic). Các base nitơ có trong các nucleotid giàu năng lượng ATP, GTP, UTP hoặc tham gia cấu tạo acid nucleic. Các base nitơ có trong thành phần cấu tạo các coenzym: NAD^+ , FAD (xem chương enzym).

3.4.5. Tổng hợp một số hormon

Một số hormon là dẫn xuất của acid amin như hormon tuyến giáp (T_3 , T_4), hormon tuỷ thượng thận (epinephrin và nor-epinephrin) là dẫn xuất của Phe, Tyr. Rất nhiều hormon có bản chất là peptid hoặc protein (xin xem chương hormon).

3.4.6. Tổng hợp porphyrin

Glycin cần cho quá trình tổng hợp porphyrin (xem chương chuyển hóa hemoglobin). Porphyrin là thành phần của hem. Hem tham gia cấu tạo nhiều chất trong cơ thể như: Hb, Mb, cytocrom và catalase.

3.4.7. Ngoài ra acid amin còn là tiền chất của cholin, ethanolamin

Cholin, ethanolamin, serin: những chất này tham gia cấu tạo phospholipid. Thành phần của acid mật là taurin. Taurin là sản phẩm chuyển hóa từ Cys (xem chương hóa sinh gan). Sản phẩm chuyển hóa của Trp tạo ra vitamin PP (acid nicotinic).

4. BỆNH LÝ ACID AMIN

Những bệnh lý acid amin (aminoacidopathies) do rối loạn chuyển hóa acid amin là những rối loạn di truyền hiếm gặp. Những bất thường hoặc do thiếu hụt enzym đặc hiệu trên đường chuyển hóa hoặc những bất thường trong hệ thống vận chuyển acid amin qua màng. Những rối loạn này làm tăng lượng acid amin trong máu, tăng đào thải ra nước tiểu, cùng với những dấu hiệu lâm sàng tương ứng với những rối loạn.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy trình bày quá trình trao đổi amin và quá trình khử amin oxy hóa.
2. Hãy trình bày sự liên quan giữa trao đổi amin và khử amin oxy hóa.
3. Hãy trình bày quá trình tạo ure (các phản ứng).
4. Hãy trình bày sự liên quan giữa chu trình ure và chu trình acid citric.
5. Hãy trình bày sự tổng hợp và vai trò của creatin trong cơ thể.
6. Hãy trình bày sự tổng hợp và vai trò của glutathion trong tế bào.
7. Thế nào là bệnh lý acid amin.

Chương 10

CHUYỂN HÓA HEMOGLOBIN

MỤC TIÊU

1. Trình bày được sơ đồ thoái hóa hemoglobin và giải thích được các hiện tượng vàng da.
2. Trình bày được bệnh do rối loạn tổng hợp Hem và do sai sót tổng hợp globin.

Hemoglobin chiếm 34% tổng lượng protein trong hồng cầu. Đời sống trung bình của hồng cầu vào khoảng 120 ngày. Khi hồng cầu già sẽ bị phá huỷ trong hệ thống võng nội mô giải phóng hemoglobin. Hemoglobin thuỷ phân thành Hem và globin. Globin thuỷ phân thành acid amin. Các acid amin phần lớn được tái sử dụng để tổng hợp protein. Hem thoái hóa thành bilirubin. Lượng bilirubin phụ thuộc vào lượng hem thoái hóa. Sự tăng bilirubin trong máu gây ra các hội chứng vàng da.

Sự tổng hợp hemoglobin là sự tổng hợp globin và tổng hợp hem. Tổng hợp globin có thể chỉ sai sót một acid amin trong chuỗi globin hoặc là sai sót về tỷ lệ các chuỗi trong phân tử hemoglobin. Những sai sót này gây ra những bệnh lý hemoglobin và bệnh thalassemia. Rối loạn tổng hợp hem gây ra bệnh porphyria.

1. SỰ THOÁI HÓA HEMOGLOBIN VÀ Ý NGHĨA LÂM SÀNG

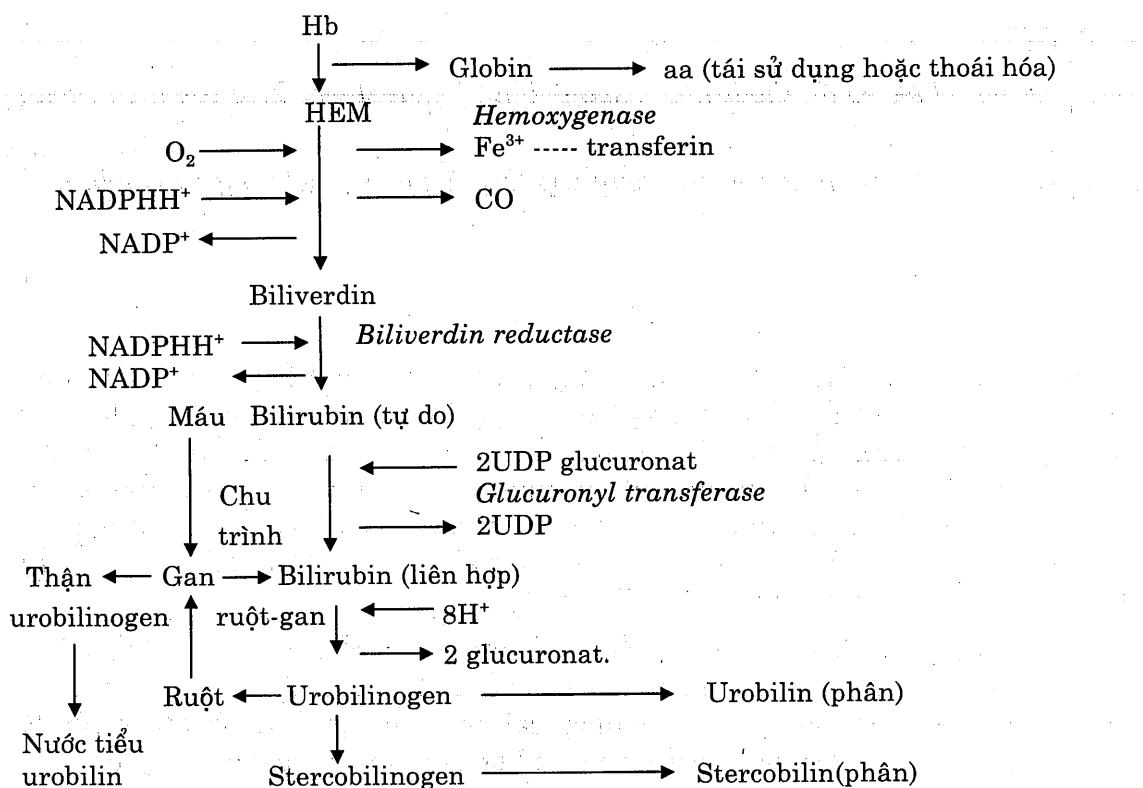
1.1. Sự thoái hóa hemoglobin

1.1.1. Sự thoái hóa hemoglobin ngoài mạch

Hồng cầu già bị phá huỷ trong lách giải phóng hemoglobin và được thoái hóa. Bình thường có khoảng 90% lượng hemoglobin được thoái hóa trong tổ chức liên võng, ngoài hệ thống tuần hoàn. Hemoglobin thuỷ phân giải phóng globin và hem. Globin là protein nên thuỷ phân thành các acid amin. Những acid amin này chủ yếu được tái sử dụng để tổng hợp protein. Những acid amin không được tái sử dụng sẽ bị thoái hóa. Còn hem được mở vòng ở vị trí carbon alpha với sự tham gia của enzym *hemoxygenase*. Enzym này của microsom gắn với cytocrom P-450 có coenzym là NADPH và cần một phân tử oxy, giải phóng ra CO và ion sắt III. Ion sắt được vận chuyển đến transferrin. Enzym *hemoxygenase* đặc hiệu với hem vì sắt tham gia vào cơ chế mở vòng. Sản phẩm

tạo thành của phản ứng này là biliverdin có màu xanh. Ở một số loài động vật như chim và bò sát sự thoái hóa hemoglōbin tạo ra biliverdin xuống ruột và đào thải ra phân. Ở người và một số động vật khác biliverdin tiếp tục bị khử thành bilirubin nhờ enzym biliverdin reductase có coenzym NADPH và giải phóng coenzym dạng oxy hóa NADP⁺.

Sơ đồ thoái hóa hemoglobin.



Hình 10.1. Sự thoái hóa hemoglobin ngoài mạch

Bilirubin tạo thành không tan trong nước có ái lực cao với lipid và albumin của huyết thanh. Do có ái lực cao với lipid màng nên sự kết hợp của bilirubin với lipid màng gây hư hại chức năng màng tế bào đặc biệt của hệ thống thần kinh. Bilirubin được vận chuyển vào máu và kết hợp với albumin của huyết thanh. Albumin vận chuyển bilirubin ở hai vị trí. Bilirubin được tách ra nhanh chóng khỏi albumin huyết thanh xảy ra ở gan. Bilirubin đi vào tế bào gan. Trong tế bào gan bilirubin kết hợp với acid glucuronic tạo thành bilirubin liên hợp. Chất cho glucuronat là UDP glucuronat, enzym xúc tác cho phản ứng là *Glucuronyl transferase*. Bilirubin liên hợp được bài tiết vào đường dẫn mật về túi mật và là thành phần chính của sắc tố mật. Bilirubin liên hợp phản ứng trực tiếp với muối diazo tạo thành chất màu azo gọi là phản ứng Van der Bergh. Trong một số bệnh của tế bào khi bilirubin kết hợp chặt chẽ với albumin của huyết thanh mà không thể tách được gặp trong hội chứng Gilberts.

Bilirubin glucuronid từ túi mật xuống ruột, nhờ các enzym của vi khuẩn đường ruột thuỷ phân tách glucuronat và bilirubin bị oxy hóa thành urobilinogen. Urobilinogen tiếp tục oxy hóa thành stercobilinogen. Hai sắc tố này đào thải ra phân và bị khử thành urobilin và stercobilin tương ứng. Ở phân người bình thường urobilin và stercobilin tạo cho phân có màu vàng. Khoảng 20% urobilinogen và stercobilinogen được tái hấp thu vào tĩnh mạch cửa về gan tái tạo lại sắc tố mật. Quá trình này gọi chu trình ruột-gan. Một phần sắc tố mật bị lọc qua thận và đào thải ra nước tiểu và bị khử thành urobilin và stercobilin. Hai chất này cũng tạo ra màu của nước tiểu người bình thường.

Trẻ sơ sinh những ngày đầu sau khi sinh do thiếu các enzym của vi khuẩn đường ruột bilirubin không bị khử ở ruột mà tự oxy hóa thành biliverdin. Những người dùng kháng sinh ảnh hưởng tới vi khuẩn đường ruột, phân có màu xanh gấp trong hội chứng Crigler Najar.

Xác định nồng độ bilirubin tự do và bilirubin liên hợp trong máu đã được sử dụng để chẩn đoán các bệnh về gan mật.

1.1.2. Sự thoái hóa hemoglobin nội mạch

Bình thường có dưới 10% hemoglobin được giải phóng trực tiếp vào tuần hoàn máu. Hemoglobin phân ly thành dimer α và dimer β. Các dimer này kết hợp với haptoglobin là protein của huyết tương tạo thành phức hợp lớn hơn nên không bị đào thải qua thận ra nước tiểu. Sự liên kết với haptoglobin làm ổn định liên kết hem-globin trong các dimer. Phức hợp haptoglobin-dimer được vận chuyển đến gan và sự thoái hóa xảy ra như trên. Nếu lượng haptoglobin bị giảm, trong giai đoạn tan máu các dimer này bị lọc qua cầu thận và được tái hấp thu rồi biến đổi thành hemosiderin. Nếu lượng hemoglobin nhiều hơn 5g/ngày sẽ xuất hiện hemoglobin và methemoglobin ra nước tiểu. Những hemoglobin không kết hợp với haptoglobin, bị lọc qua thận hoặc oxy hóa thành methemoglobin hoặc thuỷ phân thành hem tự do. Những hem tự do kết hợp với protein là hemopexin thành phức hợp hem-hemopexin. Phức hợp này được vận chuyển về gan và thoái hóa ở gan. Khi quá nhiều hem vượt quá khả năng kết hợp của hemopexin, thì kết hợp với albumin của huyết tương và được giữ cho đến khi có hemopexin để kết hợp và thoái hóa ở gan.

1.2. Ý nghĩa lâm sàng

Lượng bilirubin trong huyết thanh là kết quả của sự cân bằng giữa hình thành bilirubin do thoái hóa hemoglobin và khả năng liên hợp bilirubin của gan. Người bình thường bilirubin toàn phần dưới 1mg%, trong đó tự do là 0,8 mg% và liên hợp chỉ dưới 0,2mg%. Sự tăng bilirubin toàn phần trong huyết thanh gây ra vàng da (jaundice). Những nguyên nhân của vàng da có thể chia thành 3 nhóm chính: vàng da trước gan, vàng da tại gan và vàng da sau gan.

1.2.1. Vàng da trước gan (prehepatic jaundice)

Do tăng bilirubin toàn phần, những nguyên nhân làm tăng bilirubin trong loại vàng da này do tan máu (hemolysis) quá nhiều. Tan máu có thể do di truyền hoặc tan máu mắc phải.

– Tan máu mắc phải hay gặp là do truyền nhầm nhóm máu, do hóa chất, do một vài loại ung thư hoặc do dùng thuốc có gây tan máu

– Tan máu di truyền do xuất hiện nhiều hồng cầu không bình thường, làm tăng tốc độ phá huỷ hồng cầu trong tuỷ xương. Nên tăng bilirubin giải phóng từ tuỷ xương và rất ít hồng cầu từ tuỷ xương vào máu tuần hoàn.

Còn do tăng phá huỷ các thành phần hem không phải của hemoglobin ở gan và một số mô khác. Hầu hết các trường hợp vàng da trước gan chức năng gan bình thường.

– Vàng da ở trẻ sơ sinh: loại vàng da này có lượng bilirubin toàn phần huyết thanh trên 15mg% xuất hiện vài ngày sau sinh hoặc ở mức trên 10mg% sau khi sinh hai tuần. Những nguyên nhân chính của loại vàng da này do: tăng sự tan máu trong khi sinh, gan của trẻ chưa hoàn thiện nên các enzym của gan chưa đủ về lượng cũng như về chức năng gây thiếu hụt tạm thời enzym *glucuronyltransferase*. Vì vậy có sự tăng tái hấp thu bilirubin tự do từ ruột gây tăng bilirubin trên 10mg%. Những đứa trẻ bình thường bilirubin cao hai, ba ngày sau sinh. Rồi giảm nhanh, trở về bình thường ở trẻ dưới bảy tuần. Khi nồng độ bilirubin cao dai dẳng trên hai tuần hoặc tiếp tục tăng trên 15mg% nghĩ tới bệnh lý như nhóm máu Rh.

1.2.2. Vàng da tại gan (hepatic jaundice)

– Vàng da do khuyết tật sự vận chuyển bilirubin vào tế bào gan tăng nhiều bilirubin tự do gặp trong hội chứng Crigler-Najjar và trong bệnh Gilberts do thiếu hụt enzym liên hợp bilirubin với glucuronat là *glucuronyl transferase*.

– Vàng da xuất hiện khi tế bào gan bị huỷ hoại hoặc do sự bài tiết sản phẩm từ tế bào bị tổn thương. Trong vàng da này bilirubin liên hợp nhiều hơn gặp trong hội chứng Rotor, viêm gan do virus, do nhiễm độc và do khối u.

1.2.3. Vàng da sau gan (posthepatic jaundice)

Còn gọi vàng da do tắc mật, gây cản trở mật xuống ruột. Những nguyên nhân gây tắc mật phổ biến nhất là do sỏi đường mật, u đầu tuy hoặc u các cơ quan khác chèn vào đường mật. Vàng da sau gan tăng chủ yếu bilirubin liên hợp. Lượng bilirubin tới ruột giảm nên phân bạc màu nhưng có nhiều bilirubin ra nước tiểu, nên nước tiểu có màu vàng đậm. Trong những trường hợp tắc mật kéo dài, gan có thể bị tổn thương, khả năng liên hợp giảm. Nên những trường hợp này bilirubin liên hợp có thể tăng nhưng không cao như trong những trường hợp vàng da sau gan với chức năng gan bình thường.

2. SỰ TỔNG HỢP HEMOGLOBIN

Sự tổng hợp hemoglobin ở hồng cầu chưa trưởng thành trong tuỷ xương. Sự tổng hợp hemoglobin phụ thuộc vào **sự cung cấp sắt, sự tổng hợp hem và tổng hợp globin.**

2.1. Sự tổng hợp hem

2.1.1. Các bước tổng hợp Hem

Tất cả các tế bào chứa hemoprotein đều có thể tổng hợp được hem nhưng sự tổng hợp hem xảy ra mạnh ở gan và tuỷ xương. Quá trình này xảy ra ở cả ty thể và bào tương của tế bào. Sự vận chuyển các chất qua màng ty thể là một quá trình phức tạp cũng là điểm gây ra gián đoạn trong sự tổng hợp hem. Sự tổng hợp qua tám bước sau đây:

Bước 1: sự tạo thành δ amino levulinic acid (ALA) từ succinylCoA và glycine loại CO₂ và CoASH. Enzym xúc tác phản ứng này là δ-amino levulinic *synthase*. Phản ứng này xảy ra ở ty thể. ALA tạo thành từ ty thể ra bào tương.

Bước 2: sự tạo thành porphobilinogen (PBG) từ hai phân tử ALA, enzym xúc tác là ALA *dehydratase* loại đi một phân tử nước.

Bước 3: sự tạo thành hydroxymethylbilan, xúc tác phản ứng này là enzym PBG *deaminase*.

Bước 4: sự tạo thành uroporphyrinogen III nhờ enzym uroporphyrinogen III *synthase*.

Bước 5: tạo thành coproporphyrinogen III nhờ enzym uroporphyrinogen III *decarboxylase*. Coproporphyrinogen III từ bào tương vào ty thể tiếp tục quá trình tổng hợp hem.

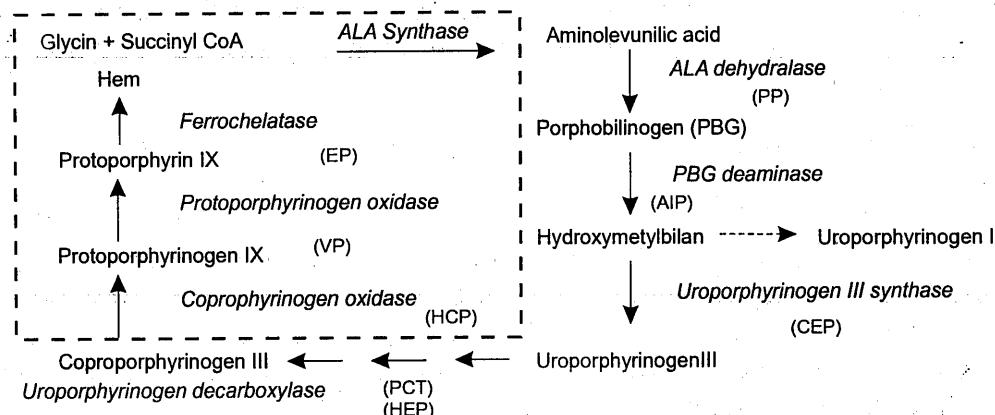
Bước 6: sự tạo thành protoporphyrinogen IX trong ty thể do sự oxy hóa coproporphyrinogen III loại đi hai phân tử CO₂ và hai hydro. Enzym xúc tác phản ứng này là *coproporphyrinogen oxidase*.

Bước 7: sự tạo thành protoporphyrin IX enzym xúc tác phản ứng này là *protoporphyrinogen oxidase*.

Bước 8: Sự tạo thành hem do sự gắn ion Fe²⁺ vào protoporphyrin IX nhờ enzym *ferrochelatase*.

-Điều hoà tổng hợp hem: điều hoà tốc độ tổng hợp hem trong các tế bào gan đã được nghiên cứu **qua sự điều hoà enzym ALA synthase** theo cơ chế điều khiển ngược. Nếu tăng nồng độ hem trong gan, giảm sự hình thành ALA synthase, trái lại sẽ tăng tạo thành ALA synthase nếu lượng hem giảm. Điều hoà tổng hợp hem còn bị ảnh hưởng bởi **nhu cầu hemoprotein** trong gan. Tốc độ tổng hợp hem có thể thay đổi nhanh chóng đáp ứng với những kích thích khác nhau: số lượng hồng cầu trong tuỷ xương, các enzym khác trên con đường tổng hợp hem và tốc độ giữ sắt của tế bào cũng góp phần điều hoà sự tổng hợp hem.

Sự tổng hợp hem và những bệnh liên quan tới sự thiếu hụt các enzym.



Hình 10.2. Sự tổng hợp Hem và các bệnh do thiếu hụt enzym

PP: Porphyria chì

HCP: Coproporphyrinia di truyền

AIP : Đợt porphyria cấp.

HEP: Porphyria gan -tuỷ xương

CEP: Porphyria tuỷ xương bẩm sinh.

VP: Porphyria hỗn hợp

PCT: Nhiễm sắc tố da chậm.

EP: Porphyria tuỷ xương

2.1.2. Rối loạn tổng hợp Hem

Sự thiếu hụt enzym di truyền hay mắc phải gây ứ đọng các sản phẩm của quá trình chuyển hóa porphyria (tiền chất tổng hợp hem) trong tuỷ xương hay trong gan gọi là các bệnh porphyria (porphyrias). Tình trạng bệnh tương ứng với sự thiếu hụt enzym trong mỗi bước tổng hợp hem trừ ALA synthase. Bệnh lý porphyria do rối loạn tổng hợp hem làm tăng các sản phẩm trung gian trong máu, trong nước tiểu và trong phân.

2.2. Sự tổng hợp globin

2.2.1. Sự tổng hợp globin

Sự tổng hợp globin theo cơ chế tổng hợp protein ở bào tương. Hem từ ty thể ra bào tương kết hợp với globin tạo thành hemoglobin. Sự kết hợp có thể xảy ra khi **các chuỗi globin tách khỏi ribosom**. Cũng có thể chuỗi alpha tách khỏi polysom đến kết hợp với chuỗi beta còn đang gắn với polysom. Chuỗi beta chỉ tách khỏi polysom khi đã kết hợp với chuỗi alpha tạo thành dime $\alpha\beta$. Hai dime $\alpha\beta$ kết hợp với nhau tạo thành $\alpha_2\beta_2$. Sự kết hợp có thể xảy ra trong quá trình tổng hợp chuỗi hoặc sau khi kết thúc sự tổng hợp globin. Những gen globin mã hóa cho những chuỗi polypeptid của hemoglobin được sắp xếp trên hai nhiễm sắc thể. Ở người những gen mã hóa cho chuỗi α trên sắc thể 16 là giống nhau cho sự tổng hợp chuỗi α . Còn gen mã hóa cho chuỗi không phải là α sắp xếp trên sắc thể sắc thể 11 và không thể hiện như những chuỗi polypeptid.

2.2.2. Sự sai sót trong tổng hợp globin

Sự tổng hợp globin có thể gặp những sai sót về chất lượng chuỗi globin trong hemoglobin gọi là các bệnh lý hemoglobin (hemoglobinopathies). Còn những sai sót về số lượng của chuỗi globin hay tỷ lệ về các chuỗi globin trong hemoglobin được gọi là các bệnh thalassemia (thalassemias).

– Bệnh lý hemoglobin là sự sai sót một acid amin trong chuỗi globin. Sự sai sót có thể trên chuỗi α hoặc sai sót trên chuỗi β . Những sai sót này gây ra bất thường về cấu trúc dẫn đến thay đổi tính chất làm giảm hoặc mất khả năng vận chuyển oxy của hemoglobin. Để thể hiện các hemoglobin bệnh lý này người ta dùng các chữ cái để ký hiệu như: HbC, HbD, HbE, HbS. Đôi khi có kèm theo địa danh tìm thấy bệnh. Các bệnh lý hemoglobin là bệnh di truyền và có sự khác nhau ở từng vùng. Ví dụ HbS có tỷ lệ cao ở châu Phi và Nam Mỹ, do sự thay thế 1 acid amin trên chuỗi β^6 Glu \rightarrow Val. HbC thay 1 acid amin trên chuỗi β^6 Glu \rightarrow Lys.

– Bệnh thalassemia do sai sót trong sự hình thành các chuỗi globin. Bất kỳ sự tạo thành chuỗi globin không cân bằng gây ra hồng cầu nhỏ nhược sắc đôi khi làm biến dạng hồng cầu. Sự tích tụ quá nhiều các chuỗi globin trong hemoglobin của quá trình phát triển hồng cầu sẽ gây tủa protein, dẫn đến phá hủy hồng cầu trong tuỷ xương. Vì vậy, mặc dù có sự tạo thành hồng cầu nhưng các tế bào trưởng thành không tới được máu ngoại vi để vận chuyển oxy. Thalassemia là bệnh di truyền trội rất phổ biến và phân bố rộng rãi trên thế giới. Có 2 typ thalassemia:

- α -thalassemia là do giảm hoặc không có sự tạo thành chuỗi α .
- β -thalassemia là do giảm hoặc không có sự tạo thành chuỗi β .

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy trình bày sơ đồ thoái hóa hemoglobin ngoài mạch và giải thích các hiện tượng vàng da.
2. Hãy giải thích các hiện tượng vàng da.
3. Thế nào là bệnh porphyria.
4. Thế nào là bệnh lý hemoglobin.
5. Thế nào là bệnh Thalassemia.

Chương 11

CHUYỂN HÓA ACID NUCLEIC

MỤC TIÊU

1. Trình bày được quá trình chuyển hóa acid nucleic (quá trình thoái hóa, tổng hợp và điều hòa).
2. Trình bày được các yếu tố tham gia, các giai đoạn của quá trình tái bản bẩn bảo tồn của DNA.
3. Trình bày được các giai đoạn của quá trình sao chép, các yếu tố tham gia và quá trình hoàn thiện RNA.

1. CHUYỂN HÓA NUCLEOTID

Nucleotid là đơn vị cấu tạo nên acid nucleic (DNA và RNA), là thành phần của các coenzym, chất thông tin thứ hai của tế bào và là chất dự trữ và vận chuyển năng lượng.

1.1. Thoái hóa

Acid nucleic trong thức ăn không bị phá hủy bởi môi trường acid ở dạ dày và chỉ bị thoái hóa chủ yếu ở tá tràng bởi các *nuclease* của tụy và các *phosphodiesterase* của ruột non. Các sản phẩm này không qua được màng tế bào mà tiếp tục bị thủy phân tạo thành các nucleosid với sự xúc tác của các enzym *nucleotidase* đặc hiệu nhóm và các *phosphatase*. Các nucleosid có thể được hấp thu tự do qua thành ruột hoặc tiếp tục thoái hóa để tạo các base tự do, ribose hoặc ribose-1-phosphat nhờ các enzym *nucleosidase* và *nucleoside phosphorylase*:

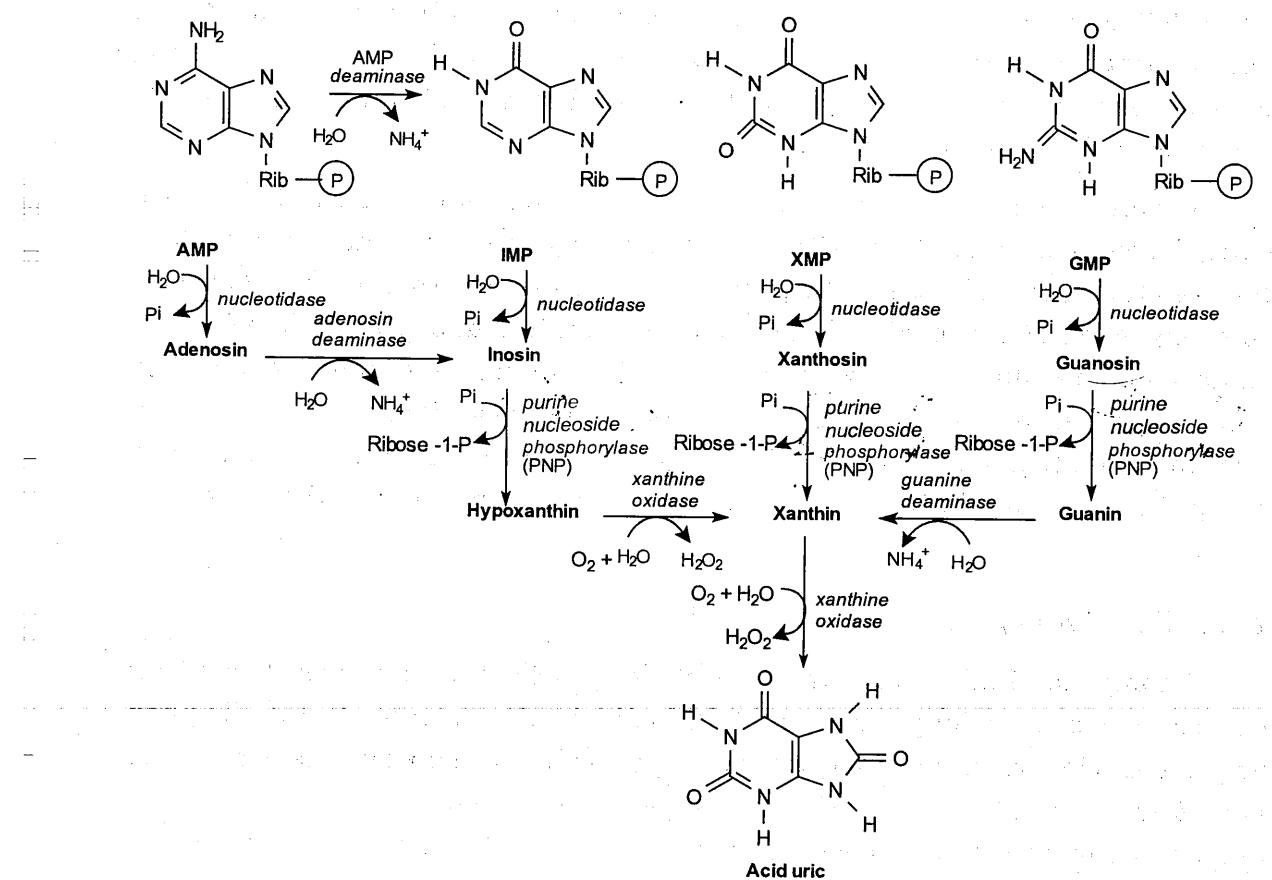


Các acid nucleic trong tế bào thường xuyên bị thoái hóa và quá trình đó nằm trong sự biến đổi liên tục của tất cả các bộ phận cấu thành tế bào.

1.1.1. Thoái hóa của purin nucleotid

Khởi đầu của quá trình thoái hóa là phản ứng thủy phân gốc phosphat dưới tác dụng của *5nucleotidase*. Sau khi bị thủy phân gốc phosphat, adenylat

(adenosin nucleotid) tạo thành adenosin. Adenosin tiếp tục bị khử amin thành inosin với sự xúc tác của adenosine *deaminase* để tạo thành inosin. Inosin bị thủy phân giải phóng hypoxanthin và ribose-1-P dưới tác dụng của *nucleosidase*. Hypoxanthin oxy hóa thành xanthin rồi thành acid uric với tác dụng của *xanthine oxidase*.



Hình 11.1: Con đường thoái hóa của purin nucleotid

Guanylat (guanosin nucleotid) trước hết bị thủy phân tạo thành guanosin cũng dưới tác dụng của *5nucleotidase*. Guanosin tiếp tục bị thủy phân giải phóng guanin tự do và ribose-1-P với sự xúc tác của *nucleosidase*. Guanin lại bị khử amin để tạo thành xanthin nhờ enzym xanthin *deaminase*. Sau đó xanthin bị oxy hóa tạo acid uric với sự tham gia của *xanthine oxidase*.

Ở người, sản phẩm thoái hóa cuối cùng của base purin là acid uric. Nồng độ acid uric trong máu người bình thường là 2,2-8 mg/dl (130-480 µmol/l). Lượng acid uric trong nước tiểu khoảng 0,3-0,8 g/24 giờ và thay đổi theo chế độ ăn. Trong bệnh Gout (bệnh Thống phong), bệnh tăng bạch cầu, lượng acid uric trong máu có thể tăng tới 7-8 g/dl có sự lắng đọng urat tại một số tổ chức như

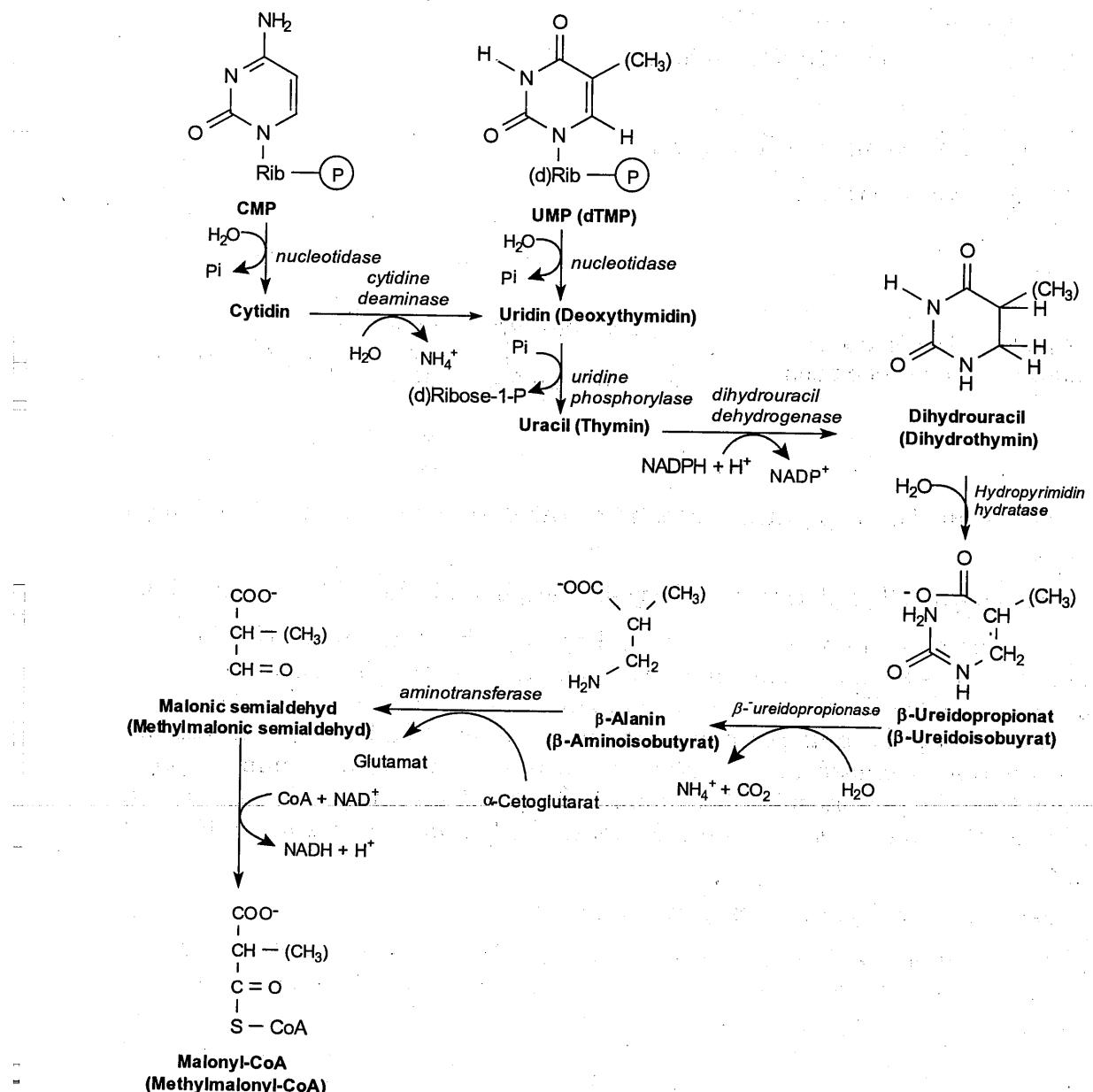
sụn, bao gân, túi nhầy của các khớp, đôi khi cả ở thận và cơ. Bệnh Gout có tỷ lệ khoảng 3/1000 người, thường gặp ở nam giới và liên quan đến thói quen ăn uống quá nhiều. Nguyên nhân thường gặp nhất của bệnh là do thương tổn quá trình bài tiết acid uric, rối loạn chuyển hóa hội chứng Lesch-Nyhan hay von Gierke). Bệnh Gout có thể được điều trị bằng cách phối hợp giữa điều chỉnh chế độ ăn kết hợp với dùng thuốc. Các thuốc điều trị dựa trên nguyên tắc úc chế enzym *xanthin oxidase*. Khi enzym này bị úc chế, sản phẩm chuyển hóa của base purin sẽ là xanthin và hypoxanthin. Hai chất này dễ tan trong nước hơn acid uric và dễ dàng đào thải qua nước tiểu.

Ở chim, bò sát, côn trùng, sản phẩm thoái hóa cuối cùng của base purin cũng là acid uric. Song ở một số động vật có xương sống khác, acid uric bị thoái hóa tiếp tục thành allantoin với sự xúc tác của enzym là *urate oxidase*. Ở loài cá có xương, sản phẩm cuối cùng là allantoat do allantoin được gắn thêm một phân tử nước dưới tác dụng của enzym là *allantoinase*. Ở động vật lưỡng cư và những loài cá sụn, sản phẩm cuối cùng là urê do tác dụng của *allantoicase* thủy phân allantoat thành glyoxylat và urê. Ở những động vật biển không có xương sống, sản phẩm cuối cùng là NH_4^+ do urê bị thủy phân thành CO_2 và NH_4^+ với sự xúc tác của *urease*.

1.1.2. Thoái hóa pyrimidin nucleotid

Trong các tế bào của động vật pyrimidin nucleotid được thoái hóa thành các đơn vị cấu tạo. Giống như quá trình thoái hóa các purin nucleotid, các phản ứng thoái hóa pyrimidin nucleotid lần lượt là khử phosphoryl hóa, khử amin hóa và chặt đứt liên kết glycosidic. Uracil và thymine tiếp tục bị thoái hóa ở gan qua quá trình khử thay vì là quá trình oxi hóa như quá trình chuyển hóa purin.

Các pyrimidin nucleotid trước hết bị thủy phân giải phóng base pyrimidin nhờ các enzym là nucleotidase và nucleosidase. Sản phẩm thoái hóa cuối cùng của chuyển hóa pyrimidin là amino acid: β -alanin và α -aminoisobutyrate. Hai acid amino này thông qua phản ứng trao đổi amin để tạo manonyl-CoA và methylmalonyl-CoA để tiếp tục tham gia chuyển hóa.



Hình 11.2. Con đường thoái hóa của pyrimidin nucleotid

1.2. Tổng hợp: Có hai con đường tổng hợp nucleotid là con đường tân tạo và con đường tận dụng.

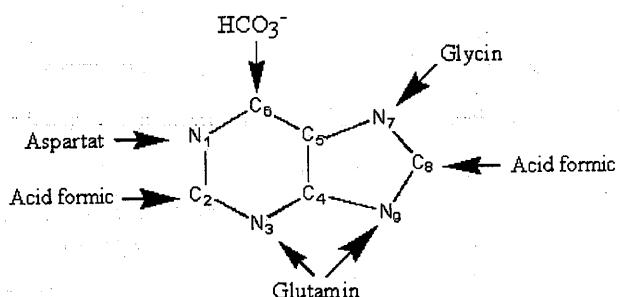
Con đường tân tạo:

1.2.1. Tổng hợp purin ribonucleotid

Bằng các nghiên cứu thực nghiệm sử dụng các chất ghi dấu đồng vị phóng xạ ¹⁴C, ¹⁵N các nhà khoa học đã xác định được nguồn gốc các nguyên tử trong nhân purin.

N₁ có nguồn gốc từ acid aspartic
 C₂ và C₈ có nguồn gốc từ acid formic
 N₃ và N₉ có nguồn gốc từ glutamin
 C₄, C₅ và N₇ có nguồn gốc từ glycine
 C₆ có nguồn gốc từ CO₂

Hình 11.3. Nguồn gốc các nguyên tử trong vòng purin



Quá trình tổng hợp purin nucleotid có thể được chia ra thành 4 giai đoạn chính sau:

Giai đoạn 1. Tạo glycinamid ribosyl-5'-phosphat (glycinamid ribonucleotid).

Phản ứng đầu tiên (1) của sự tổng hợp là sự hoạt hóa phân tử ribose-5'-phosphat với sự tham gia của ATP để tạo thành 5-phosphoribosyl-α-pyrophosphat (PRPP) với sự xúc tác của *ribose phosphate pyrophosphokinase*. Tiếp theo (2) là phản ứng gắn amin của glutamin vào PRPP với sự xúc tác của enzym *amidophosphoribosyl transferase* tạo β-5-phosphoribosylamin. Ở phản ứng tiếp theo (3), β-5-phosphoribosylamin kết hợp với glycine tạo nên glycinamid ribotid (GAR). Phản ứng này cần một phân tử ATP và enzym xúc tác là *GAR synthetase*.

Giai đoạn 2. Tạo nhân imidazol của purin:

Phản ứng (4) GAR được formyl hóa bởi N¹⁰-formyltetrahydrofolat dưới tác dụng của enzym *GAR transformylase* tạo thành formylglycinamide ribotid (FGAR). Chất này được amin hóa (5) với sự tham gia của một phân tử ATP và enzym *FGAR synthetase* chuyển nhóm amin từ glutamine để tạo formylglycinamide ribotid (FGAM). FGAM được loại bỏ một phân tử nước (6) để tạo thành vòng 5 cạnh là 5-aminoimidazole ribotid (AIR) dưới tác dụng của enzym *FGAM cyclase* còn gọi là *AIR synthetase* và cần năng lượng từ một phân tử ATP.

Giai đoạn 3. Tạo nhân pyrimidin của purin và sự hình thành acid inosinic:

Ở phản ứng (7), AIR được carboxyl hóa nhờ enzym *AIR carboxylase*. Nhóm carboxy này có nguồn gốc từ carbonat hòa tan trong dung dịch, tạo thành carboxyaminoimidazole ribotid (CAIR). Chất tạo thành kết hợp với aspartat tạo thành aminoimidazole-4-(N-succinylcarboxamid) ribotid (SACAIR) (8). Phản ứng này có sự xúc tác của enzym *SACAIR synthetase* và cần năng lượng từ một phân tử ATP. Tiếp theo fumarat tách khỏi SACAIR dưới tác dụng của

adenylosuccinat lyase để tạo thành 5-aminoimidazole-4-carboxamid ribotid (AICAR) (9). Trong phản ứng 10, AICAR bị formyl hóa với sự tham gia của N¹⁰-formyltetrahydrofolat nhờ enzym *AICAR transformylase* để tạo thành 5-formaminoimidazol-4-carboxamid ribotid (FAICAR). Chất này khử nước, đóng vòng để tạo thành inosin monophosphat (IMP) với sự xúc tác của *IMP cyclohydrolase* (11).

Giai đoạn 4. Chuyển inosinat (IMP) thành adenylat (AMP) và guanylat (GMP):

Tạo adenylat: IMP kết hợp với aspartat để tạo thành adenylosuccinat dưới tác dụng của enzym *adenylosuccinate synthetase* và một phân tử GTP. Adenylosuccinat tách fumarat dưới tác dụng của *adenylosuccinate lyase* tạo thành adenylat (AMP).

Tạo guanylat: Inosinat bị oxy hóa ở C₂ của nhân purin để tạo thành xanthosin monophosphat (XMP). Enzym xúc tác là *IMP dehydrogenase* có coenzym là NAD⁺. Sau đó với sự xúc tác của *GMP synthetase* nhóm amin của glutamin gắn vào vị trí thứ hai của phân tử purin tạo thành guanylat (GMP).

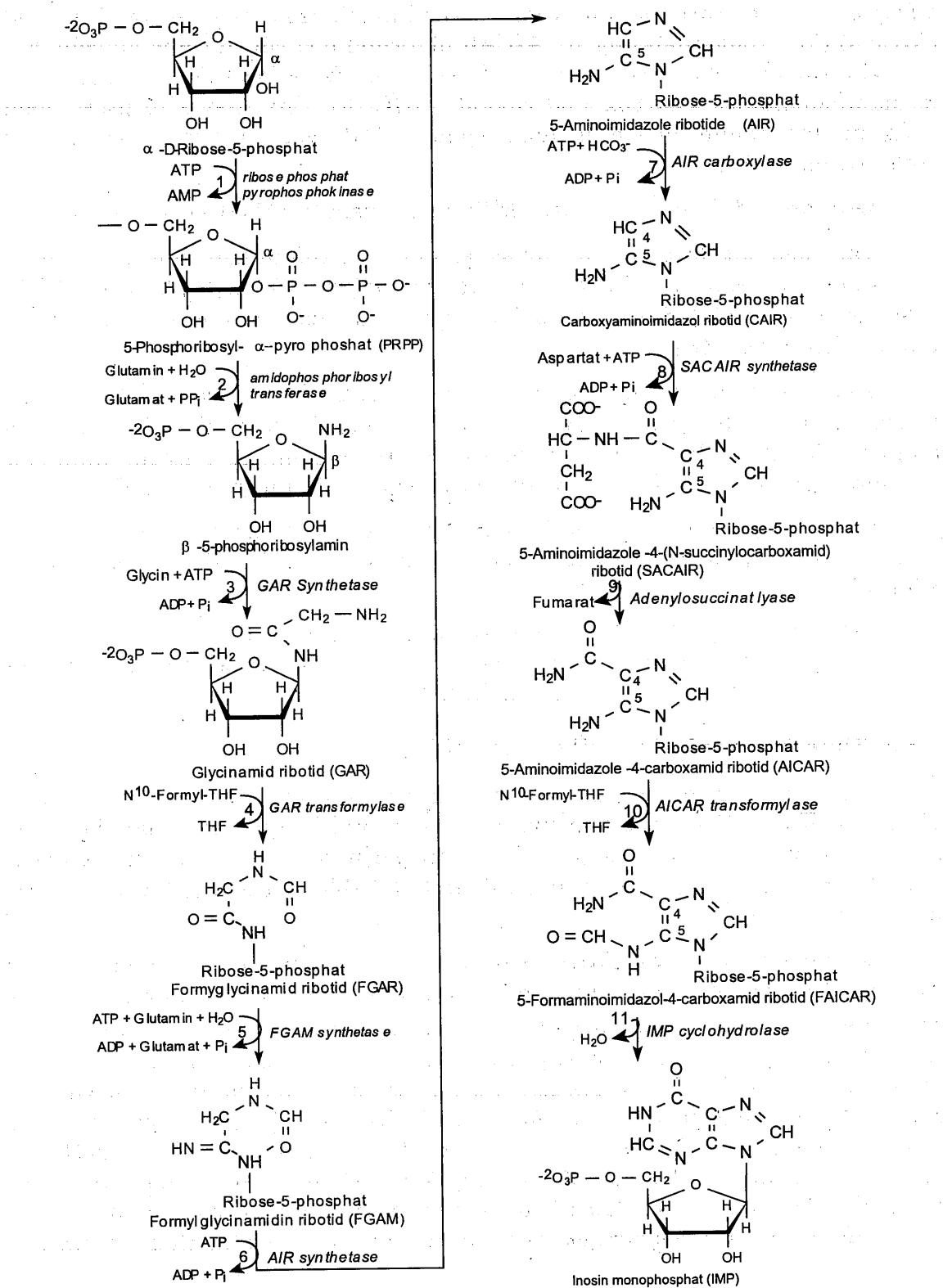
Như vậy qua 4 giai đoạn trên, các base purin như adenin và guanin được hình thành đồng thời với sự tổng hợp nucleosid monophosphat tương ứng là AMP và GMP.

Điều hòa tổng hợp: sự tổng hợp các purin nucleotid được điều hòa bởi cơ chế điều hòa ngược trong đó nồng độ các purin nucleotid được tạo thành ức chế lại các enzym tham gia phản ứng tổng hợp.

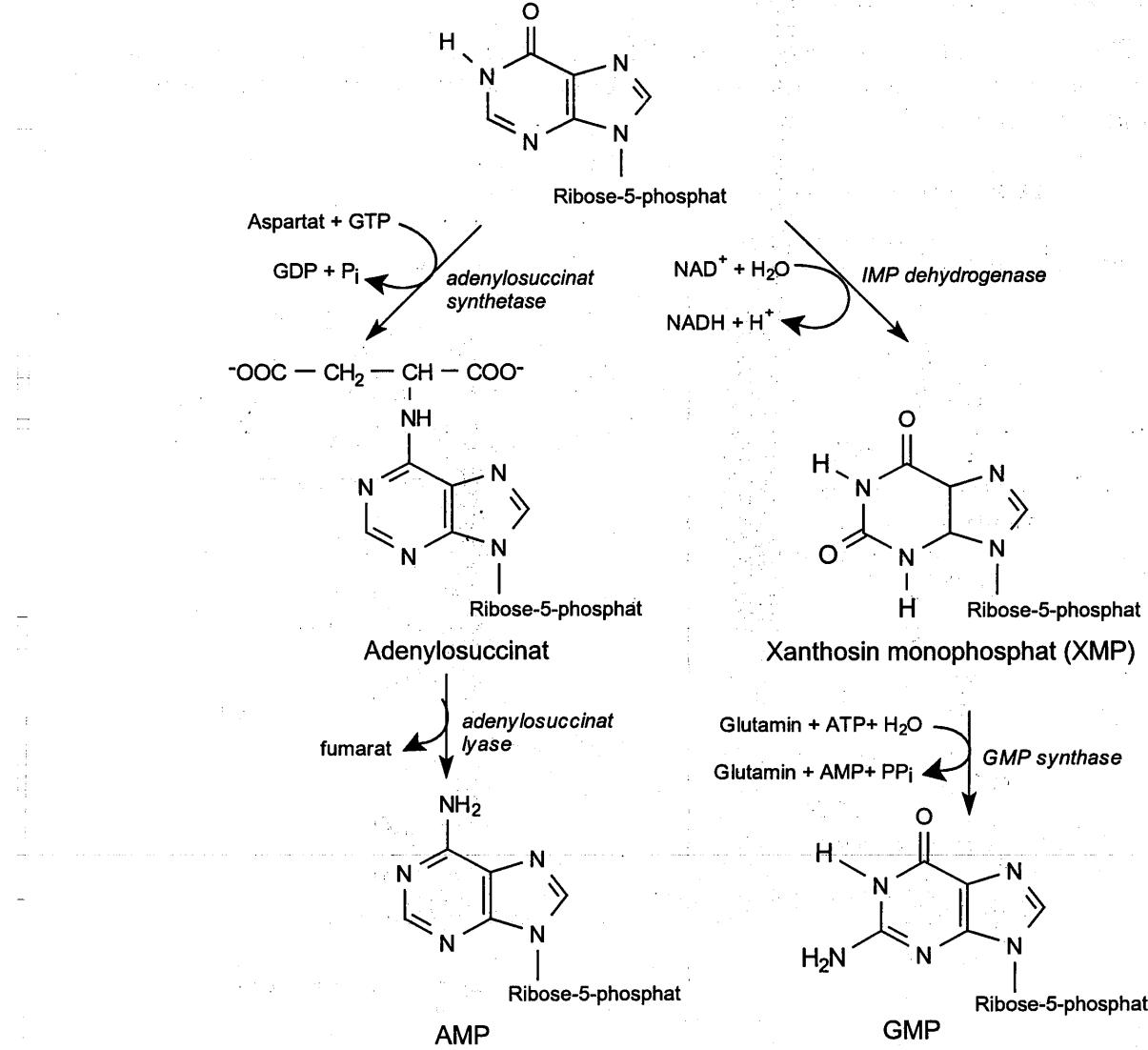
1.2.2. Tổng hợp pyrimidin ribonucleotid

Pyrimidin nucleotid được tạo thành từ aspartat, PRPP và carbamoyl phosphat. Khác với sự tổng hợp của purin nucleotid là: quá trình này đơn giản hơn so với quá trình tổng hợp purin; nhân pyrimidin được hình thành trước dưới dạng orotat sau đó orotat gắn với PRPP. Có thể chia quá trình này thành hai giai đoạn:

Giai đoạn 1. Sự tạo thành orotat: nguyên liệu đầu tiên được sử dụng là carbamoyl phosphat và aspartat. Carbamoyl phosphat là chất trung gian trong chu trình urê. Ở động vật, carbamoyl phosphat trong chu trình urê được tổng hợp dưới tác dụng của carbamoyl phosphate synthetase I. Trong khi carbamoyl phosphate trong tổng hợp pyrimidin được tổng hợp ở bào tương với sự xúc tác của carbamoyl phosphate synthetase II. Carbamoyl phosphate kết hợp với aspartate với sự xúc tác của enzym *aspartate transcarbamoylase* tạo thành carbamoyl aspartat. Chất này đóng vòng để tạo thành dihydroorotat dưới tác dụng của *dihydroorotate dehydrogenase* có coenzym là NAD⁺ để tạo thành orotat.



Hình 11.4. Con đường tổng hợp IMP gồm 11 phản ứng với sự xúc tác của các enzym đặc hiệu



Hình 11.5: Quá trình tổng hợp AMP và GMP từ IMP

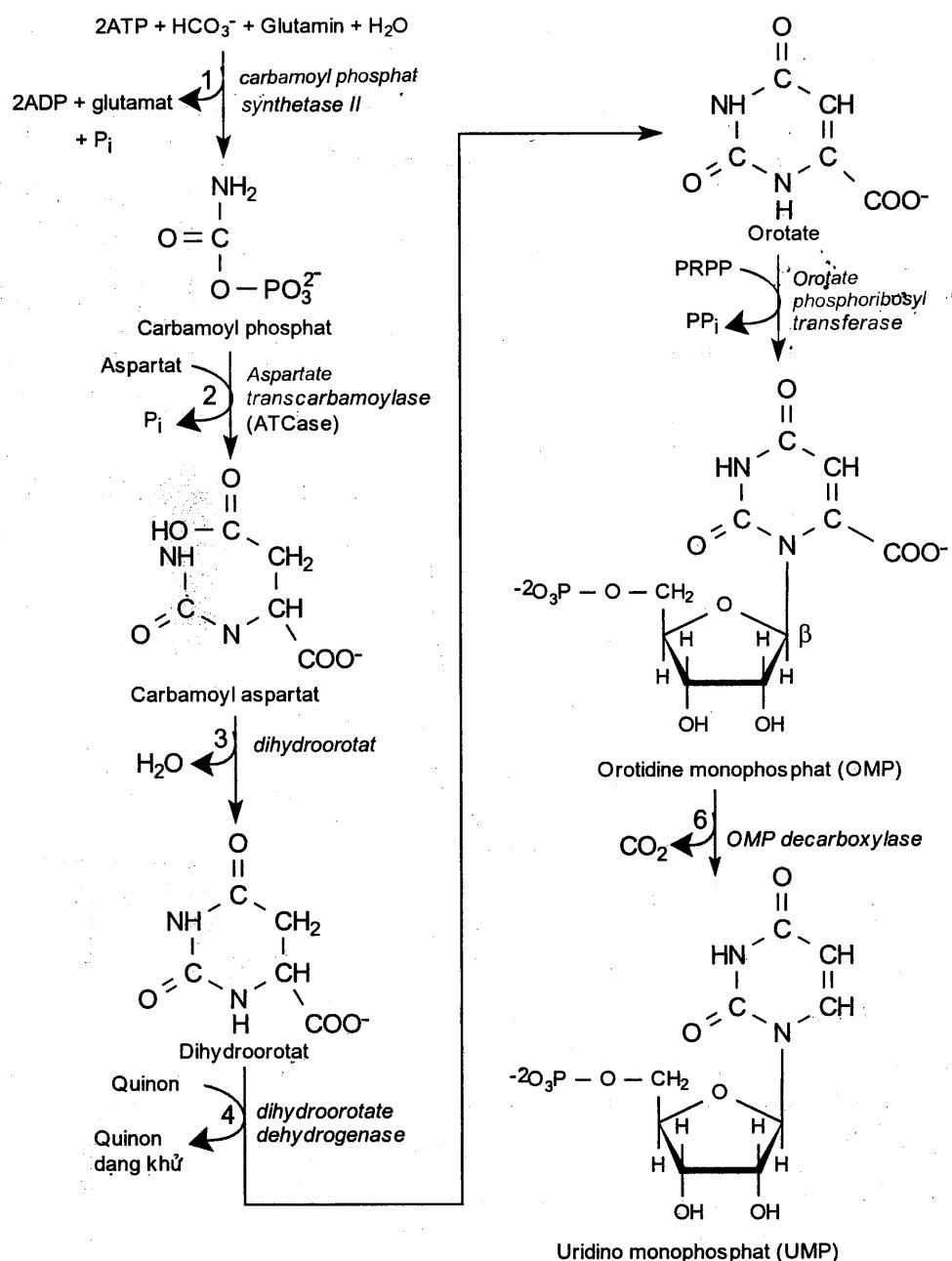
Giai đoạn 2. Tạo thành pyrimidine nucleotid:

Tạo thành uridylat: Orotat tác dụng với PRPP với sự xúc tác của enzym *orotate phosphoribosyl transferase* tạo thành orotidine monophosphat (OMP). Sau đó OMP bị khử carboxyl tạo thành uridine monophosphat (UMP).

Tạo thành cytidylat: UMP phosphoryl hóa hai lần nhờ enzym *kinase* để tạo thành uridylate - 5 - triphosphat (UTP). UTP được amin hóa ở vòng pyrimidin tạo thành cytidine - 5 - triphosphat (CTP) dưới tác dụng của enzym *cytidylate synthetase*. Ở động vật, chất cho nhóm amin là glutamin còn ở vi khuẩn chất cho nhóm amin là NH_4^+ .

1.2.3. Tổng hợp deoxyribonucleotid

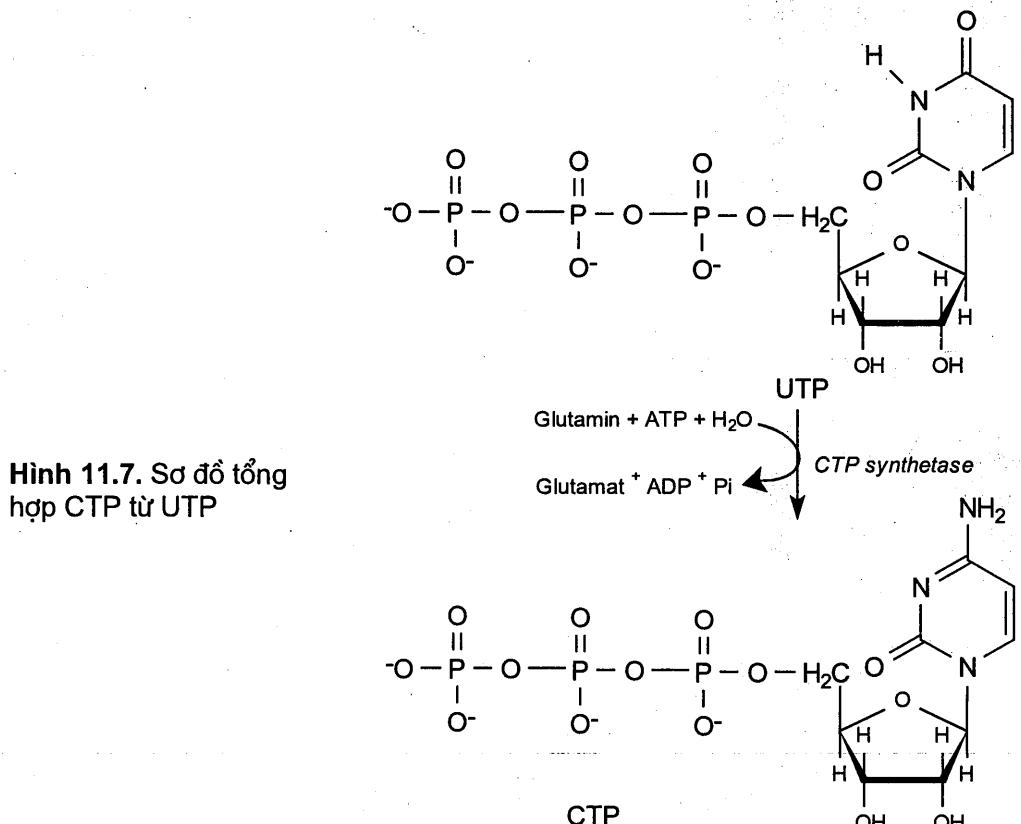
Thay vì được tổng hợp trực tiếp từ nguyên liệu ban đầu, các deoxyribonucleotid được tổng hợp từ các ribonucleotid tương ứng thông qua quá trình khử oxy ở vị trí C₂.



Hình 11.6: Quá trình tổng hợp UMP gồm 6 phản ứng hóa học với sự xúc tác của enzym

Con đường tận dụng:

Trong con đường này các base purin và pyrimidin được tổng hợp trong tế bào từ các sản phẩm chuyển hóa trung gian của quá trình thoái hóa. Con đường này hoàn toàn khác so với con đường tân tạo.



2. CHUYỂN HÓA ACID NUCLEIC

Tất cả các tế bào của cơ thể sống đều có khả năng tự tổng hợp acid nucleic cần thiết cho mình và không yêu cầu phải bổ sung acid nucleic trong thức ăn. Vì vậy hàm lượng acid nucleic trong thức ăn không có ý nghĩa quan trọng đối với cơ thể. Trong tế bào, sự đổi mới của DNA chậm hơn nhiều so với RNA. Sự đổi mới của DNA xảy ra ở những tế bào đang phân chia và phát triển. Còn lượng RNA thì lại phụ thuộc vào tốc độ sinh tổng hợp protein.

2.1. Thoái hóa của acid nucleic

2.1.1. Thoái hóa DNA: các nuclease thủy phân liên kết phosphodiester trong DNA còn có tên gọi là deoxyribonuclease gồm hai loại: exonuclease và endonuclease.

- *Exonuclease* là enzym thủy phân không chọn lọc. Enzym này cắt một nucleotid ở đầu 5 hoặc đầu 3 để tạo ra một oligonucleotid ngắn hơn.

- *Endonuclease* là enzym thủy phân liên kết phosphodiester ở giữa chuỗi polynucleotid.

2.1.2. Thoái hóa RNA: thời gian bán hủy của các RNA rất khác nhau. Các nuclease thủy phân liên kết phosphodiester trong RNA được gọi là *ribonuclease* và cũng gồm hai loại là *exonuclease* và *endonuclease*.

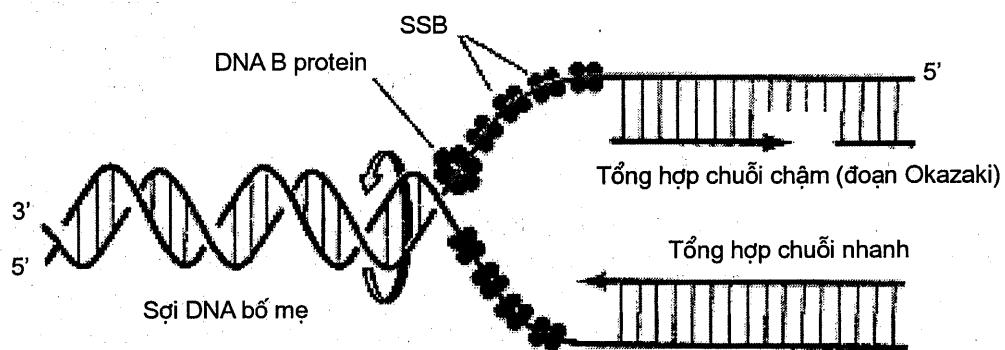
– *Exonuclease*: cho đến nay, có nhiều loại RNA *exonuclease* đã được tinh chế, ví dụ như: RNA II có tác dụng thuỷ phân chuỗi đơn RNA theo chiều từ 3 → 5 và sản phẩm thủy phân là các ribonucleotid-5'-phosphat. Trong khi enzym RNase V có tác dụng thuỷ phân chuỗi đơn RNA theo chiều 5 → 3 và sản phẩm cũng là các ribonucleotid-5'-phosphat.

– *Endonuclease* tạo sản phẩm là 5-phosphat: trong nhóm này có RNase I kiềm thuỷ phân các liên kết phosphodiester bất kỳ tạo sản phẩm thuỷ phân là ribonucleosid-5'-P. RNase P có tác dụng trên các tiền phân tử RNA để tạo thành RNA hoàn thiện và các mẫu oligonucleotid. RNase H có tác dụng đặc hiệu với phân tử lai RNA-DNA, và sản phẩm thuỷ phân là chuỗi DNA đơn và các nucleosid-5'-monophosphat.

Với sự phối hợp của các *exonuclease* và *endonuclease*, các acid nucleic sẽ bị thuỷ phân tạo sản phẩm là các oligonucleotid ngắn và các mononucleotid. Các mononucleotid này hoặc được tận dụng để tổng hợp các polynucleotid theo con đường tận dụng, hoặc được thoái hóa tiếp tục để tạo sản phẩm cuối cùng.

2.2. Tổng hợp DNA

Quá trình tổng hợp DNA còn được gọi là quá trình tái bản (replication). Đây là một quá trình bảo tồn thông tin di truyền cho thế hệ sau.



Hình 11.8: Quá trình tái bản của DNA

Theo giả thiết của Watson và Crick, mỗi chuỗi DNA được sử dụng như một khuôn để tổng hợp những chuỗi DNA mới theo nguyên tắc bổ sung. Sự tái bản trước hết được khu trú ở một vùng và sau đó di chuyển dọc theo chiều dài của chuỗi DNA song song với sự mở xoắn kép. Vùng này có cấu trúc hình chữ Y nên được gọi là chạc ba tái bản của DNA. Tại vị trí này hai sợi DNA mới được tổng hợp với sự xúc tác của hệ thống đa enzym. Trong đó một sợi được tổng hợp liên tục (chuỗi nhanh) còn sợi kia được tổng hợp ngắt quãng (chuỗi chậm) trên

khuôn mẫu của mỗi sợi DNA mẹ. Quá trình tổng hợp chuỗi chậm tạo nên các đoạn Okazaki. Kết thúc quá trình tổng hợp, các đoạn Okazaki này được nối với nhau nhờ sự xúc tác của enzym DNA *ligase*.

2.2.1. Các enzym tham gia quá trình tổng hợp DNA

– **DNA helicase, Protein gắn với chuỗi đơn (SSB):** DNA helicase là enzym mở xoắn kép bao gồm **DnaB** protein có tác dụng tách hai chuỗi xoắn kép DNA bằng cách trượt dọc theo chiều dài của chuỗi DNA mẹ theo chiều 5 → 3 kèm theo sự thủy phân ATP (hoặc GTP hay CTP nhưng không phải UTP). Hai chuỗi đơn DNA tách riêng biệt được protein gắn với chuỗi đơn (single-strand binding protein viết tắt là SSB) bám vào để không cho hai chuỗi liên kết trở lại để có thể làm khuôn cho sự xúc tác tổng hợp của Pol III. Ngoài ra có helicase khác là Rep protein và PriA protein. Hai enzym này tham gia vào quá trình tái bản ở *E.coli*. Cả hai enzym này đều trượt dọc theo chiều dài của DNA theo chiều 3 → 5 kèm theo sự thủy phân ATP.

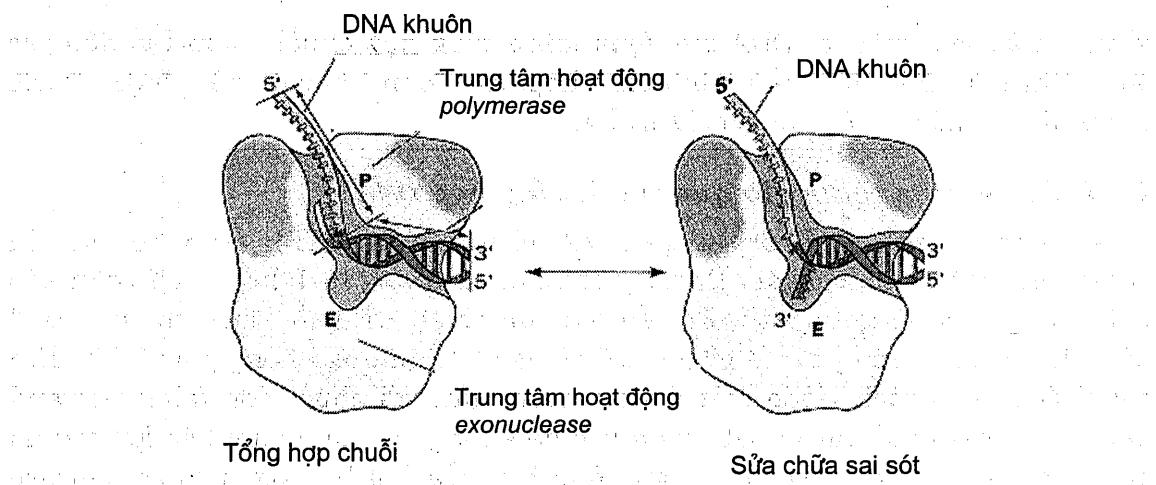
– **DNA gyrase (Topoisomerase):** *DNA gyrase* có tác dụng ngăn chặn không cho DNA xoắn kép trở lại tại chạc ba tái bản. Enzym này có vai trò quan trọng trong quá trình tái bản ở vi khuẩn. Một số kháng sinh có tác dụng ức chế DNA gyrase như novobiocin và acid oxolinic thông qua đó làm ngừng quá trình tái bản của DNA.

– **RNA primase (DnaG protein):** *RNA primase* thuộc nhóm enzym RNA *polymerase*, là enzym xúc tác tổng hợp những sợi RNA mồi ngắn (khoảng 10-60 nucleotid) liên kết bổ sung với chuỗi DNA mồi trong quá trình tổng hợp các đoạn Okazaki trong chuỗi chậm. Rifampicin là kháng sinh có tác dụng ức chế đặc hiệu RNA *polymerase* và cả *primase*. Người ta cho rằng cả hai enzym này phối hợp với nhau trong quá trình tổng hợp chuỗi nhanh.

– **DNA polymerase I (Pol I):** *DNA polymerase I* xúc tác sự tổng hợp DNA từ các deoxynucleosid triphosphat với sự có mặt của DNA làm khuôn. Phản ứng đòi hỏi trong môi trường phải có đầy đủ cả 4 loại deoxynucleosid triphosphat. Nếu thiếu một trong 4 loại thì sự tổng hợp DNA sẽ bị ngừng. *DNA polymerase I* là chuỗi polypeptid có 928 amino acid với hai trung tâm hoạt động là *DNA polymerase I* và *exonuclease* (3' → 5 và 5 → 3). Trong đó trung tâm *polymerase* có tác dụng kéo dài chuỗi theo chiều 5 → 3 còn 3 → 5 và 5 → 3 *exonuclease* có tác dụng sửa chữa những sai sót bằng cách cắt bỏ đoạn có sai sót này.

– **DNA polymerase II (Pol II):** Tác dụng của enzym này hiện nay chưa được biết rõ. *DNA polymerase II* cũng có hoạt tính *exonuclease* theo chiều 3 → 5 song không có hoạt tính exonuclease theo chiều ngược lại 5 → 3.

– **DNA polymerase III (Pol III):** enzym này có vai trò chủ yếu trong quá trình kéo dài chuỗi DNA mới theo chiều 5 → 3 ở *E. coli*. Pol III cũng chỉ có hoạt tính *exonuclease* theo chiều 3 → 5. Đây là một phân tử lớn có 13 tiểu đơn vị liên kết với nhau.



Hình 11.9: Cấu trúc và hoạt động của DNA polymerase I

- DNA ligase:** DNA ligase xúc tác việc nối các mảnh DNA sợi đơn (các đoạn Okazaki) thông qua việc tạo thành liên kết phosphodiester giữa đầu 3 hydroxyl của mảnh DNA này với đầu 5 phosphat của mảnh DNA khác với năng lượng từ ATP. DNA ligase có thể tham gia quá trình nối hai đầu sợi DNA bị đứt hoặc nối kín để tạo DNA vòng.

2.2.2. Giả thiết về sự tái bản DNA

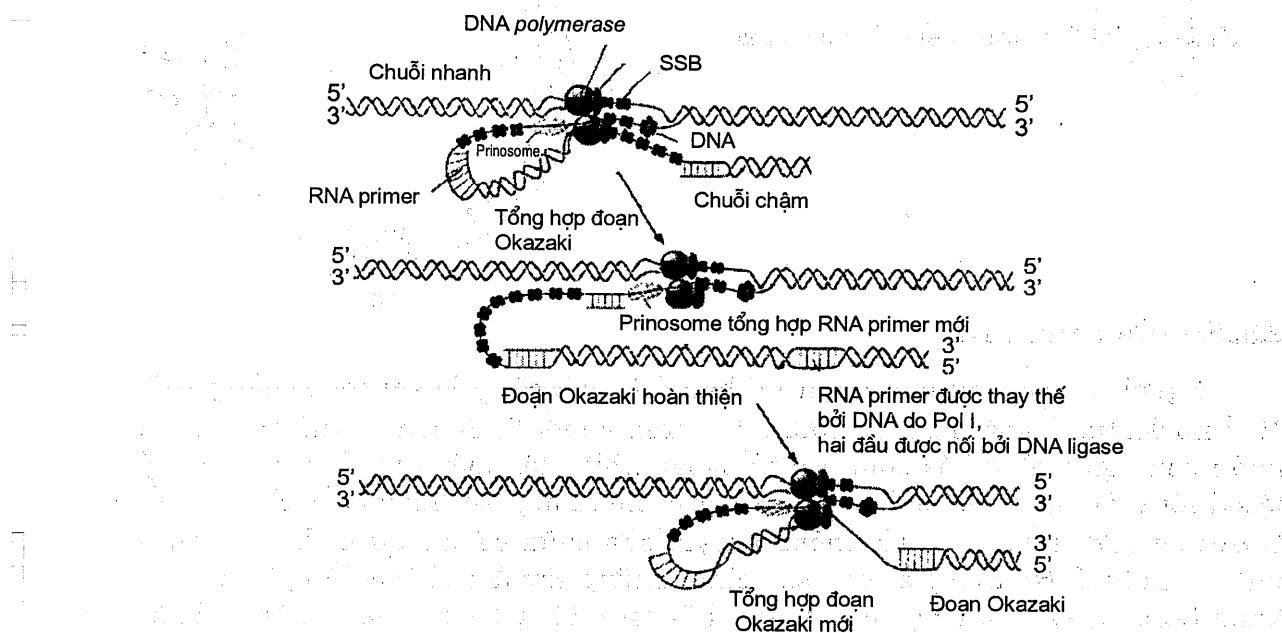
Kornberg đã đưa ra giả thiết về sự tái bản DNA ở *E.coli* với nhiều giai đoạn theo một trình tự sau:

- Giai đoạn mở đầu:** sự nhận diện điểm mở đầu: Ở *E.coli*, điểm mở đầu là đoạn oriC chứa 245 base. Tại đây, DnaA protein (52 kD) sẽ được gắn vào để tạo phức hợp mở đầu với sự tham gia của ATP và protein HU (tương tự như histon) để tạo phức hợp mở. Vùng giàu AT phía trái của đoạn oriC được mở xoắn. DnaA protein định hướng cho DnaB₆ và DnaC₆ gắn vào để tạo tiền phức hợp mồi (priming complex) và giải phóng DnaC. Tiếp theo với sự tham gia của SSB, gyrase và DnaB, enzym gyrase tiếp tục tháo xoắn chuỗi DNA ở vùng tiền phức hợp mồi theo cả hai hướng để tạo điều kiện cho primase và RNA polymerase gắn vào. RNA polymerase hoạt hóa primase tổng hợp đoạn RNA mồi theo nguyên tắc bổ sung.

Các mảnh RNA mồi này cần cho sự tổng hợp các đoạn Okazaki tại các điểm khởi đầu.

- Giai đoạn kéo dài:**
 - + DNA polymerase III xúc tác sự tổng hợp đoạn Okazaki nối tiếp với RNA mồi. Đoạn này được kéo dài tới đoạn RNA mồi tiếp theo.
 - + RNA mồi được tách ra dưới tác dụng của exonuclease của DNA polymerase I. Enzym này đồng thời xúc tác phản ứng kéo dài chuỗi DNA thế chỗ cho vị trí RNA mồi.

- + Các đoạn Okazaki được nối với nhau nhờ sự xúc tác của enzym DNA ligase thông qua sự hình thành liên kết phosphodiester giữa hai đầu tự do của đoạn DNA mới được tổng hợp.

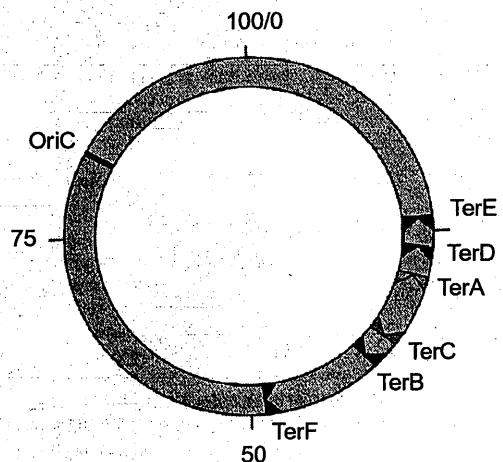


Hình 11.10. Các giai đoạn của quá trình tái bản của DNA

Các giai đoạn trên thuộc quá trình tổng hợp chuỗi chậm (tổng hợp không liên tục). Song song với quá trình này còn có quá trình tổng hợp chuỗi nhanh (tổng hợp liên tục). Người ta cho rằng quá trình tổng hợp chuỗi nhanh cũng có sự xúc tác của enzym DNA polymerase III.

- Giai đoạn kết thúc: Vùng gen mà quá trình tái bản kết thúc khá lớn và kẹp giữa các gen Ter E, TerD và TerA ở cùng một vị trí và gen Ter F, TerB và TerC ở một vị trí khác. Mỗi gen này có chiều dài khoảng 23 đôi base với trật tự các base ngược xuôi không giống nhau (nonpalindrome). Chạc ba tái bản (theo chiều ngược kim đồng hồ) vượt qua các gen Ter F, TerB và TerC nhưng kết thúc khi gặp các gen Ter E, TerD và TerA. Tương tự, chạc ba tái bản (theo chiều kim đồng hồ) lại vượt qua các gen Ter E, TerD và TerA song bị dừng lại khi gặp gen Ter F, TerB và TerC. Như vậy vùng gen kết thúc có hai cực, cho phép chạc ba tái bản dừng tại đó chứ không vượt qua. Quá trình này cần sự tham gia của Tus protein (309 acid amin) (terminator utilization substance). Sau đó với sự xúc tác của các enzym topoisomerase hai chuỗi DNA mới được tách khỏi DNA mẹ.

Hình 11.11. Quá trình kết thúc sự tái bản



2.3. Sự sửa chữa DNA

Người ta ước tính quá trình tái bản ở *E. coli* có tỷ lệ sai sót khoảng 10^{-9} - 10^{-11} nucleotid. Ngoài ra các thương tổn trên chuỗi DNA còn có thể do các tác nhân bên ngoài như: hóa chất, tia tử ngoại, nhiệt độ, phóng xạ sở dĩ có được tỷ lệ sai sót thấp như trên là do trong tế bào có hệ thống các enzym sửa chữa chuỗi DNA mới được tổng hợp. Hệ thống enzym sửa chữa có thể được chia thành 4 nhóm chính: 1) Hệ thống enzym sửa chữa những cặp đôi không đúng trong quá trình tái bản; 2) Hệ thống enzym sửa chữa theo từng base (thiếu, thừa, sai); 3) Hệ thống enzym sửa chữa theo cách cắt đoạn nucleotide; 4) Hệ thống enzym sửa chữa trực tiếp đối với di-pyrimidin và O₆-methylguanin.

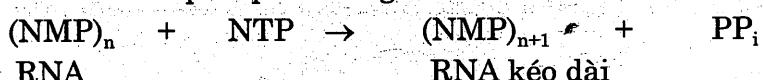
2.4. Sự tổng hợp RNA (sự sao chép)

Sự tổng hợp RNA là quá trình chuyển thông tin di truyền từ DNA sang phân tử RNA. Quá trình này dựa trên nguyên tắc giống như sự tái bản DNA như: 1) Chiều tổng hợp từ 5' 3'; 2) Năng lượng do ATP cung cấp. Tuy nhiên cũng có một số điểm khác như: 1) Khuôn DNA được bảo tồn hoàn toàn trong quá trình tổng hợp RNA; 2) *RNA polymerase* không có hoạt tính của *nuclease*; 3) Quá trình tổng hợp không cần có sự tham gia của mồi.

2.4.1. Các enzym tham gia tổng hợp RNA

- *RNA polymerase* phụ thuộc RNA (*replicase*). Enzym này xúc tác sự nhân đôi RNA của virus trong tế bào chủ. Quá trình này còn được gọi là sự tái bản trực tiếp của RNA virus.

- *RNA polymerase* phụ thuộc DNA. Enzym này xúc tác phản ứng tổng hợp RNA từ các nucleosid triphosphat bằng cách kéo dài chuỗi RNA theo phản ứng:



Ở *E. coli*, *RNA polymerase* phụ thuộc DNA không chỉ tổng hợp mRNA mà còn tổng hợp cả tRNA và rRNA. Enzym này gắn với *RNA polymerase* để nhận biết

vị trí khởi đầu sự sao chép. Ở tế bào có nhân, *RNA polymerase I* xúc tác quá trình tổng hợp rRNA. *RNA polymerase II* xúc tác quá trình tổng hợp mRNA còn *RNA polymerase III* xúc tác quá trình tổng hợp tRNA và snRNA (RNA nhỏ của nhân).

2.4.2. Các giai đoạn của quá trình tổng hợp RNA

Không giống với *DNA polymerase*, *RNA polymerase* không cần mồi để bắt đầu tổng hợp. Tuy vậy sự tổng hợp chỉ bắt đầu xảy ra ở một vùng đặc biệt gọi là promoter. Đây là một đoạn DNA định hướng có tác dụng quyết định hướng di chuyển của *RNA polymerase* thường nằm ở vị trí nucleotid -70 đến +30. Tại đây có vị trí mở đầu cho sự tổng hợp RNA cùng với các vùng liên ứng (consensus sequence). Ở *E. coli*, *RNA polymerase* bao trùm một vùng rộng lớn của DNA khi nó liên kết với promoter. Cấu trúc xoắn của DNA sẽ được mở theo chiều của quá trình sao chép bằng cách vặn ngược lại với chiều vòng cuộn.

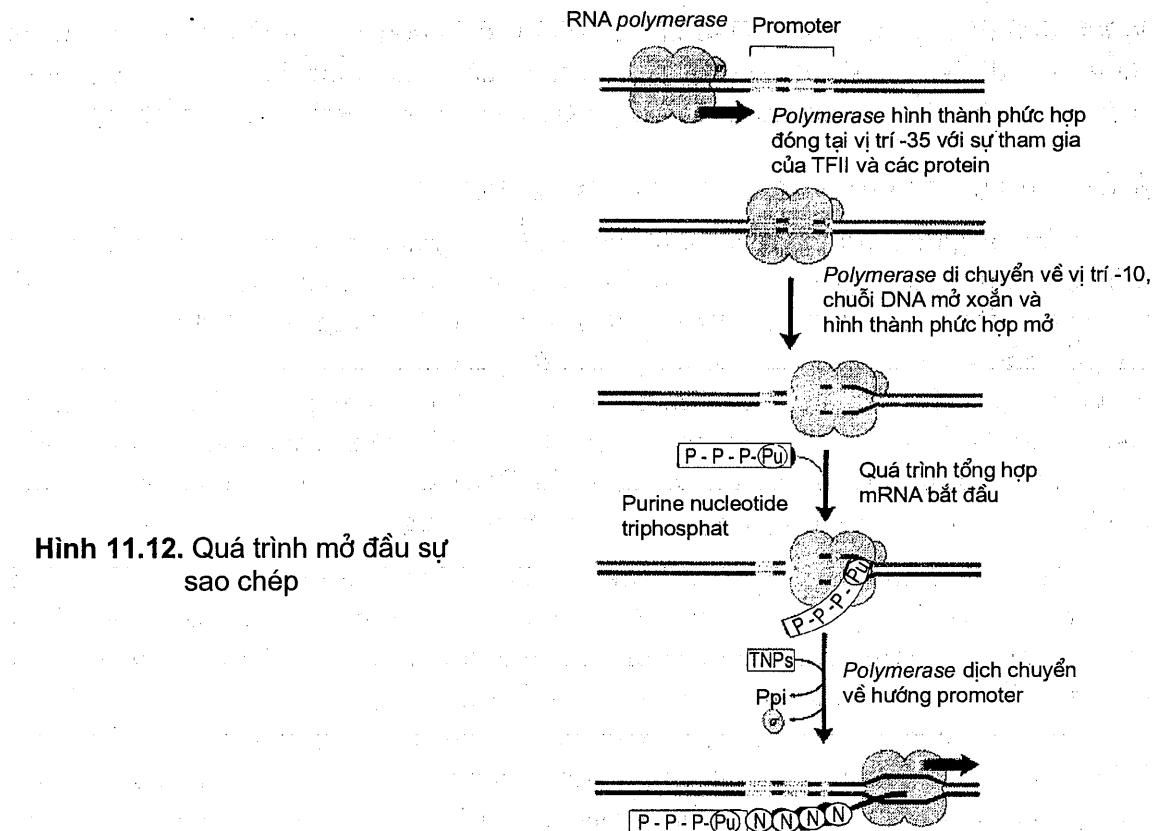
– Giai đoạn mở đầu: *RNA polymerase* liên kết với promoter trên DNA ở vị trí -35 tạo thành phức hợp đóng với sự tham gia của các yếu tố sao chép TRII (transcription factor) cùng với các protein đặc hiệu. Sau đó *RNA polymerase* di chuyển đến vị trí -10 tạo thành phức hợp mở. Một vùng xoắn kép khoảng 17 cặp base được tháo xoắn. *RNA polymerase* xúc tác sự tổng hợp với sự tham gia của GTP hoặc ATP. Nhóm 5-triphosphat này không tách rời PPi mà được giữ lại trong suốt quá trình sao chép. Điều này chứng tỏ quá trình tổng hợp được diễn ra theo chiều 5 → 3. Đoạn ngắn RNA mới tổng hợp (khoảng 12 nucleotid) được xoắn kép tạm thời với DNA.

– Giai đoạn kéo dài chuỗi: phân tử *RNA polymerase* di chuyển dần theo chiều dài sợi DNA đã được tháo xoắn để lộ vùng khuôn sẽ được ghép bổ sung. Bằng cách này, chuỗi RNA được kéo dài theo chiều 5→3 với sự tham gia của các yếu tố kéo dài. Đoạn DNA tháo xoắn, sau khi đã được làm khuôn thì ngay tức thì được xoắn lại.

– Giai đoạn kết thúc: sau khi tổng hợp được một loạt các U, đoạn RNA trước đó có thể tự bổ sung thành đoạn kép đôi gấp khúc như kẹp tóc nhờ dấu hiệu kết thúc là một đoạn các nucleotid của DNA và thường có sự tham gia của yếu tố kết thúc Rho. Đoạn này chứa các nucleotid có tính chất bổ sung tạo thành cặp đôi xoắn kép. RNA ngừng tổng hợp, *RNA polymerase* giải phóng khỏi DNA, được dephosphoryl hóa để có thể bắt đầu một chu kỳ sao chép mới.

2.4.3. Các chất ức chế tổng hợp RNA

– Rifampicin ức chế *RNA polymerase* ở vi khuẩn. Amanitin ức chế *RNA polymerase* ở tế bào có nhân. Actinomycin D ngăn cản sự chuyển dịch của *RNA polymerase* trên chiều dài DNA, kết quả là ngăn trở sự tổng hợp RNA.



Hình 11.12. Quá trình mở đầu sự sao chép

2.5. Quá trình hoàn thiện của các RNA sau sao chép

Các RNA ngay sau khi được tổng hợp là những phân tử tiền RNA. Các phân tử RNA này sẽ trải qua một quá trình hoàn thiện để tạo thành các RNA trưởng thành (còn gọi là các RNA hoàn thiện) với sự xúc tác của các enzym có bản chất là RNA (ribozym). Quá trình này bao gồm: 1) Cắt bỏ các đoạn intron và biến đổi một số base trong phân tử; 2) Tạo mũ ở đầu 5'; 3) Thêm đuôi poly A ở đầu 3' (đối với mRNA).

2.5.1. Sự hoàn thiện mRNA

Ngay sau khi mới tổng hợp, mRNA ở dạng tiền mRNA có trọng lượng phân tử lớn hơn so với phân tử mRNA hoàn thiện. Quá trình hoàn thiện bao gồm 3 giai đoạn sau:

– **Cắt đoạn intron (splicing):** cho đến nay có 3 cách cắt đoạn intron đã được phát hiện và được chia thành 3 nhóm: 1, 2 và 3.

+ Nhóm 1: cắt đoạn intron theo cách này đòi hỏi có sự tham gia của một phân tử guanine nucleosid. Nhóm OH 3 của guanin nucleosid tạo thành liên kết phosphodiester với OH 5 của đoạn intron. Sau đó nhóm OH 3 của đoạn exon trước sẽ nối với nhóm OH 5 của exon sau và giải phóng đoạn intron.

+ Nhóm 2: theo cách này, cần có sự tham gia của một phân tử adenosin monophosphat ngay trong đoạn intron để tạo thành cầu nối giữa 2 đầu intron được cắt bỏ.

+ Nhóm 3: cắt đoạn intron theo cách này cần thiết phải có sự tham gia của một phức hợp protein-RNA đặc biệt gọi là phức hợp ribonucleoprotein trọng lượng phân tử nhỏ (snRNPs). Các snRNA kết hợp với intron để tạo thành thể ghép nối spliceosome với sự tham gia của ATP. Sau đó đoạn intron bị tách rời ra và hai đoạn exon được nối liền.

- **Tạo mǔ 7-methylguanosin ở đầu 5 ở tế bào có nhân:** đầu 5 của chuỗi mRNA mới được tổng hợp bao giờ cũng là nucleosid triphosphat. Một gốc phosphat được thủy phân nhờ enzym *phosphohydrolase* để tạo nucleosid diphosphat. Dưới tác dụng của *guanyltransferase*, GTP được gắn vào và giải phóng pyrophosphat. Sau đó dưới tác dụng của guanine- 7-methyltransferase nhóm methyl được gắn vào nhân guanin.

- **Gắn thêm đuôi poly A:** quá trình gắn thêm đuôi poly A không đơn giản là gắn thêm các adenosin monophosphat vào đầu 3 của chuỗi mRNA mới được tổng hợp. Sự sao chép được kéo dài quá chỗ mà đuôi poly A sẽ được gắn thêm vào. Sau đó dưới tác dụng của enzym *riboendonuclease*, một đoạn nucleotid sẽ được cắt đi để tạo nhóm OH tự do ở đầu 3. Ngay lập tức các mǔ adenylat được gắn thêm vào với sự xúc tác của polyadenylate *polymerase* theo phản ứng:



Trong đó n có thể từ 20-250. Enzym này không đòi hỏi khuôn và mRNA đóng vai trò như RNA mồi để kéo dài.

2.5.2. Sư hoàn thiện tRNA (RNA vận chuyển)

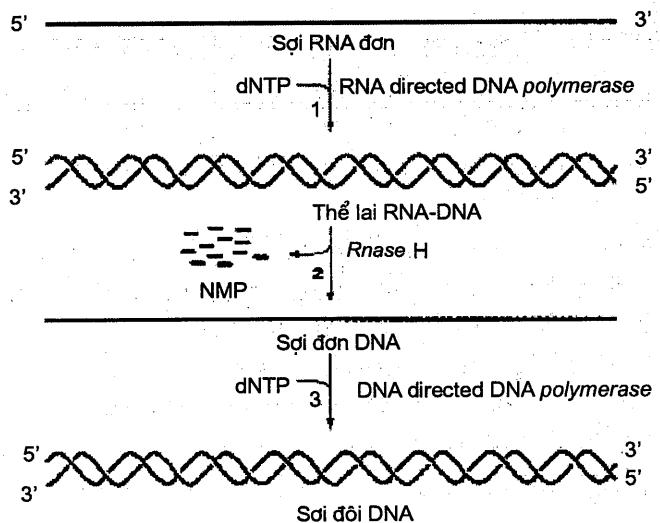
Quá trình hoàn thiện tRNA diễn ra theo các bước sau:

- Cắt các nucleotid ở đầu 5 với sự xúc tác của endonuclease là RNase p. Các nucleotid đầu 3 được cắt nhờ enzym *exonuclease* là RNase d.
- Cắt bỏ đoạn intron nhờ enzym *endonuclease* sau đó nhờ ligase để nối liền hai đoạn exon.
- Gắn thêm 3 nucleotid CCA ở đầu 3 (đặc trưng cho các tRNA) nhờ enzym tRNA *nucleotidyltransferase*.
- Thay đổi một số base để tạo thành tRNA hoàn thiện. Có đến hơn 60 sự biến đổi các base và ribose trên các tRNA với sự xúc tác của hơn 100 các enzym khác nhau để tạo nên phân tử tRNA trưởng thành.

2.5.3. Sư hoàn thiện của rRNA (RNA ribosom)

Ở tế bào có nhân rRNA sau khi sao chép được hình thành dưới dạng tiền ribosom (preribosome) RNA 45S. Phân tử này được biến đổi tạo ra các rRNA 18S, rRNA 5,8S và rRNA 28S. Ở tế bào không nhân có sự tạo thành tiền rRNA

30S. Phân tử này cũng được biến đổi để tạo thành các rRNA 16S, rRNA 23S, rRNA 5S và một số tRNA.



Hình 11.3. Quá trình sao chép ngược

2.5.4. Sự sao chép ngược DNA từ RNA của virus

RNA của một số chủng virus ở động vật có khả năng sao chép ngược để tạo DNA. Khi tế bào bị nhiễm virus, RNA cùng enzym sao chép ngược của virus xâm nhập vào trong tế bào chủ. Enzym sao chép ngược này xúc tác quá trình tổng hợp DNA từ RNA của virus để tạo thể lai RNA-DNA. Với một số chủng virus (retrovirus), thể lai này có khả năng hòa nhập vào bộ gen của tế bào chủ (cơ chế gây ung thư của một số chủng virus). Tuy nhiên một số chủng virus khác thì lại không có khả năng này (adenovirus). Các chất có tác dụng ức chế quá trình sao chép ngược này được ứng dụng làm thuốc điều trị nhiễm virus ví dụ như thuốc AZT (3 azido 2, 3 dideoxythymine), thuốc điều trị HIV (human immunodeficiency virus) có tác dụng ức chế mạnh quá trình sao chép ngược của HIV.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày quá trình tổng hợp purin, ribonucleotid.
2. Trình bày quá trình tổng hợp pyrimidin ribonucleotid.
3. Trình bày quá trình thoái hóa purin nucleotide.
4. Trình bày quá trình thoái hóa pyrimidin nucleotid.
5. Các enzym tham gia quá trình tái bản DNA.
6. Các giai đoạn của quá trình tái bản bán bảo tồn của DNA.
7. Các giai đoạn của quá trình sao chép RNA.
8. Quá trình hoàn thiện mRNA.

Chương 12

SINH TỔNG HỢP PROTEIN

MỤC TIÊU

1. Phân tích vai trò các yếu tố tham gia quá trình sinh tổng hợp protein.
2. Trình bày bằng sơ đồ các giai đoạn sinh tổng hợp protein.
3. Phân tích cơ chế điều hòa sinh tổng hợp protein.

Sự tổng hợp protein còn gọi là sự dịch mã hay phiên dịch, tức là sự dịch mã di truyền từ mRNA sang trật tự acid amin trong phân tử protein.

Chức năng protein vô cùng quan trọng và phong phú: xúc tác phản ứng chuyển hóa chất (enzym), cấu trúc tế bào màng, vận chuyển chất (trong máu, qua màng),.... ví dụ một sinh vật đơn bào có tới hơn 3000 loại protein khác nhau.

Mọi sự sai lệch trong cấu trúc phân tử protein tổng hợp (do di truyền hoặc do quá trình sinh tổng hợp) cũng có thể dẫn tới những trạng thái bệnh lý nghiêm trọng của cơ thể sống.

Có sự khác nhau về sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân thật (loại đa bào - eucaryot) và tế bào nhân sơ (loại đơn bào - prokaryot).

1. SINH TỔNG HỢP PROTEIN Ở TẾ BÀO NHÂN SƠ

1.1. Các yếu tố tham gia

1.1.1. DNA (*Deoxyribonucleic acid*)

DNA là cơ sở vật chất của di truyền, và DNA quyết định cấu trúc đặc hiệu của protein được tổng hợp. Vì vậy DNA quyết định tính chất sinh học, chức năng của protein được tổng hợp. Mọi sự biến đổi trong cấu trúc di truyền của DNA sẽ dẫn đến sự thay đổi về cấu trúc của protein tổng hợp.

1.1.2. mRNA (*messenger ribonucleic acid*)

- DNA là nơi chứa đựng thông tin di truyền và nằm ở nhân tế bào (ở tế bào có nhân), còn mRNA là chất truyền thông tin di truyền từ DNA tới phân tử protein tổng hợp (ở bào tương tế bào).

- mRNA có thành phần và trật tự các mononucleotid phù hợp với đoạn DNA tương ứng (xem phần sinh tổng hợp RNA).

- mRNA quy định trật tự các acid min trong phân tử protein tổng hợp thông qua các bộ 3 mêt mă, mỗi bộ 3 mêt mă gồm 3 mononucleotid liền nhau.

- Có 4 loại mononucleotid (AUGC) tổ hợp thành các bộ 3 mêt mă chịu trách nhiệm mã hóa cho 20 acid amin. Người ta đã xác định các bộ ba mêt mă sắp xếp theo cách liên tiếp nhau, ví dụ: UAC GCU AAC GUU AUA CCG CUA

1.1.3. tRNA (*transfer ribonucleic acid*)

- Còn gọi là RNA hòa tan trong dịch bào, có chức năng gắn kết và vận chuyển acid amin trong bào tương tới nơi diễn ra quá trình tổng hợp protein là ribosom.

- Có 6 vị trí chức năng trên phân tử tRNA, trong đó có vị trí gắn acid amin (-CCA) và quan trọng là vị trí đổi mã tương ứng với bộ 3 mêt mă trên phân tử mRNA.

- Đến nay đã xác định được gần 60 loại tRNA

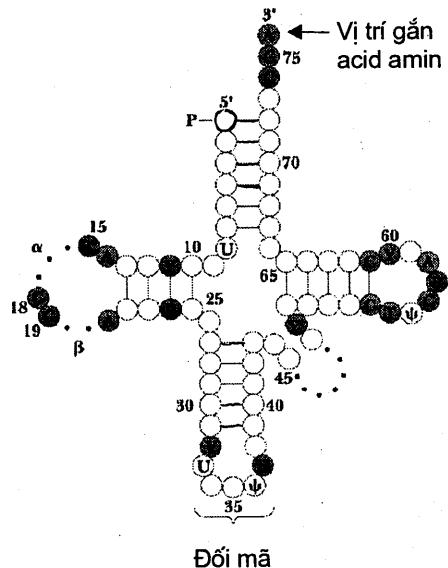
1.1.4. rRNA (*ribosomal ribonucleic acid*)

- rRNA kết hợp với các protein đặc biệt tạo nên ribosom, là nơi diễn ra quá trình tổng hợp protein.

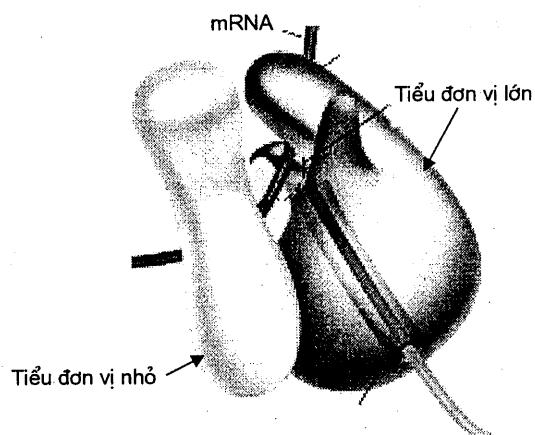
- Ribosom của mọi tế bào đều gồm 2 tiểu đơn vị, ở tế bào nhân sơ là 30S và 50S tạo nên ribosom 70S. Trên ribosom có các vị trí chức năng khác nhau cần cho tổng hợp protein.

- Phần lớn ribosom ở dạng tự do trong bào tương và phần nhỏ gắn với lưới nội bào tuỳ theo cơ quan.

- Trong quá trình tổng hợp protein, nhiều ribosom gắn trên cùng một phân tử mRNA tạo thành polyribosom hay polysom.



Hình 12.1. tRNA (vận chuyển)



Hình 12.2. Cấu trúc của rRNA

1.1.5. Các enzym

- *Aminoacyl-tRNA synthetase*; xúc tác tạo phức hợp aa-tRNA. Enzym đặc hiệu với cả acid amin và tRNA tương ứng.
- *Peptidyl transferase*: xúc tác phản ứng tạo liên kết peptid trong quá trình tổng hợp protein.

1.1.6. Các yếu tố mở đầu, kéo dài, kết thúc

- Yếu tố mở đầu IF: ở tế bào không nhân có 3 yếu tố: IF₁, IF₂, IF₃ (hay F1, F2, F3).
- Yếu tố kéo dài EF: Có hai yếu tố EFT và EFG. EFT có 2 loại EFTu và EFTs. Cả hai đều có hoạt tính GTPase (thuỷ phân GTP giải phóng năng lượng cho sự chuyển aa-tRNA đến ribosom). EFG cần cho sự chuyển vị của peptidyl-tRNA.
- Yếu tố kết thúc: RF1, RF2, RF3.

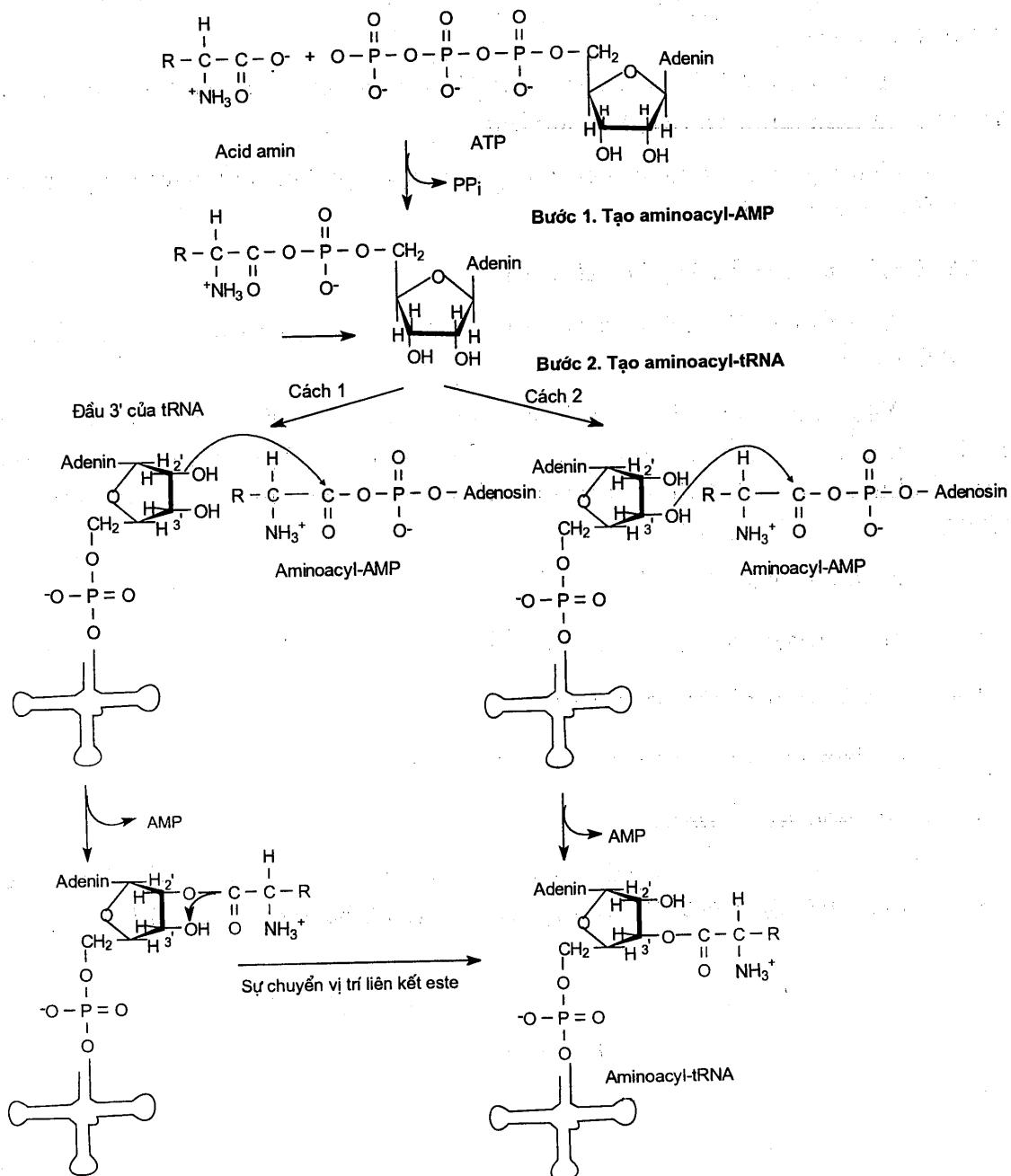
1.1.7. Năng lượng và các ion: ATP, GTP, Mg²⁺, NH₄⁺, K⁺

1.1.8. Nguyên liệu là 20 acid amin

1.2. Quá trình sinh tổng hợp protein

1.2.1. Hoạt hóa acid amin

Xảy ra ở bào tử tương nhờ xúc tác của enzym *aa-tRNAsynthetase*. Mỗi aa kết hợp đồng hóa trị với tRNA. Phản ứng diễn ra qua 2 bước như hình 12.3.



Hình 12.3. Hoạt hóa acid amin

1.2.2. Giai đoạn mở đầu chuỗi

Thông thường sự mở đầu tổng hợp protein đều bắt đầu acid amin methionin, mã hóa bởi bộ 3 AUG (mã mở đầu) nằm trên mRNA. Met tham gia mở đầu chuỗi polypeptid ở dưới dạng fMet-tRNA. Quá trình mở đầu tổng hợp protein diễn ra như hình 12.4.

Ribosom 70S không hoạt động ở trạng thái phân ly thành 2 tiểu phần 50S và 30S. Đầu tiên tiểu phần 30S gắn với IF3 và phức hợp này gắn với mRNA rồi gắn với IF1. Sau đó fMet-tRNA và GTP gắn với IF2 tạo thành phức hợp. Phức hợp này gắn với phức hợp 30S-IF3-mRNA-IF1 tạo nên phức hợp mở đầu và giải phóng IF3 cho phép tiểu phần 50S kết hợp với tiểu phần 30S. Thuỷ phân GTP gắn trên IF2 tạo năng lượng gắn 50S vào 30S giải phóng IF1 và IF2, tạo ribosom 70S hoạt động.

Kết quả của giai đoạn mở đầu là fMet-tRNA gắn vào vị trí P của ribosom tương ứng với mã mở đầu AUG của mRNA.

1.2.3. Giai đoạn kéo dài

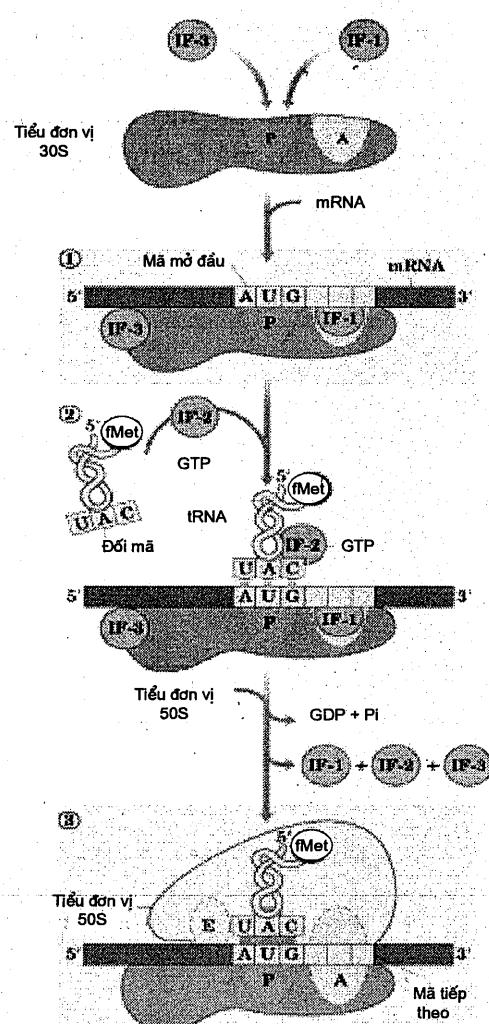
- Đây là quá trình lắp ráp các acid amin theo một trình tự nhất định đã được mã hóa ở mRNA để tạo thành chuỗi polypeptid đặc hiệu.

- Sau giai đoạn mở đầu vị trí P trên ribosom gắn với phức hợp fMet-aa và vị trí A trên ribosom trống sẵn sàng nhận acid amin tiếp theo. Tuỳ bộ ba mã hóa của mRNA ở vị trí.

A mã hóa cho a.a nào thì a.a đó sẽ được đưa đến dưới dạng phức hợp a.a - tRNA (ví dụ; GCU mã hóa cho Ala).

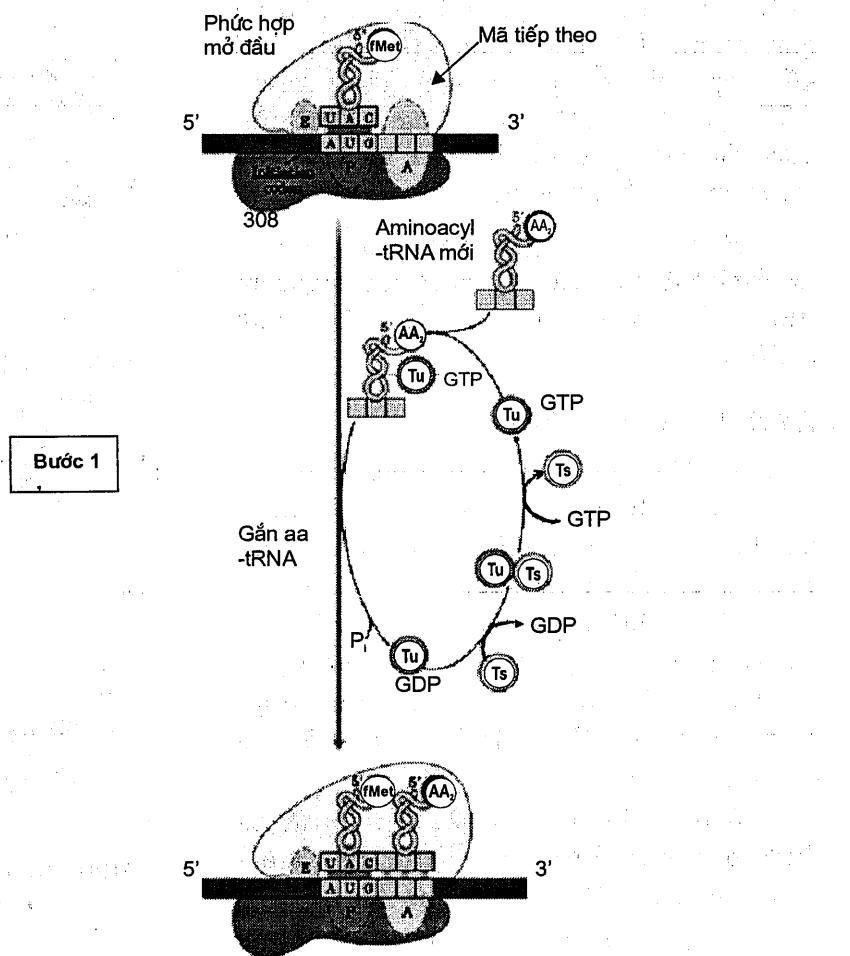
- GTP kết hợp với EF-Tu tạo phức hợp EFTu-GTP, phức hợp này kết hợp với Ala-tRNA tạo thành phức hợp bộ 3 EFTu- GTP-Ala-tRNA. Phức hợp bộ 3 này gắn vào vị trí A trên ribosom với bộ 3 đối mã tRNA gắn với bộ 3 mật mã GCU mRNA và cần năng lượng do GTP thủy phân. Sau đó phức hợp EFTu-GDP tách khỏi ribosom.

- Tiếp theo, nhờ sự xúc tác của *peptidyl transferase*, liên kết peptid được hình thành giữa nhóm amin của Ala-tRNA với nhóm carboxyl của fMet-tRNA tạo thành peptidyl -tRNA (fMet-Ala-tRNA) vẫn gắn ở vị trí A. Phản ứng này không cần năng lượng từ GTP mà lấy năng lượng từ sự thủy phân liên kết fMet-tRNA .

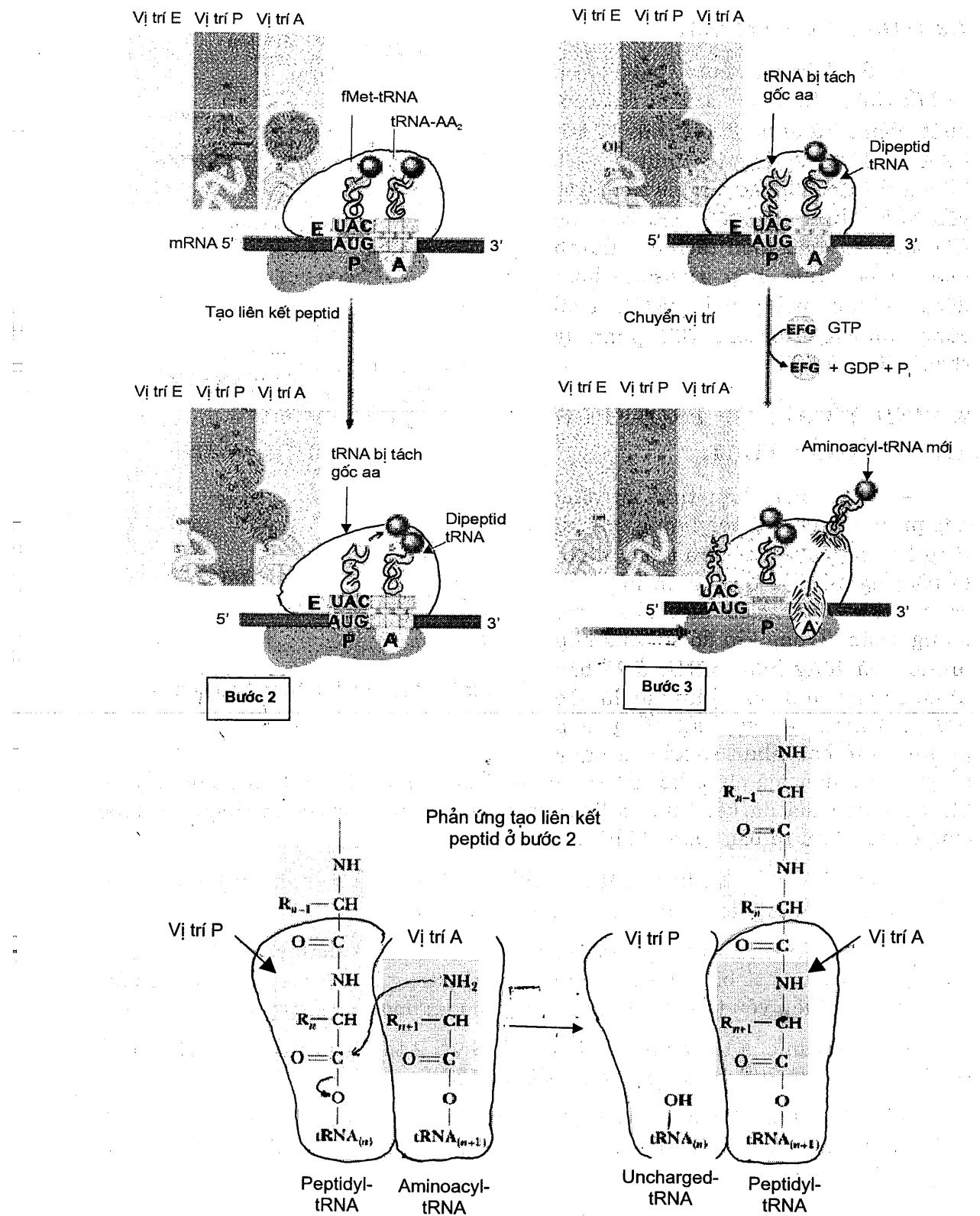


Hình 12.4. Giai đoạn mở đầu tổng hợp protein

- Sau khi liên kết peptid được hình thành, nhờ tác dụng của EFG (có gắn với CTP) ribosom trượt theo chiều 5'- 3' một khoảng tương đương với chiều dài một bộ 3密码子. Do đó peptidyl -tRNA chuyển từ vị trí A sang vị trí P. EFG tách khỏi ribosom. lúc này vị trí A lại ở trạng thái mở (trống) sẵn sàng nhận a.a -tRNA với bộ 3密码子 tương ứng, bắt đầu một chu kỳ kéo dài mới.



Hình12.5a. Giải đoạn kéo dài tổng hợp chuỗi protein



Hình 12.5b. Giai đoạn kéo dài tổng hợp chuỗi protein

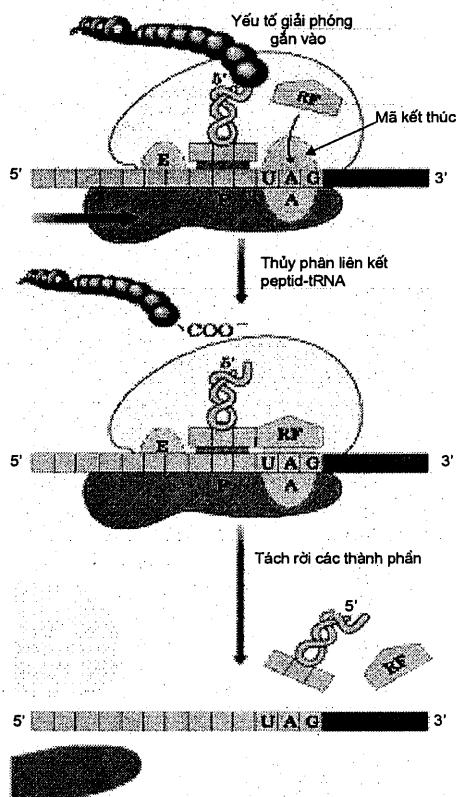
1.2.4. Giai đoạn kết thúc

- Sự kéo dài chuỗi polypeptid sẽ kết thúc khi vị trí A trên ribosom xuất hiện những bộ 3 kết thúc (UAG, UAA, UGA), nghĩa là những bộ 3 không mã hóa cho acid amin nào. Các yếu tố kết thúc RF₁, RF₂, RF₃ gắn vào ribosom tạo điều kiện tách các thành phần của phức hợp ribosom hoạt động: chuỗi polypeptid, tRNA cuối cùng, mRNA, ribosom 70S phân ly thành 30S và 50S.

2. SINH TỐNG HỢP PROTEIN Ở TẾ BÀO NHÂN THẬT

- Ở tế bào nhân thật sự tổng hợp protein xảy ra ở bào tương, còn sự tổng hợp mRNA lại xảy ra trong nhân tế bào; nghĩa là 2 quá trình này xảy ra ở 2 khu vực cách biệt nhau bởi màng nhân. Trong khi đó sự tổng hợp protein và tổng hợp mRNA ở tế bào nhân sơ xảy ra ở cùng khu vực là bào tương. Chính vì vậy sự tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ xảy ra ngay cả khi sự phiên mã chưa kết thúc. Còn ở tế bào nhân thật sự tổng hợp xảy ra khi sự phiên mã đã kết thúc, mRNA trải qua sự biến đổi hoàn thiện và được chuyển từ nhân ra bào tương tế bào.

- mRNA ở tế bào nhân thật sau khi tổng hợp phải trải qua một quá trình hoàn thiện phức tạp: loại bỏ intron, tạo mũ, tạo đuôi polyA.
- Về tổng quát sự tổng hợp protein ở tế bào nhân thật cũng giống với sự tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ. Tuy nhiên sự tổng hợp protein ở tế bào nhân thật đòi hỏi nhiều yếu tố tham gia hơn, và các giai đoạn phức tạp hơn.
- Ribosom của tế bào nhân thật là 80S với 2 tiểu phần 40S và 60S; còn ở tế bào nhân sơ là 70S với 2 tiểu phần 30S và 50S.
- Mỗi polypeptid được tổng hợp đều bắt đầu bằng một methionin chứ không phải là formyl methionin, và vì vậy phức hợp đầu tiên giữa acid amin và tRNA là Met-tRNA.
- mRNA của tế bào có nhân là các mRNA monocistron và mRNA ở tế bào nhân sơ là các mRNA polycistron. Nghĩa là mRNA của tế bào nhân thật chỉ có



Hình 12.6. Kết thúc tổng hợp protein

một điểm xuất phát, chỉ làm khuôn cho sự tổng hợp một protein. Trái lại, mRNA của tế bào nhân sơ có thể có nhiều điểm xuất phát và làm khuôn cho sự tổng hợp nhiều protein thường có liên quan với nhau trong một operon.

- Ở tế bào nhân thật, có nhiều yếu tố tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein hơn ở tế bào nhân sơ. Ví dụ ở giai đoạn mở đầu có các yếu tố eIF2, eIF3, eIF4a, eIF4b, eIF5, CPB.

3. SỰ HOÀN THIỆN CHUỖI PROTEIN SAU PHIÊN MÃ

Các chuỗi polypeptid sau tổng hợp phải trải qua một quá trình biến đổi gọi là sự hoàn thiện, bao gồm các quá trình:

1. Loại bỏ fMet (ở tế bào nhân sơ), Met (ở tế bào nhân thật) và một vài a.a ở đầu N-amin tận bởi enzym *deformylase* hoặc *aminopeptidase*.
2. Cắt bỏ đoạn peptid tín hiệu (khoảng 15-22 a.a) bởi các *peptidase* đặc hiệu đối với protein được tổng hợp để bài xuất ra ngoài tế bào.
3. Thay đổi một số acid amin riêng biệt: phosphoryl hóa Ser, Thr, Tyr ở các gốc OH (ví dụ casein sữa).
4. Gắn thêm các nhóm chức năng khác: một số protein gắn thêm các nhóm phụ tạo thành các phân tử có chức năng sinh học (Hem trong Hb, Cyt,...)
5. Cắt bỏ một số đoạn protein tạo protein ở trạng thái có hoạt tính sinh học (tiền enzym → enzym, tiền hormon → hormon,...)
6. Tạo các liên kết ngang nội chuỗi hoặc giữa các chuỗi hình thành cấu trúc không gian ổn định: liên kết disulfua (liên kết giữa các gốc cystein), liên kết hydro,...

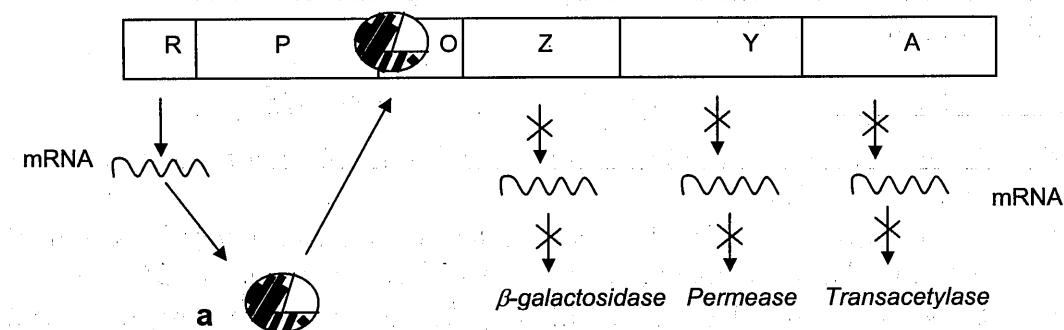
4. ĐIỀU HÒA SINH TỔNG HỢP PROTEIN

4.1. Hiện tượng cảm ứng tổng hợp (ví dụ: operon lactose)

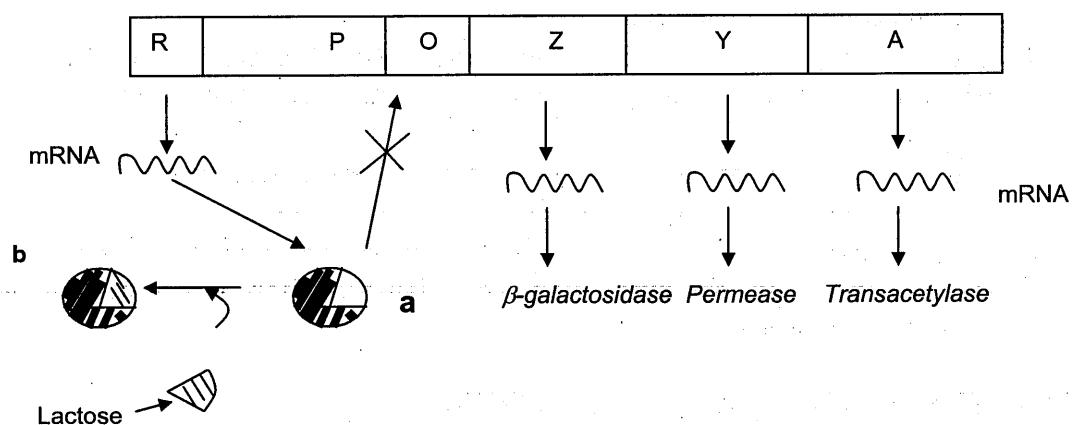
4.1.1. Hiện tượng. Nếu nuôi *E. coli* trong môi trường có glucose, *E. coli* phát triển bình thường. Nếu loại bỏ glucose trong môi trường và thay vào đó lactose, *E. coli* lúc đầu không phát triển và thấy có enzym β -galactosidase (có bản chất là protein). Enzym β -galactosidase là enzym thuỷ phân lactose thành galactose và glucose (hình 12. 7). Sau một thời gian, trực khuẩn *E. coli* phát triển và người ta thấy lượng enzym β -galactosidase tăng lên rất cao. Như vậy quá trình sinh tổng hợp protein là enzym đã tăng lên. Lactose chính là chất gây cảm ứng tổng hợp protein enzym.

4.1.2. Giải thích. Jacob và Monod (giải thưởng Nobel về Y học năm 1965) đã mô tả operon lactose như hình 12.7.

Trường hợp không có lactose (hình 12.7a)



Trường hợp có lactose (hình 12.7b)



Hình 12.7. Mô hình cảm ứng tổng hợp protein

(a: chất ức chế hoạt động; b: phức hợp chất ức chế-chất cảm ứng không hoạt động).

Một operon là một đoạn DNA có chứa 3 gen cấu trúc (Z, Y, A) mã hóa 3 enzym cần thiết của *E. coli* để có thể sử dụng được lactose:

Gen Y: mã hóa enzym *permease* là enzym giúp lactose chuyển qua màng vi khuẩn dễ dàng. Gen A: mã hóa enzym *acetylase* mà vai trò sinh lý chưa được biết. Gen Z: mã hóa enzym β -*galactosidase* có tác dụng thuỷ phân lactose thành galactose và glucose.

Ngoài gen cấu trúc, operon còn chứa :

Đoạn gen khởi động, ký hiệu P là vị trí gen gắn với *RNA polymerase* bắt đầu sự phiên mã

Đoạn gen chỉ huy, ký hiệu O là gen điều khiển hoạt động của các gen cấu trúc.

Đoạn gen điều hoà, ký hiệu R mã hóa một protein có tác dụng kìm hãm hoạt động của operon lactose nên gọi là chất kìm hãm.

+ Giải thích hiện tượng cảm ứng

Khi môi trường nuôi cấy vi khuẩn có glucose, vi khuẩn không cần sử dụng glucose từ lactose (và môi trường cũng không có lactose); thì operon lactose ở trạng thái bị kìm hãm không hoạt động, không tổng hợp ra các enzym sử dụng lactose.

Quá trình kìm hãm hoạt động xảy ra như sau:

Gen điều hoà R sản xuất một protein có ký hiệu là chất kìm hãm I. Chất I ở trạng thái hoạt động có khả năng nhận diện và gắn vào gen O của operon. Khi gen O gắn vào protein I, gen sẽ bị khoá và ngăn chặn không cho *ARNpolymerase* gắn vào gen P. Vì vậy, toàn bộ quá trình phiên mã của các gen cấu trúc sẽ bị ức chế, không tổng hợp ra các enzym sử dụng lactose.

Hiện tượng cảm ứng tổng hợp các enzym xảy ra khi glucose trong môi trường nuôi cấy bị thay thế bởi lactose. Vì khuẩn nếu muốn tồn tại sẽ phải sử dụng lactose. Chính vì lý do đó, vi khuẩn phải tổng hợp những enzym có thể thuỷ phân lactose thành glucose và galactose.

Khi có mặt lactose (tức chất cảm ứng), lactose kết hợp với chất kìm hãm I tạo thành một phức hợp và làm chất kìm hãm ở trạng thái không hoạt động mất khả năng nhận diện và gắn vào gen O. Toàn bộ operon được giải toả- "khử kìm hãm". Lúc này *ARNpolymerase* có thể kết hợp với vị trí khởi động P. Sự phiên mã mRNA của toàn bộ gen cấu trúc trong operon được thực hiện và sau đó là các enzym cần thiết cho việc sử dụng lactose được tạo thành.

* Có tồn tại một kiểu điều hoà tổng hợp protein khác gọi là điều hoà dương tính với sự tham gia của cAMP và protein CAP.

Khi có mặt cả glucose và lactose trong môi trường nuôi cấy *E. coli*, vi khuẩn sử dụng glucose trước tiên và việc sử dụng lactose bị kìm hãm.

Khi lượng glucose trong môi trường giảm (do bị sử dụng và không được bổ sung) thì lượng cAMP tăng. Sự tăng cAMP như là tín hiệu báo vi khuẩn bị đói. cAMP tăng sẽ kết hợp với một protein CAP (catabolic activator protein). Phức hợp cAMP-CAP kết hợp với vùng khởi động P và làm tăng ái lực gắn của vị trí P với *RNA polymerase* và vì vậy tăng cường sự phiên mã của các gen cấu trúc. Quá trình phiên mã có thể được tăng lên gấp nhiều lần.

4.2. Hiện tượng kìm hãm tổng hợp (ví dụ: operon tryptophan)

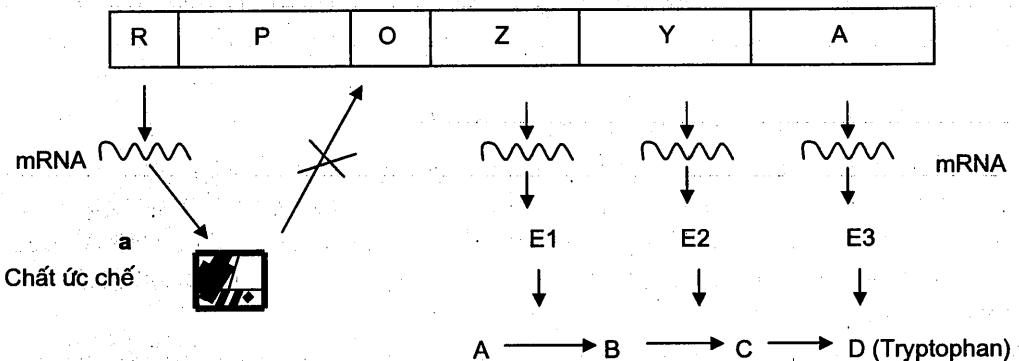
4.2.1. Hiện tượng

Tryptophan là một acid amin cần thiết đối với người, nhưng vi khuẩn có thể tổng hợp được acid amin này. Để tổng hợp tryptophan, vi khuẩn cần một số enzym xúc tác các phản ứng tổng hợp tryptophan. Tuy nhiên khi cho tryptophan vào trong môi trường nuôi cấy, người ta thấy lượng enzym E1, E2, E3 giảm đi. Như vậy, tryptophan đã kìm hãm tổng hợp các protein (E1, E2, E3).

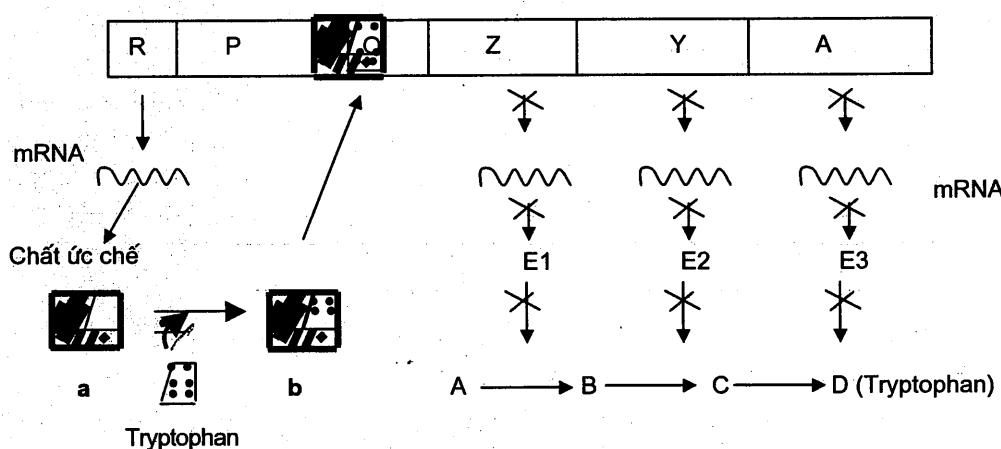
4.2.2. Giải thích

- Mô hình operon tryptophan cũng gồm các đoạn gen O, P, gen cấu trúc sản xuất ra các enzym E1, E2, E3 và gen điều hoà R sản xuất ra chất kìm hãm I.

Trường hợp không có tryptophan (hình 12.8a)



Trường hợp có tryptophan (hình 12.8b)



Hình 12.8. Mô hình giải thích hiện tượng kìm hãm tổng hợp protein.

(a: chất úc chế không hoạt động; b: phức hợp chất úc chế-chất cảm ứng hoạt động)

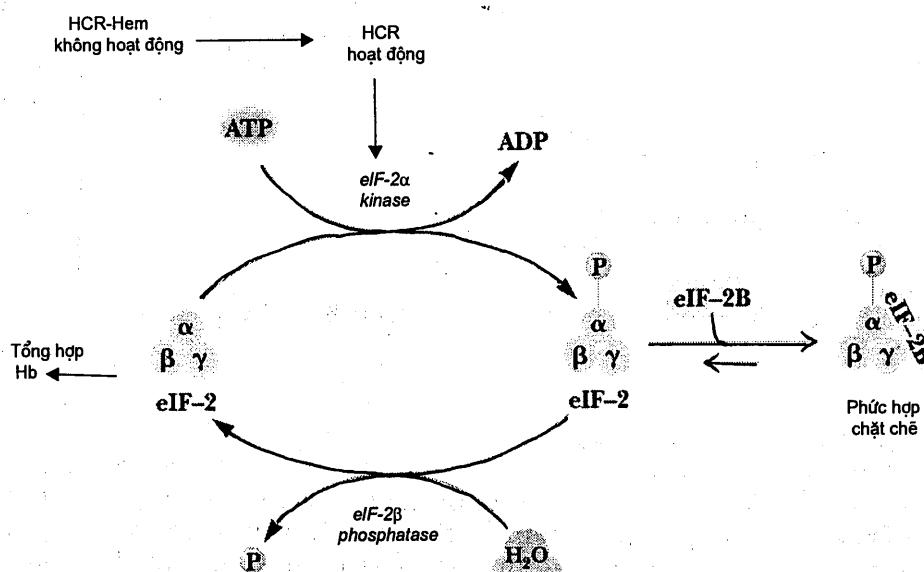
– Khi không có tryptophan, chất kìm hãm I được gen điều hoà sản xuất ra ở trạng thái không hoạt động. Nghĩa là nó không kết hợp với gen O, và RNA polymerase có thể tự do kết hợp với gen P và khởi động sự phiên mã của các gen cấu trúc tạo ra các enzym E1, E2, E3. Các enzym xúc tác các phản ứng tổng hợp ra tryptophan để vi khuẩn sử dụng.

– Khi cho tryptophan vào môi trường hoặc tryptophan đã được tổng hợp dư thừa, tryptophan sẽ kết hợp với chất kìm hãm I tạo thành phức chất hoạt động. Lúc này phức chất I sẽ kết hợp vào gen O ngăn chặn sự gắn RNA polymerase vào vị trí gen P. Vì vậy, các gen cấu trúc không phiên mã tổng hợp các enzym E1, E2, E3. Đây chính cơ chế điều hoà, tiết kiệm năng lượng sống của sinh vật.

5.3. Điều hoà sinh tổng hợp protein ở tế bào có nhân

5.3.1. Ví dụ về sự điều hoà tổng hợp chuỗi globin bởi Hem

Khi lượng hem trong tế bào tạo hồng cầu tăng sẽ tạo phức HCR-hem không hoạt động và vì vậy yếu tố mở đầu eIF-2 không bị ức chế (do phosphoryl hoá) sẽ khởi đầu quá trình tổng hợp các phân tử globin để tạo Hb.

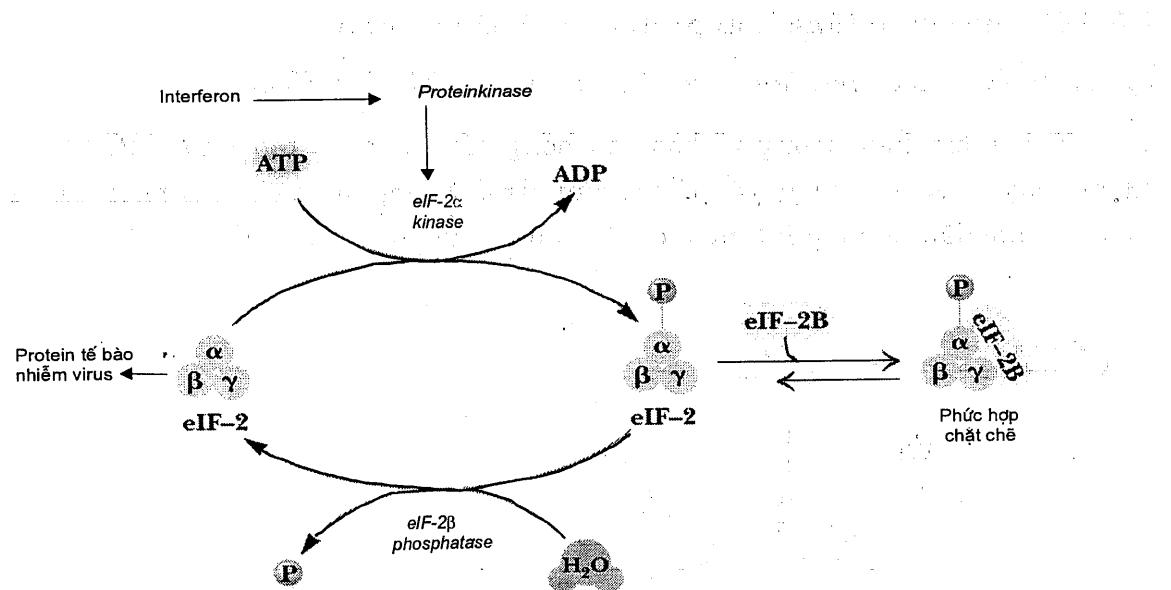


Hình 12.9. Điều hoà sinh tổng hợp globulin bởi hem

5.3.2. Ví dụ về sự điều hoà tổng hợp protein bởi interferon

Khi tế bào bài tiết interferon, interferon sẽ hoạt hóa một loại *protein kinase*. Enzym này sẽ phosphoryl hóa yếu tố mở đầu eIF-2 và làm yếu tố này không hoạt động do tạo phức chât chẽ với IF-2B. Vì eIF-2 không hoạt động nên tế bào bị nhiễm virus sẽ không tổng hợp được những protein cần thiết cho nó và tế bào sẽ chết, kéo theo là virus không thể nhân lên được ở tế bào mà nó gây nhiễm.

Như vậy, điều hoà sinh tổng hợp protein ở tế bào có nhân không phải qua tác động ức chế hoặc hoạt hóa gen mà thông qua các yếu tố mở đầu tổng hợp protein.



Hình 12.10. Điều hoà sinh tổng hợp protein tế bào nhiễm virus bởi interferon

TÓM TẮT

Quá trình sinh tổng hợp protein diễn ra ở bào tương, cụ thể là ribosom của tế bào với nhiều yếu tố tham gia bao gồm: DNA, tRNA, rRNA, ribosom, các enzym, các yếu tố mở đầu, kéo dài, kết thúc, năng lượng, các ion và nguyên liệu là các acid amin. Quá trình tổng hợp protein có thể chia thành 5 giai đoạn: giai đoạn hoạt hóa acid amin, giai đoạn mở đầu, giai đoạn kéo dài, giai đoạn kết thúc và giai đoạn hoàn thiện chuỗi polypeptid mới được tổng hợp. Quá trình tổng hợp và điều hoà sinh tổng hợp protein có sự khác nhau giữa tế bào có nhân và nhân sơ. Tuy nhiên điều hoà sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân thật phức tạp hơn và chưa được hiểu biết đầy đủ.

CÂU HỎI ÔN TẬP

- Kể tên và phân tích vai trò của các yếu tố tham gia quá trình sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ.
- Để hoạt hóa một acid amin cần năng lượng là bao nhiêu ATP và quá trình diễn ra như thế nào.
- Trình bày bằng sơ đồ các giai đoạn hoạt hóa, kéo dài và kết thúc sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ? Để lắp ghép một acid min vào chuỗi polypeptid thì cần năng lượng là bao nhiêu ATP.
- Sự tổng hợp protein ở tế bào nhân thật có gì khác với tế bào nhân sơ.
- Những protein được tế bào tổng hợp và bài tiết ra ngoài tế bào được hoàn thiện có gì giống và khác cách hoàn thiện các protein không bài xuất ra ngoài tế bào.
- Giải thích cơ chế điều hoà sinh tổng hợp protein ở tế bào nhân sơ bằng những ví dụ cụ thể.

Chương 13

HÓA SINH MÀNG TẾ BÀO

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được cấu trúc của màng tế bào (tiểu biểu là màng bao tương): thành phần hóa học và mô hình cấu trúc của màng.*
2. *Trình bày được sự vận chuyển các chất qua màng bao tương tế bào theo cơ chế vận chuyển trực tiếp (bao gồm: vận chuyển thu động và vận chuyển tích cực).*

Màng tế bào bao gồm màng bào tương hay màng bì mặt tế bào (màng plasma), màng của các bào quan tế bào (như màng lưới nội nguyên sinh, màng ty thể, màng thể Golgi, màng nhân,...). Nhờ các màng mà tế bào cũng như các bào quan ngăn cách được với môi trường xung quanh chúng để duy trì các chức phận của mỗi tế bào và chức phận đặc trưng của từng bào quan tế bào. Trong các màng tế bào, màng bào tương đóng vai trò quan trọng trong sự kiểm tra và điều hoà nhiều chức phận cơ bản của tế bào như: chức phận sinh sản, chức phận biệt hóa, chức phận nhận diện và chức phận vận chuyển các chất qua màng,... Bởi vậy, nghiên cứu về màng giúp việc tìm hiểu và giải thích cơ chế bệnh nguyên, bệnh sinh của nhiều bệnh cũng như cơ chế tác dụng của thuốc trong điều trị bệnh.

Các phương pháp nghiên cứu về màng rất đa dạng, gồm 4 loại chính: phương pháp hóa lý (nhiều xạ tia X, cộng hưởng từ điện tử, quang phổ tử ngoại, quang phổ hồng ngoại,...), phương pháp nghiên cứu về siêu cấu trúc, phương pháp hóa sinh, phương pháp siêu hóa học tế bào điện tử.

1. CẤU TRÚC CỦA MÀNG TẾ BÀO

1.1. Thành phần hóa học của màng tế bào

Tất cả các màng tế bào có nguồn gốc khác nhau đều chứa đựng hai thành phần chính là protein và lipid. Carbohydrat cũng là một thành phần quan trọng của nhiều màng tế bào. Tỷ lệ giữa thành phần lipid và protein thay đổi rất khác nhau trong các màng khác nhau, phản ánh tính đa dạng về chức năng sinh học của các màng.

1.1.1. Lipid màng tế bào

Thành phần lipid thay đổi rất khác nhau giữa các loại màng, gồm chủ yếu là phospholipid và cholesterol.

Phospholipid: chủ yếu là phosphatidyl cholin (PC), phosphatidyl ethanolamin (PE), phosphatidyl serin (PS), phosphatidyl inositol (PI), sphingomyelin (SM). Ngoài ra còn có phosphatidyl glycerol (PG), diphosphatidyl glycerol (DPG) hay cardiolipin, phosphatidic acid (PA). Cardiolipin là phospholipid đặc hiệu của màng trong ty thể.

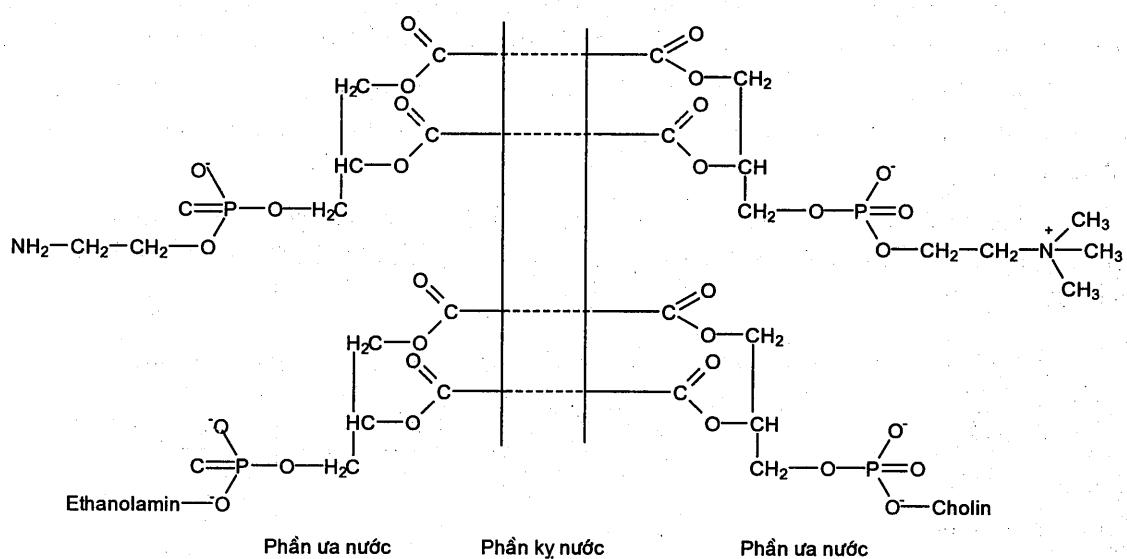
Hầu như tất cả các acid béo tìm thấy trong thành phần lipid màng của tế bào có nhân có số carbon là 16, 18 và 20. Các acid béo không bão hòa thường chứa một liên kết đôi, nhưng cũng có một số acid béo không bão hòa có 2, 3 hoặc 4 liên kết đôi; những liên kết đôi đều ở dạng cis. Những acid béo thường gặp là a.palmitic (16:0), a.stearic (18:0), a.oleic [18:1(Δ^9)], a.linoleic [18:2(Δ^9-12)], a.arachidonic [22:4($\Delta^{5-8-11-14}$)].

Cholesterol: chiếm tỷ lệ cao trong thành phần lipid của màng tế bào động vật có vú, không có trong hầu hết màng tế bào không nhân (prokaryotic). Phần lớn cholesterol ở dạng este hóa, liên kết lỏng lẻo với màng và liên quan mật thiết đến tính lỏng của màng.

Bảng 13.1. Thành phần lipid của các màng tế bào (%)

Nguồn gốc Màng	Cho	PC	PE	PI	PS	SM	PG	DPG	PA	GL
Gan chuột										
Màng bào tương	30,0	18,0	11,0	4,0	9,0	14,0	-	-	1,0	-
Màng lưới nội bào (thể có hạt)	6,0	55,0	16,0	8,0	3,0	3,0	-	-	-	-
Màng lưới nội nguyên sinh (thể không có hạt)	10,0	55,0	21,0	6,7	-	12,0	-	1,9	-	-
Màng trong ty thể	3,0	45,0	24,0	6,0	1,0	2,5	2,0	18,0	0,7	-
Màng ngoài ty thể	5,0	50,0	20,0	13,0	2,0	5,0	2,5	3,5	1,3	-
Màng nhân	10,0	55,0	20,0	7,0	3,0	3,0	-	-	1,0-	-
Màng thể Golgi	7,5	40,0	15,0	6,0	3,5	10,0	-	-	-	-
Màng lysosom	14,0	25,0	13,0	7,0	-	24,0	-	5,0	-	12,0
Màng myelin	22,0	11,0	14,0	-	7,0	6,0	-	-	-	3,0
Màng hồng cầu chuột	24,0	31,0	15,0	2,2	7,0	8,5	-	-	0,1	-
Màng bào tương E.Coli	0	0	80,0	-	-	-	15,0	5,0	-	

(Cho: cholesterol; GL: glycolipid)



Hình 13.1. Sơ đồ về sự sắp xếp của phospholipid màng

Lipid màng được sắp xếp thành 2 lớp: phần ưa nước (gồm các nhóm chức có khả năng tạo liên kết hydro, ví dụ: nhóm phosphat, nhóm $-OH, \dots$) hướng ra ngoài và phần kỵ nước (chứa các chuỗi acyl của acid béo) hướng vào trong.

1.1.2. Protein màng tế bào

Đặc tính của các màng rất thay đổi, là do sự thay đổi của protein tham gia cấu tạo màng. Protein màng có các chức năng: (1) vận chuyển các chất vào hoặc ra ngoài tế bào; (2) tiếp nhận các tín hiệu từ các hormon và các chất hóa học khác ở dịch gian bào, truyền các tín hiệu này vào trong tế bào; (3) giữ vai trò như những neo cho các thành phần cốt lõi của bào tương và dịch gian bào; (4) giữ vai trò về sự hợp nhất chọn lọc của tế bào trong quá trình biệt hóa và hình thành những nối đặc hiệu với các tế bào khác; (5) một số protein màng là những enzym liên kết màng, tham gia xúc tác các phản ứng hóa học ở những khu vực khác nhau trong tế bào.

Các acid amin của protein màng bao gồm acid amin có cực (ưa nước) như acid amin kiềm, acid amin acid; acid amin không phân cực (ky nước) hay acid amin trung tính. Cystein là acid amin chiếm tỷ lệ rất thấp trong thành phần của protein màng, do vậy protein màng có rất ít cầu nối disulfua.

1.1.3. Glucid màng tế bào

Phủ bên ngoài màng bào tương là lớp áo bề mặt mà thành phần hóa học là polysaccarid, được gọi là glycocalyx. Hiện nay, người ta biết được khoảng 200 loại glucid tham gia cấu tạo màng tế bào; bao gồm những monosaccarid và dẫn xuất của chúng, thường gặp là glucose, glucosamin, N-acetylglucosamin, galactose, galactosamin, N-acetylgalactosamin. Glucid màng bào tương hình như đóng vai trò trong quá trình biệt hóa và phát triển của tế bào.

Glucid màng ở dạng phức hợp, hoặc liên kết với protein như thành phần của glycoprotein, hoặc liên kết với lipid như thành phần của glycolipid.

Glycolipid: chiếm 2-20% lipid màng, gồm 3 loại: glycolipid trung tính, glycolipid acid chứa acid sialic, glycolipid acid chứa acid sulfuric hoặc acid phosphoric.

Glycoprotein: là những polysaccharid liên kết với protein màng; chúng tham gia trong thành phần của enzym màng, kháng nguyên bề mặt và các receptor màng.

Bảng 13. 2. Thành phần hóa học của một số màng tinh khiết của tế bào (%)

Các loại màng	Protein	Lipid	Carbohydrat
Myelin	18	79	3
Màng bào tương			
Hồng cầu người	49	43	8
Gan chuột	44	52	4
Amip	54	42	4
Màng trong ty thể	76	24	0
Diệp lục tố (rau spinach)	70	30	0

Tỷ lệ thành phần protein và lipid thay đổi rất khác nhau giữa các loại màng: màng trong ty thể có 76% là protein và 24% là lipid, màng myelin chỉ có 18% là protein nhưng tỷ lệ lipid cao 79%. Carbohydrat đặc biệt phong phú trong màng bào tương của tế bào có nhân nhưng lại không có ở màng trong ty thể, hạt diệp lục. Glycoprotein không có trong tất cả các màng của tế bào không nhân.

1.2. Cấu trúc của màng tế bào

Mặc dù thành phần hóa học có thể khác nhau, các màng sinh học đều được cấu trúc trên cơ sở một mẫu hình chung.

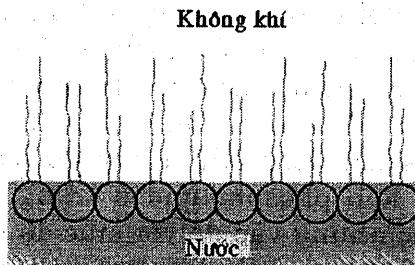
1.2.1. Nghiên cứu của Gortner E và Grendel F (1925)

Chiết xuất lipid của màng hồng cầu với số lượng hồng cầu nhất định. Từ lượng lipid thu được, các ông trải chúng trên bề mặt dung dịch nước. Trong điều kiện này, phospholipid màng hình thành một lớp phân tử duy nhất: các nhóm chức của đầu ưa nước hướng vào trong nước và các đuôi kỵ nước ngược vào trong không khí; diện tích của lớp đơn phân tử này (monolayer) xấp xỉ gấp 2 lần diện tích của tổng số màng hồng cầu được tách. Bởi vì hồng cầu không có các màng khác bên trong nên các ông cho rằng: lipid của màng được sắp xếp bởi một lớp kép (bilayer) nối tiếp nhau.

những thí nghiệm này cho thấy: các phân tử phospholipid khi được phân tán vào dung dịch nước sẽ tự hình thành hoặc những tấm kép hoặc những túi kín mà thành túi là lớp kép phospholipid. Kết quả này xảy ra với các loại phospholipid tinh khiết và với những hỗn hợp lipid giống như đã tìm thấy trong các màng tự nhiên.

Hình 13.2. Lớp đơn lipid

được hình thành trong nghiên cứu
của Gortner & Grendel



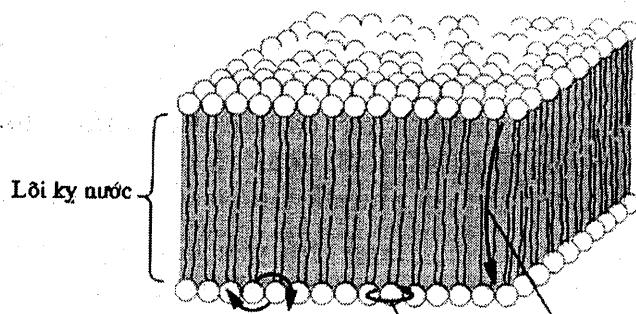
Những thí nghiệm tiếp theo cho thấy: các phân tử phospholipid khi được phân tán vào dung dịch nước sẽ tự hình thành hoặc những tấm kép hoặc những túi kín mà thành túi là lớp kép phospholipid. Kết quả này xảy ra với các loại phospholipid tinh khiết và với những hỗn hợp lipid giống như đã tìm thấy trong các màng tự nhiên.

1.2.2. Mô hình chung của cấu trúc các màng sinh học

Vào đầu những năm 1970, Singer SJ và Nicolson GL đã đưa ra “**mô hình khám lỏng**” (fluid mosaic model) của màng tế bào gồm một lớp kép phospholipid có các protein xuyên màng và protein rìa màng.

– *Lớp kép phospholipid (phospholipid bilayer)* là đơn vị cấu trúc cơ bản của màng sinh học. Phân tử phospholipid là phân tử phân cực: một phần ky nước và một phần ưa nước; nên móng tạo nên màng sinh học là tác dụng ky nước của các chuỗi acyl của acid béo trong phân tử phospholipid, vì tác dụng này dẫn đến sự hình thành lớp kép phospholipid – một tấm gồm 2 lớp phân tử phospholipid nối tiếp nhau- và các nhóm của đầu phân cực hướng về bề mặt có nước bao quanh, chuỗi acyl sẽ hình thành nối tiếp phần ky nước bên trong (phần giữa của lớp kép phospholipid).

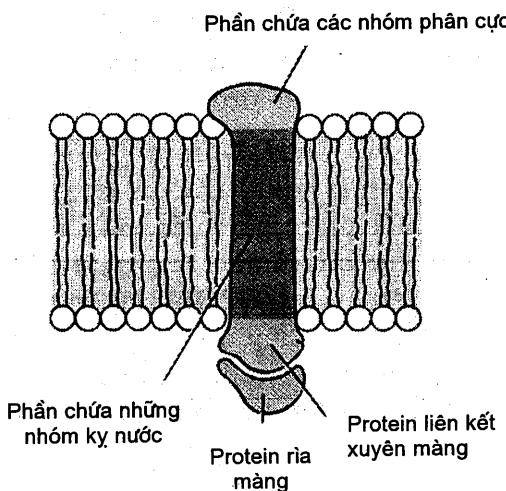
Hình 13.3. Mô hình lớp kép phospholipid (phospholipid bilayer) của màng sinh học



– Các protein màng sẽ liên kết với màng theo các phương thức khác nhau và phản ánh các chức năng khác nhau trong tế bào: một số protein chỉ liên kết ở bề mặt màng, một số protein có những vùng được chôn vùi trong màng và có những vùng khác nhô ra phía ngoài màng, một số protein bắc cầu qua màng từ mặt ngoài phía này sang mặt ngoài phía đối diện của màng. Dựa vào sự liên kết này, protein màng được chia thành hai loại:

+ Protein xuyêng màng (integral membrane protein): gọi là protein bên trong (intrinsic protein), chiếm 70-80% protein màng, hầu hết protein liên kết xuyêng màng không hoà tan trong nước. Protein liên kết xuyêng màng có một hoặc nhiều hơn những vùng được khảm vào trong lớp kép phospholipid theo mô hình khảm lỏng (fluid mosaic model of membrane): màng tế bào là hệ thống lớp kép phospholipid ở trạng thái lỏng và các phân tử protein được khảm hoặc nhúng vào đó với mức độ nông sâu khác nhau. Theo mô hình này, có thể hình tượng hóa: màng tế bào là một biển lỏng lipid, trong đó các phân tử protein như những cù lao trong biển lỏng (protein as islands in fluid sea of lipids). Có 3 loại liên kết giữ cho protein xuyêng màng khảm vào trong lớp kép lipid: (1) tương tác ion giữa những acid amin có cực của protein với những nhóm ở đầu phân cực của lipid, (2) liên kết ky nước giữa những gốc acid amin ky nước của phân tử protein với chuỗi acyl của acid béo ở phần lõi lipid màng, (3) liên kết đặc hiệu của protein với những cấu trúc xác định của lipid màng (ví dụ: những vùng có cholesterol hay phức hợp glycolipid).

Hình 13.4. Mô hình về sự tương tác của protein xuyêng màng và protein rìa màng với lớp kép lipid màng



Protein xuyêng màng liên kết chặt chẽ với màng và rất khó tách chiết, phải dùng những tác nhân mạnh có khả năng phá vỡ các liên kết của protein với phần lipid màng theo cơ chế: tác nhân phá vỡ (bao gồm: triton X-100, sodium dodecylsulfat-SDS, sodium deoxycholat,...) sẽ thay thế chỗ của phần lipid để tương tác với phần ky nước của phân tử protein.

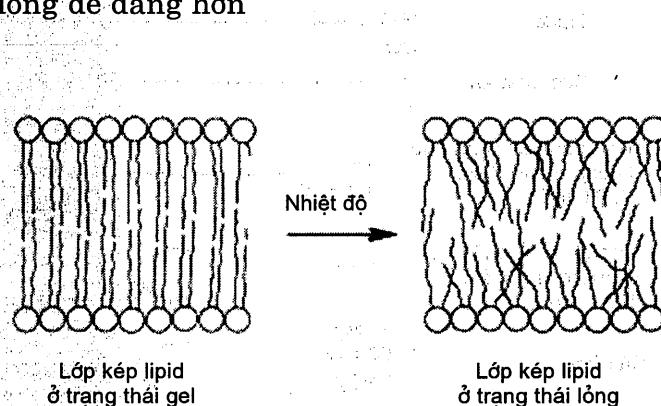
Protein xuyêng màng chủ yếu là các protein enzym, protein vận chuyển, protein kháng nguyên, protein nhận diện,...

+ Protein rìa màng (peripheral membrane protein): gọi là protein bên ngoài (extrinsic protein), chiếm 20-30% protein màng. Protein rìa màng không liên kết trực tiếp với phần lõi ky nước của phospholipid màng; chúng gắn với màng hoặc gián tiếp bởi liên kết với những protein xuyêng màng (liên kết đặc hiệu protein-protein), hoặc trực tiếp bởi liên kết với những nhóm của đầu phân cực của lipid màng (bao gồm những liên kết ion hoặc các liên kết yếu khác).

Hầu hết các protein rìa màng khu trú ở mặt ngoài màng bào tương của tế bào, giống như một số protein của lớp áo glycocalyx. Protein rìa màng là các protein của những enzym không liên kết màng, protein của các cấu trúc sợi và ống siêu vi nằm dưới màng bào tương tế bào.

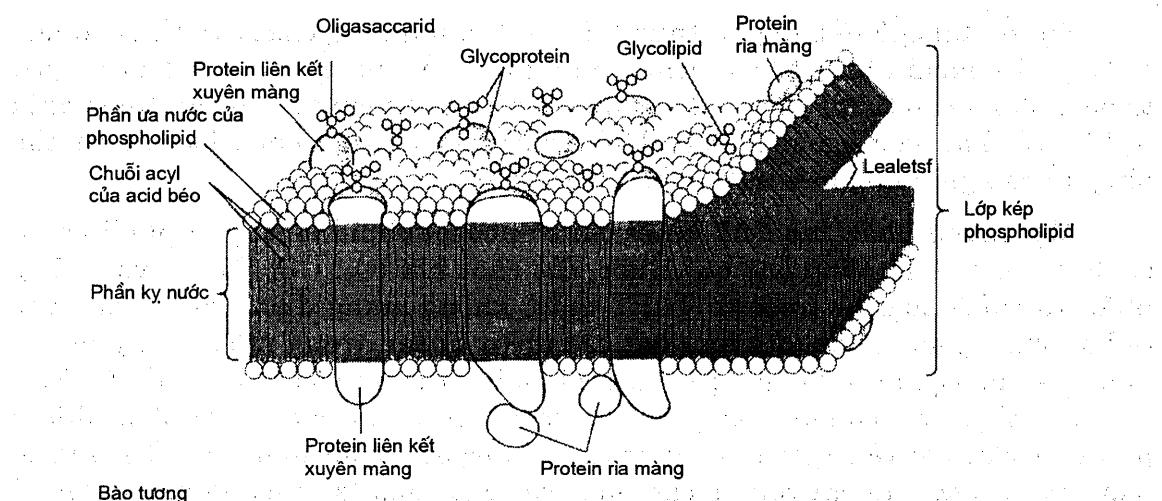
- Tính lỏng của màng:

+ Lớp đôi phospholipid hình thành tính lỏng hai bậc của màng tế bào: lipid có chuỗi acyl của acid béo mạch ngắn hoặc không bão hoà có sự chuyển dịch phase ở nhiệt độ thấp hơn so với lipid có chuỗi acyl của acid béo mạch dài hoặc bão hoà, bởi vì: chuỗi acyl mạch ngắn có diện tích bề mặt nhỏ hơn để hình thành liên kết Vander Waals với các phân tử khác và chuỗi acyl không bão hoà có những điểm uốn nên có khuynh hướng chấp nhận trạng thái lỏng ngẫu nhiên hơn và hình thành liên kết Vander Waals kém vững bền với các phân tử khác, tạo phase lỏng dễ dàng hơn



Hình 13.5. Các trạng thái thay đổi của lớp kép phospholipid màng tế bào

Màng tế bào của động vật và vi khuẩn có tỷ lệ các acid béo không bão hoà nhiều hơn so với acid béo bão hoà, bởi vậy màng tế bào có sự vững bền của lớp kép lipid ở trạng thái lỏng tại nhiệt độ thấp.

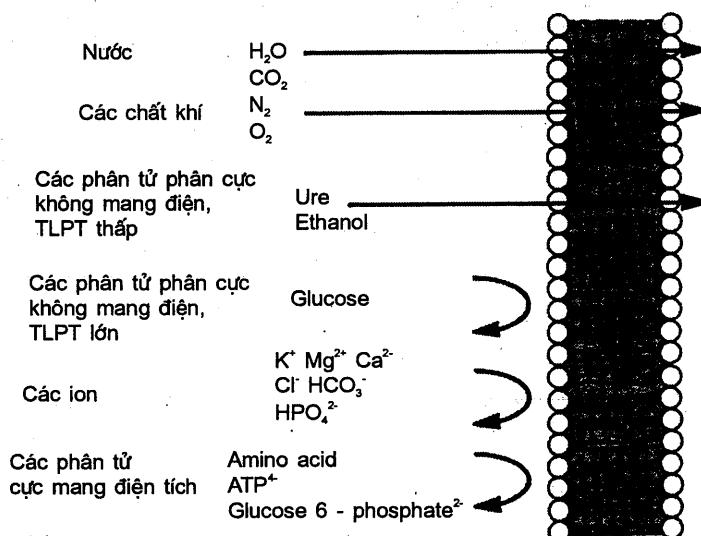


Hình 13.6. Mô hình chung về cấu trúc của các màng sinh học

+ Cholesterol là một yếu tố quyết định tính lỏng của màng tế bào. Phân tử cholesterol nằm xen kẽ trong lớp kép phospholipid. Vòng steroid liên kết với các chuỗi acyl của acid béo và có khuynh hướng cố định chúng, giới hạn sự chuyển động ngẫu nhiên của các chuỗi acyl của acid béo nằm gần nhất, ngăn cản các chuỗi acyl liên kết với nhau, phòng ngừa sự chuyển đổi từ trạng thái lỏng sang trạng thái gel đặc. Mặt khác, cholesterol có tác dụng giảm tính lỏng xảy ra nếu màng tế bào ở nhiệt độ thấp hơn.

Tóm lại, tính lỏng của lớp kép phospholipid phụ thuộc vào thành phần lipid, nồng độ cholesterol và nhiệt độ môi trường.

2. VẬN CHUYỂN CÁC CHẤT QUA MÀNG BÀO TƯƠNG TẾ BÀO



Hình 13.7. Tính thấm của màng phospholipid tinh khiết

Sự tồn tại của tế bào phụ thuộc vào sự thấm những chất cần thiết từ môi trường bên ngoài vào tế bào và loại trừ những chất chuyển hóa cặn bã ra ngoài tế bào. Màng bào tương tế bào đóng vai trò như một màng ngăn bán thấm giữa tế bào với khu vực ngoài tế bào. Tính thấm này có tính chọn lọc cao và cho phép tế bào giữ vững môi trường bên trong hằng định của nó.

Một màng nhân tạo tinh khiết chỉ có phospholipid hoặc phospholipid và cholesterol có khả năng cho qua nước, các chất khí (O₂, CO₂, N₂,...) và những phân tử thuộc loại kỵ nước có TLPT thấp, không mang điện, tan trong nước (ethanol,...); không cho qua hầu hết các phân tử tan trong nước như glucose, glucose-6-phosphat, ATP, nucleosid, acid amin, protein và các ion (H⁺, K⁺, Na⁺, Ca²⁺,...). Việc vận chuyển các phân tử và ion này qua màng cần đến những phân tử vận chuyển (gọi là chất mang=transport molecule) nằm ở màng tế bào. Hai cơ chế vận chuyển để cho phép các chất qua lại ở màng bào tương tế bào: vận chuyển trực tiếp và vận chuyển theo cơ chế nội nhập-ngoại xuất.

2.1. Sự vận chuyển trực tiếp

Sự vận chuyển trực tiếp các chất qua màng tế bào thực hiện theo các hình thức: vận chuyển thụ động bao gồm khuyếch tán đơn thuần và khuyếch tán tăng cường, vận chuyển tích cực.

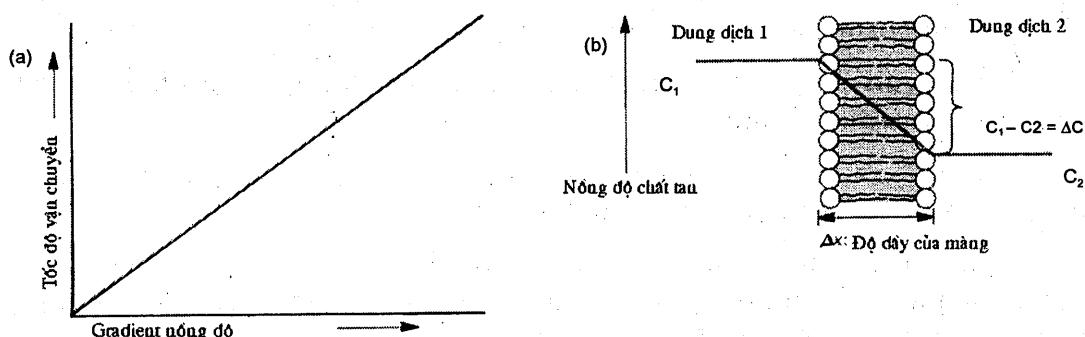
2.1.1. Khuyếch tán đơn thuần

Các phân tử nhỏ, tan trong nước được hoà vào lớp kép phospholipd, đi qua lớp này để hoà tan vào dung dịch nước ở phía bên đối diện của màng. Sự khuyếch tán này tỷ lệ thuận với gradient nồng độ cơ chất (chất được vận chuyển) ở hai phía của màng, không phụ thuộc vào sự có mặt của các chất khác và khi nồng độ cơ chất ở hai bên bề mặt của màng bằng nhau sẽ dẫn đến trạng thái cân bằng. Giả sử có một màng của vùng A với độ dày là Δx , hai bên màng có hai dung dịch chất tan với nồng độ C_1 , C_2 và $C_1 > C_2$. Trong điều kiện này, tốc độ khuyếch tán được tuân theo định luật Fick: tốc độ khuyếch tán $J = \frac{dn}{dt}$ (mol/giây) là tỷ lệ thuận với gradient nồng độ dC/dx qua màng (mol/cm^4) vì C là nồng độ tính bằng mol/cm^3 và x là khoảng cách phải khuyếch tán qua màng tính bằng cm.

$$\frac{dn}{dt} = J = - DA \frac{dC}{dx} = - DA \frac{\Delta C}{\Delta x} = \frac{- DA (C_1 - C_2)}{\Delta x}$$

Trong đó $D = \text{hằng số khuyếch tán}$

$$\frac{\Delta C}{\Delta x} = \frac{C_1 - C_2}{\Delta x}$$



Hình 13.8. Khuyếch tán đơn thuần các chất qua màng bào tương tế bào

Tóm lại, vận chuyển dưới hình thức khuyếch tán đơn thuần được thực hiện do sự chênh lệch về nồng độ chất tan ở hai phía của màng. *Hướng vận chuyển:* từ nơi có nồng độ cao hay điện thế cao đến nơi có nồng độ thấp hay điện thế thấp hơn, không cần phản ứng hóa học và năng lượng chuyển hóa. *Tốc độ khuyếch tán* tỷ lệ thuận với độ chênh nồng độ hoặc điện thế của chất

được vận chuyển ở 2 phía của màng và khi nồng độ của chất được vận chuyển ở hai bên bề mặt của màng bằng nhau sẽ dẫn đến trạng thái cân bằng, không có sự tích luỹ các chất. Điều giới hạn tốc độ vận chuyển là sự chuyển dời của chất được vận chuyển từ dung dịch nước vào trong phân ky nước của lớp kép phospholipid màng; do vậy tốc độ khuyếch tán tỷ lệ thuận với khả năng ky nước của chất khuyếch tán (chất được vận chuyển), nói cách khác hằng số khuyếch tán D phụ thuộc vào bản chất của chất khuyếch tán (độ hòa tan trong mỡ, độ lớn và độ ion hóa của phân tử chất khuyếch tán, màng tế bào luôn mang điện tích (-) nên các ion hóa trị 1 qua lại dễ dàng hơn). Giá trị của D khi khuyếch tán qua màng phospholipid là 100 đến 1000 lần thấp hơn khi khuyếch tán những phân tử giống nhau trong nước, bởi vì màng tế bào có độ nhớt là 100 đến 1000 lần hơn nước.

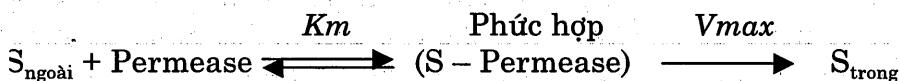
Khuyếch tán qua màng được thực hiện bởi độ chênh nồng độ thu được năng lượng tự do có giá trị âm lớn. Ví dụ: vận chuyển 1 mol cơ chất từ dung dịch 1M đến dung dịch 0,1M – có độ chênh nồng độ 10 lần hơn, giải phóng 1359 calo của năng lượng tự do (25°C); ngược lại, vận chuyển 1mol cơ chất chống lại gradient nồng độ như trên sẽ phải cần 1359 calo.

Định luật Fick không áp dụng cho các phân tử mang điện. Sự khuyếch tán của các phân tử tích điện qua màng (ngay cả đối với những màng có tính thấm với ion) được xác định không chỉ bởi gradient nồng độ mà còn bởi bất kỳ gradient điện tích nào có thể tồn tại khi qua màng. Sự khuyếch tán của mỗi ion như Na^+ đều kèm theo sự chuyển dời của một ion mang điện tích trái dấu như Cl^- .

2.1.2. Khuyếch tán tăng cường

Khuyếch tán tăng cường cần protein vận chuyển hay chất mang ở màng tế bào, gọi là permease. Khuyếch tán tăng cường có những đặc tính sau:

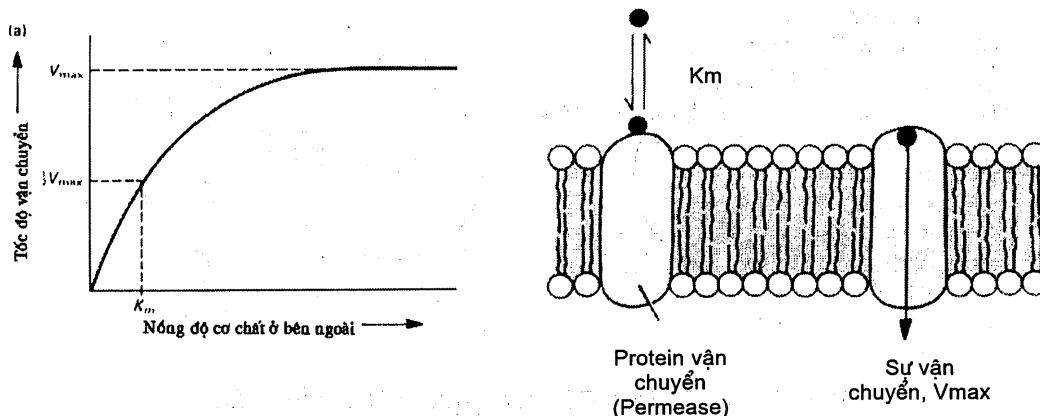
- Tốc độ vận chuyển của chất được vận chuyển lớn hơn rất nhiều so với tốc độ khuyếch tán đơn thuần.
- Mỗi protein vận chuyển chỉ dùng cho một loại phân tử hay ion, hoặc một nhóm phân tử có liên quan mật thiết với nhau.
- Khuyếch tán tăng cường có tốc độ vận chuyển tối đa: khi độ chênh nồng độ của các phân tử qua màng thấp thì nếu tăng độ chênh nồng độ sẽ dẫn đến sự tăng tương ứng của tốc độ vận chuyển qua màng, tốc độ này sẽ đạt cực đại khi gradient nồng độ chất qua màng trở nên cực lớn. Động học của sự khuyếch tán tăng cường có thể mô tả như phương trình dùng cho những phản ứng hóa học đơn giản được xúc tác bởi enzym



S = cơ chất vận chuyển

K_m = hằng số hình thành phức hợp S-permease

V_{max} = tốc độ tối đa của sự vận chuyển



Hình 13.9. Khuyếch tán tăng cường các chất qua màng bào tương

Vận chuyển glucose vào trong tế bào hồng cầu:

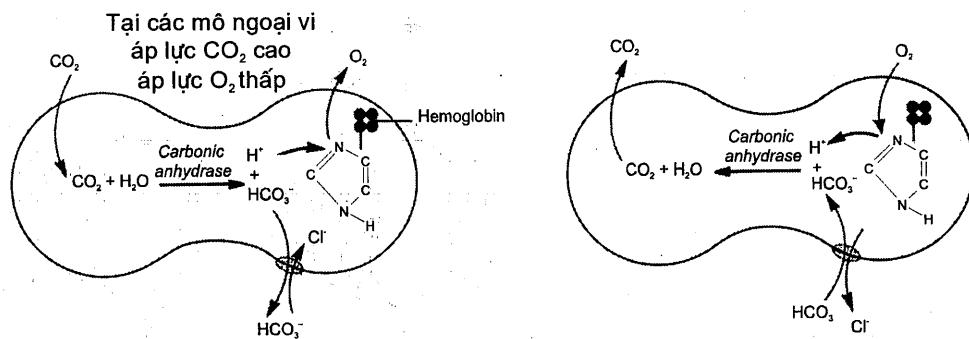
Năng lượng được sản sinh từ các chuyển hóa ở hồng cầu phụ thuộc vào sự cung cấp hằng định glucose từ huyết tương. Glucose vào trong hồng cầu theo con đường khuyếch tán tăng cường với sự tham gia của permease đặc hiệu với glucose ở màng hồng cầu. Đó là protein xuyên màng có TLPT = 45.000 Nhờ chất mang, glucose vào trong tế bào với tốc độ lớn gấp 50.000 lần so với tốc độ khuyếch tán không có chất hỗ trợ qua lớp kép lipid màng. Yếu tố vận chuyển là đặc hiệu với D-glucose và K_m là 1,5 mM. Với những chất tương tự như D-mannose hay D-galactose giá trị K_m thay đổi là 20 và 30 mM, tương tự với L-glucose thì K_m vượt quá 3000mM. Do vậy, sự vận chuyển của glucose của màng hồng cầu cho thấy có 3 đặc điểm của sự vận chuyển thụ động này: tốc độ cao của sự khuyếch tán nhằm làm giảm gradient nồng độ, khả năng bão hòa và tính đặc hiệu.

Sự trao đổi anion ở màng hồng cầu trong vận chuyển CO_2 từ các mô đến phổi:

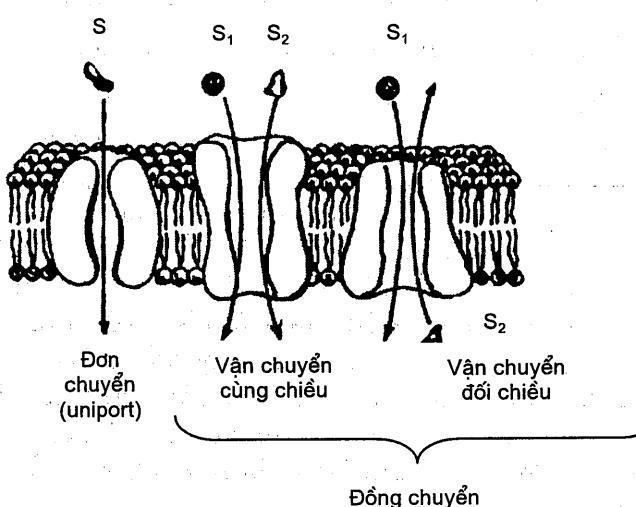
Tại mô, nồng độ CO_2 tăng do được tạo ra từ các chuyển hóa vào máu và đến hồng cầu tạo nên bicarbonat (HCO_3^-) nhờ enzym carbonic anhydrase. HCO_3^- trở lại huyết tương, được vận chuyển đến phổi. HCO_3^- có khả năng hòa tan trong huyết tương nhiều hơn CO_2 nên cách này khả năng vận chuyển CO_2 từ các mô đến phổi sẽ tăng lên rất nhiều.

Tại phổi, HCO_3^- từ huyết tương vào hồng cầu và bị phân ly dưới tác dụng của carbonic anhydrase, tạo CO_2 để vào phổi và đào thải. Như vậy, sự vận chuyển HCO_3^- là một yêu cầu thiết yếu, sự trao đổi HCO_3^- là sự trao đổi hai anion Cl^- , HCO_3^- và cần permease – là một protein liên kết xuyên màng. Một

ion HCO_3^- được chuyển qua màng thì một ion Cl^- được vận chuyển theo hướng ngược lại. Kết quả của vận chuyển cặp đôi này sẽ không làm thay đổi điện tích ở hai phía của màng hồng cầu. Sự vận chuyển cặp đôi của HCO_3^- và Cl^- là bắt buộc. Đó là hệ thống đồng vận chuyển (cotransport).



Hình 13.10. Sự trao đổi anion qua màng hồng cầu



Hình 13.11. Các hình thức vận chuyển các chất qua màng tế bào (đơn chuyển và đồng chuyển)

Nếu hai chất được vận chuyển từ hai phía đối diện nhau thì đó là quá trình vận chuyển đối chiều (antiport) và nếu hai chất được chuyển dời cùng một phía của màng thì gọi là quá trình vận chuyển cùng chiều (symport) (Hình 13.11). Sự vận chuyển chỉ xảy ra với một chất như trường hợp vận chuyển glucose thì gọi là đơn chuyển hay vận chuyển một chất (uniport).

2.1.3. Vận chuyển tích cực

Vận chuyển tích cực đòi hỏi chất mang và năng lượng chuyển hóa, hướng vận chuyển cơ chất ngược với độ chênh nồng độ hoặc điện thế. Vận chuyển tích

cực sẽ dẫn đến kết quả là có sự tích luỹ một chất hoà tan ở một phía của màng. Sự vận chuyển tích cực là không thuận lợi về nhiệt động học (thu năng lượng) và chỉ xảy ra khi đi kèm hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp với một quá trình phát nồng lượng như sự hấp thu năng lượng ánh sáng mặt trời, các phản ứng oxi hóa, sự phân huỷ ATP hay dòng vận chuyển xảy ra đồng thời của những phản ứng hóa học dẫn đến giảm độ chênh nồng độ của chất được vận chuyển. Trong vận chuyển tích cực nguyên phát, sự tích tụ chất được vận chuyển đi kèm trực tiếp với một phản ứng phát nồng (ví dụ: sự phân huỷ ATP thành ADP + P_i). Vận chuyển tích cực thứ phát xảy ra khi sự vận chuyển thu năng (ngược dòng = uphill) của một chất hoà tan được đi kèm với dòng vận chuyển phát nồng (xuôi dòng = downhill) của một chất hoà tan khác mà chất này đã được vận chuyển ngược dòng trước đó bởi một quá trình vận chuyển tích cực nguyên phát.

Trị số năng lượng cần thiết để vận chuyển một chất hoà tan chống lại gradient có thể tính được dễ dàng từ gradient nồng độ ban đầu. Phương trình tổng quát biểu thị sự biến thiên năng lượng tự do trong các phản ứng hóa học biến chất S thành chất P là:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln [P]/[S] \quad (1)$$

Trong đó R là hằng số khí 8,315 J/mol. K và T là nhiệt độ tuyệt đối. Khi “phản ứng” là sự vận chuyển đơn thuần của một chất tan từ vùng có nồng độ C₁ đến vùng có nồng độ C₂ không có liên kết hóa học nào được tạo ra hay bị chặt đứt thì sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn ΔG^0 là 0 và sự biến thiên năng lượng tự do trong quá trình vận chuyển chất tan là:

$$\Delta G_T = RT \ln [C_2/C_1] \quad (2)$$

Phương trình (2) áp dụng với những chất tan không mang điện tích. Khi chất tan là ion, năng lượng cần thiết cho sự chuyển dời nó phụ thuộc vào hiệu thế điện tử qua lại màng cũng như sự khác nhau về nồng độ hóa học của ion – gọi là hiệu điện thế hóa (electrochemical potential):

$$\Delta G_T = RT \ln [C_2/C_1] + Z f \Delta \psi \quad (3)$$

Trong đó Z là điện tích của ion, f là hằng số Faraday bằng 96.480 J/Vmol và $\Delta \psi$ là hiệu thế điện tử của màng vận chuyển (volt). Hầu hết các tế bào đều có độ chênh ion lớn hơn 10 lần ở màng bào tương và các màng khác trong tế bào. Bởi vậy, đối với nhiều tế bào và mô sự vận chuyển tích cực chủ yếu là quá trình sử dụng năng lượng.

Cơ chế của sự vận chuyển tích cực giữ tầm quan trọng trong sinh học, cần đến chất mang cùng năng lượng chuyển hóa và hướng vận chuyển ngược với gradient nồng độ hoặc điện hóa.

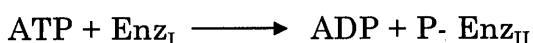
2.1.3.1. Vận chuyển tích cực nguyên phát: ví dụ sự vận chuyển cặp đôi đối chiều Na⁺ và K⁺. [Na⁺] trong tế bào < [Na⁺] ngoài tế bào và [K⁺] trong tế bào > [K⁺] ngoài tế bào, tuy nhiên sự vận chuyển Na⁺ và K⁺ qua lại màng tế bào

không phụ thuộc vào định luật cân bằng Donnan. Sự không cân bằng về nồng độ của các ion này ở hai bên mặt của màng tế bào được thiết lập và tồn tại là nhờ hệ thống vận chuyển tích cực có ở màng tế bào bao gồm enzym Na^+K^+ -ATPase đi kèm với sự chởp đứt liên kết giàu năng lượng trong ATP để chuyển dời đồng thời hai ion Na^+ và K^+ chống lại độ chênh nồng độ. Ứng với sự chởp đứt liên kết trong phân tử ATP để thành ADP và Pi ở màng tế bào, sẽ có sự vận chuyển hai ion K^+ vào trong tế bào và ba ion Na^+ ra ngoài tế bào.

Enzym Na^+K^+ -ATPase là một protein xuyên màng dimer, mỗi monomer gồm 2 tiểu đơn vị: (1) tiểu đơn vị nhỏ có TLPT=50.000 Da, bản chất là glycoprotein; (2) tiểu đơn vị lớn có TLPT=120.000 Da, bản chất là polypeptid chứa vị trí xúc tác sự phân huỷ ATP (Hình 13.12).

Na^+K^+ -ATPase tồn tại 2 trạng thái: (1) trạng thái I – dạng khử phosphoryl, có ái lực cao với Na^+ và ái lực yếu với K^+ , (2) trạng thái II – dạng phosphoryl hóa, có ái lực cao với K^+ và ái lực yếu với Na^+ . Chu trình hoạt động của ATPase được thiết lập giữa hai trạng thái này.

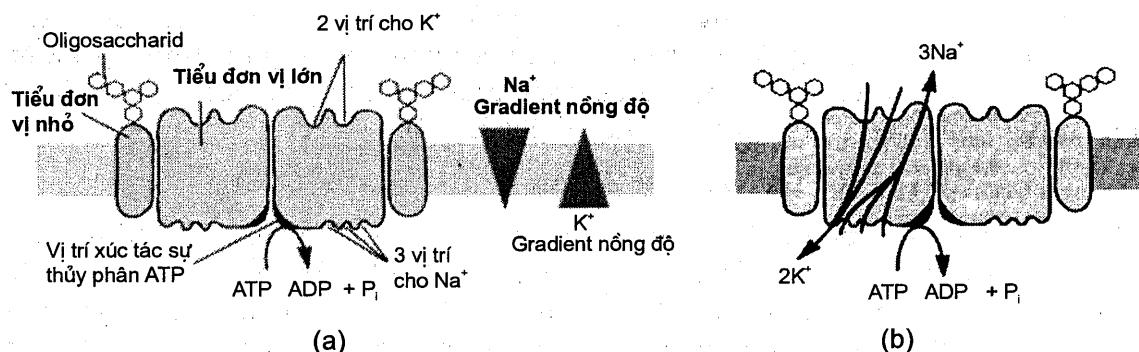
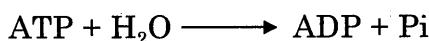
(1) Hình thành dạng phosphoryl hóa của enzym:



(2) Thuỷ phân phosphoenzym:



Tóm lại ta có:



Hình 13.12. Cấu trúc và chức năng của Na^+K^+ -ATPase

(a): cấu trúc phân tử – chuỗi lớn đóng vai trò vận chuyển ion, có 3 vị trí cho Na^+ và 2 vị trí cho K^+ , có 1 phân tử ATP gắn ở bề mặt tiếp xúc với bào tương.

(b): sự phân giải ATP kèm với sự vận chuyển 2 ion K^+ vào trong tế bào và 3 ion Na^+ ra dịch gian bào

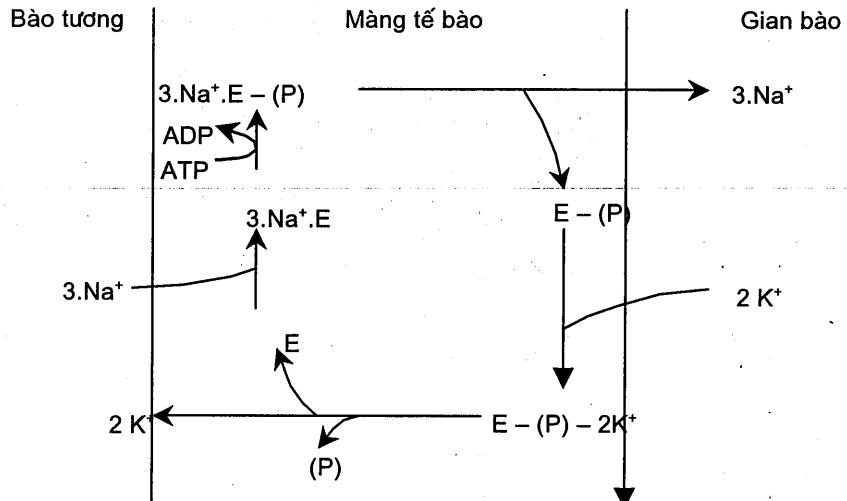
Theo cơ chế được thừa nhận, quá trình vận chuyển các ion Na^+ và K^+ qua màng bào tương tế bào được bắt đầu bằng sự gắn 3 Na^+ vào các vị trí có ái lực cao trên tiểu đơn vị lớn của protein vận chuyển ở bề mặt bên trong của màng tế bào. Tiểu đơn vị lớn này cũng có vị trí gắn với ATP. Sự phosphoryl hóa

protein vận chuyển làm thay đổi trạng thái của nó và ái lực với Na^+ bị giảm dẫn đến kết quả là Na^+ được giải phóng ở mặt ngoài của màng bào tương tế bào. Tiếp theo 2 K^+ được gắn vào vị trí có ái lực cao với nó trên mặt ngoài của tiểu đơn vị lớn. Enzym vận chuyển bị khử phosphoryl, kết quả là ái lực của nó với K^+ giảm và K^+ được chuyển vào trong tế bào. Phân tử protein vận chuyển sẵn sàng bắt đầu chu kỳ mới của hoạt động bơm Na^+ và K^+ .

Sự vận chuyển tích cực Na^+ và K^+ qua màng bào tương tế bào có ý nghĩa quan trọng đối với tế bào vì sự vận chuyển gây nên sự phân ly điện thế ở màng tế bào, bên trong của tế bào có điện tích âm hơn bên ngoài tế bào, hiệu điện thế vận chuyển màng là 50-70 mV, điều này là cần thiết cho sự dẫn truyền các xung động thần kinh và các hoạt động sinh lý khác của tế bào: vận chuyển nước để duy trì hình dạng tế bào, vận chuyển các chất dinh dưỡng như acid amin, glucose (vận chuyển tích cực thứ phát)

Tóm lại, sự vận chuyển tích cực Na^+ và K^+ qua màng bào tương tế bào có ý nghĩa quan trọng: tạo điện thế khác nhau ở hai bên bề mặt của màng, dẫn truyền xung động điện thần kinh, vận chuyển nước duy trì hình dạng tế bào, vận chuyển các chất dinh dưỡng như acid amin, glucose (vận chuyển tích cực thứ phát).

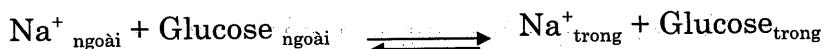
Hình 13.13. Quá trình hoạt động của bơm Na^+K^+ -ATPase



2.1.3.2. Vận chuyển tích cực thứ phát

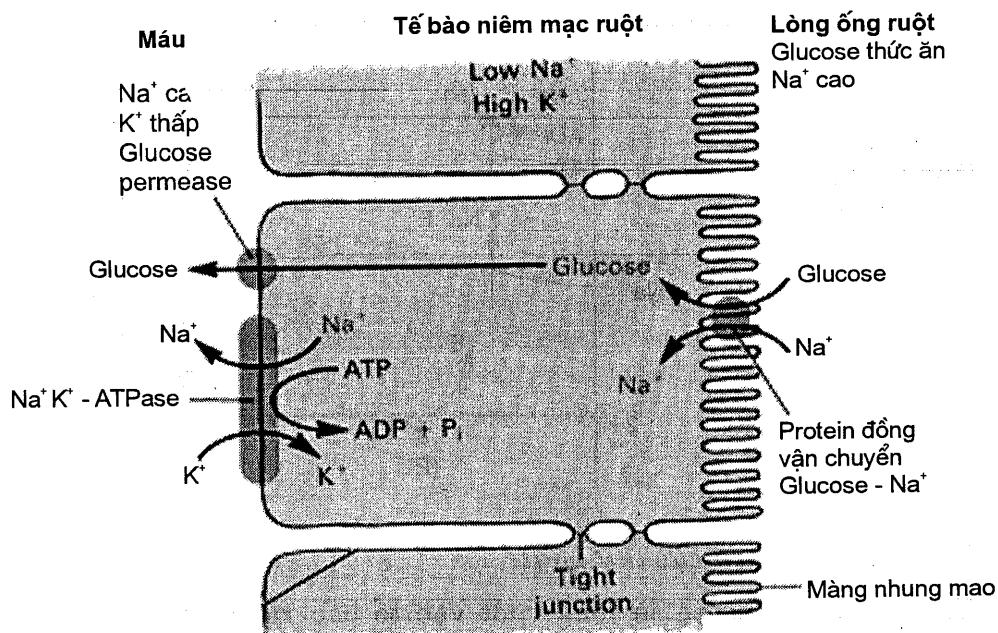
– Vận chuyển glucose từ lòng ruột vào tế bào riêm bàn chải của thành ruột: trong các tế bào niêm mạc ruột, glucose và một số acid amin sẽ được tích luỹ trong tế bào nhờ sự vận chuyển cùng chiều với Na^+ , sử dụng gradient Na^+ được thiết lập với sự tham gia của Na^+K^+ ATPase.

Sự vận chuyển glucose từ lòng ruột vào các tế bào riêm bàn chải của thành ruột thực hiện nhờ protein đồng vận chuyển cùng chiều đặc hiệu glucose- Na^+ (glucose- Na^+ symport protein) có ở màng tế bào. Trong hệ thống này, sự vận chuyển qua màng của glucose là sự vận chuyển cặp đôi kết hợp bắt buộc (obligatorily coupled transport) với sự vận chuyển của Na^+ .



Nồng độ Na^+ trong lòng ruột cao hơn rất nhiều so với nồng độ Na^+ trong tế bào thành ruột nên hướng của phản ứng theo chiều sang phải mặc dù nồng độ glucose trong tế bào cao hơn trong lòng ruột. Tế bào đã sử dụng độ chênh Na^+ được sản sinh nhờ bơm Na^+K^+ -ATPase để vận chuyển glucose chống lại gradient nồng độ của nó. Hệ thống đồng vận chuyển cùng chiều acid amin – Na^+ cũng tương tự, nó sử dụng gradient Na^+ để đưa acid amin từ lòng ruột vào trong tế bào.

Người ta lưu ý rằng nồng độ glucose, acid amin ở trong tế bào được thiết lập nhờ sự đồng vận chuyển cùng chiều và cũng có thể do sự khuyếch tán ra ngoài tế bào (vào máu) gây nên bởi sự khuyếch tán tăng cường. Kết quả là sự chuyển dời của các ion Na^+ , acid amin và glucose từ lòng ruột qua tế bào niêm mạc ruột để vào máu. Các liên kết nối các tế bào niêm mạc ruột với nhau đã ngăn ngừa được các phân tử những chất trên khỏi sự khuyếch tán trở lại lòng ruột. Tóm lại, sự vận chuyển glucose và acid amin qua các tế bào niêm mạc ruột được thực hiện nhờ sự phân huỷ ATP trong tế bào. Sự cặp đôi của quá trình phân huỷ ATP với quá trình vận chuyển vào trong tế bào của glucose và Na^+ là gián tiếp, sự phân huỷ ATP được sử dụng trực tiếp cho việc tạo nên gradient Na^+ và gradient Na^+ này là nguồn năng lượng để vận chuyển glucose và acid amin (đặc biệt là những acid amin có gốc R nhỏ, như alanin).



Hình 13.14. Vận chuyển glucose từ lòng ruột vào tế bào niêm mạc ruột (đồng vận chuyển cùng chiều)

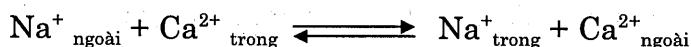
Trong vận chuyển cùng chiều, sự chuyển dời của một cơ chất (thường là Na^+) vào trong tế bào theo chiều xuôi phụ thuộc độ chênh nồng độ đi kèm với sự chuyển dời cùng chiều hướng vào trong tế bào của một cơ chất khác như glucose để chống lại gradient nhỏ hơn. Sự vận chuyển đối chuyển (antiport) là

một quá trình tương tự nhưng cùng với sự chuyển dời vào trong tế bào của Na^+ là sự chuyển dời bắt buộc ra ngoài tế bào của chất khác.



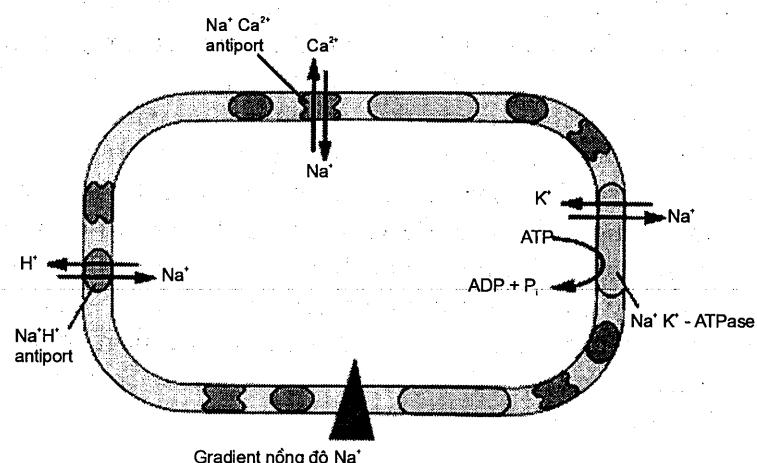
X là chất vận chuyển ra ngoài tế bào chống lại độ chênh nồng độ.

Một hệ thống vận chuyển đổi chuyển quan trọng là sự vận chuyển ion Ca^{2+} của tế bào cơ tim.



Sự vận chuyển đổi chuyển trên làm giảm nồng độ Ca^{2+} trong tế bào cơ tim. Trong hầu hết các tế bào cơ, sự tăng nồng độ Ca^{2+} gây nên co rút cơ. Bởi vậy, hoạt động của hệ vận chuyển ngược chiều $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ làm giảm tần số co cơ tim. Enzym Na^+/K^+ -ATPase của màng bào tương của tế bào cơ tim tạo nên độ chênh Na^+ và nó được sử dụng làm nguồn vận chuyển Ca^{2+} ra tế bào. Bơm Na^+/K^+ -ATPase và hệ thống vận chuyển đổi chiều $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ tồn tại theo mọi hướng ở bào tương của tế bào cơ không giống như Na^+/K^+ -ATPase khu trú trong tế bào niêm mạc ruột chỉ theo một hướng (hướng vào lòng ruột).

Hình 13.15 . Vận chuyển Ca^{2+} và H^+ ra ngoài tế bào (đồng vận chuyển đổi chuyển)
Vận chuyển đổi chiều $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ và Na^+/H^+ của màng tế bào được sử dụng để bơm Ca^{2+} và H^+ từ bào tương ra khu vực ngoài tế bào. Sự vận chuyển này dùng năng lượng tăng trữ trong độ chênh nồng độ Na^+ sinh ra bởi bơm Na^+/K^+ -ATPase



Các thuốc như ouabain và digoxin làm tăng co cơ tim và được sử dụng trong điều trị suy tim. Tác dụng đầu tiên của những thuốc này là ức chế Na^+/K^+ -ATPase, dẫn đến làm tăng Na^+ trong tế bào. Với gradient nồng độ Na^+ thấp, chức năng của hệ vận chuyển ngược chiều $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kém hiệu quả, do vậy ion Ca^{2+} được vận chuyển từ tế bào ra gian bào bị giảm, nồng độ Ca^{2+} trong tế bào tăng và kích thích co cơ nhiều lần hơn với cường độ mạnh hơn.

Màng bào tương tế bào cũng có hệ thống vận chuyển đổi chiều Na^+/H^+ đóng vai trò quan trọng trong điều hoà nồng độ H^+ của bào tương. Ion Na^+ vào trong tế bào (vận chuyển xuôi dòng theo gradient nồng độ) gây nên sự vận chuyển cặp đôi cưỡng bức của proton từ bào tương ra ngoài tế bào (Hình 13.15). Để pH bên trong tế bào và khu vực ngoài tế bào của cơ thể động vật là như nhau ($\text{pH} \approx 7,0$) tế bào cần năng lượng thường xuyên để bơm các proton ra ngoài tế bào. Chuyển hóa glucose trong điều kiện yếm khí sản sinh carbon

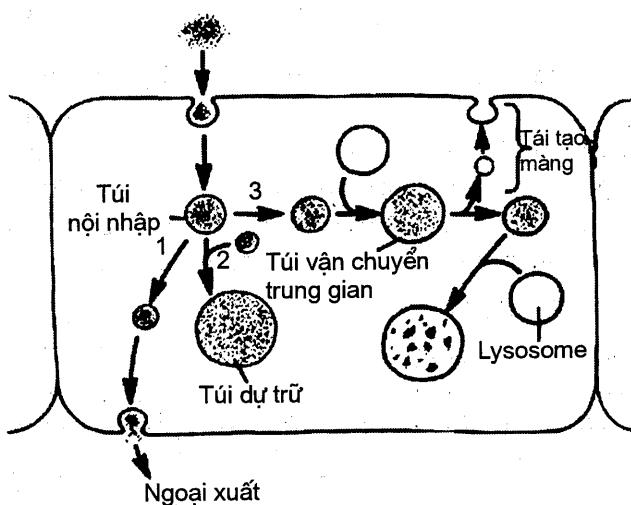
dioxide (CO_2) và nó được hydrat hóa thành acid carbonic (H_2CO_3). Những acid yếu này phân ly tạo ra các proton và các proton này không được thoát ra khỏi tế bào sẽ làm pH của bào tương giảm nghiêm trọng. Bởi vậy, sự vận chuyển đổi chiều Na^+/H^+ đóng vai trò quan trọng để chuyển dời proton quá thừa sinh ra trong các chuyển hóa trên.

2.2. Vận chuyển theo cơ chế endocytosis và exocytosis

Sự trao đổi chất của tế bào với môi trường xung quanh không chỉ đối với những phân tử nhỏ như các ion và monosaccarid, acid amin,... mà còn đối với những phân tử lớn đặc biệt như protein.

Tế bào tiết ra các loại protein khác nhau (ví dụ: hormon peptid, protein của huyết tương,...) và protein cấu trúc ngoài tế bào (Ví dụ: collagen) bởi một quá trình gọi là exocytosis (ngoại-xuất), đó là sự hợp nhất các túi trong tế bào với màng bào tương của tế bào rồi giải phóng các thành phần trong túi ra môi trường xung quanh tế bào. Một quá trình khác mà nhờ nó, các tế bào liên kết và đưa vào bên trong bào tương những phân tử lớn và các tiểu thể từ khu vực ngoài tế bào liên quan đến cơ chế endocytosis (nội-nhập). Trong quá trình endocytosis, receptor đặc hiệu ở bề mặt của màng bào tương nhận biết phân tử ở bên ngoài tế bào và liên kết với nó. Vùng của màng bào tương tế bào chứa đựng phức hợp receptor - cơ chất lộn vào trong, hình thành túi (endocytic vesicle) chứa đựng chất cần vận chuyển từ bên ngoài vào trong tế bào. Túi này bị tan ra bởi lysosom và tạo nên lysosom ở trạng thái mới, trong đó có các chất từ môi trường bên ngoài vào. Các chất này bị chuyển hóa trong lysosom và tạo ra nhiều sản phẩm chuyển hóa trung gian như acid amin, nucleotid,... Các sản phẩm này có thể được vào trong bào tương – nơi chúng có thể được hợp nhất thành những phân tử lớn hơn. Các sản phẩm thoái hóa được tập hợp thành túi và chịu quá trình exocytosis (ngoại-xuất) để đào thải ra ngoài tế bào và màng tế bào được tái sinh.

Hình 13.16. Quá trình endocytosis - exocytosis



Sự hoà nhập các màng không đơn giản mà là một quá trình phức tạp có sự tham gia của yếu tố hoà nhập mà hiện nay còn chưa biết rõ ràng. Cơ chế hoà nhập màng có nhiều giả thuyết đang được tranh cãi.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày về thành phần hóa học chung của màng sinh học.
2. Trình bày những nội dung cơ bản của mô hình cấu trúc màng sinh học (màng bào tương tế bào).
3. Trình bày đặc điểm của vận chuyển thụ động các chất qua màng bào tương tế bào theo cơ chế khuếch tán đơn thuần. Cho ví dụ.
4. Trình bày đặc điểm của vận chuyển thụ động các chất qua màng bào tương tế bào theo cơ chế khuếch tán tăng cường? Cho ví dụ.
5. Thế nào là đơn vận chuyển? Thế nào là đồng vận chuyển và kể tên các loại đồng vận chuyển? Cho ví dụ từng loại vận chuyển kể trên.
6. Thế nào là vận chuyển tích cực nguyên phát? Trình bày hoạt động của bơm $\text{Na}^+.\text{K}^+$ - ATPase ở màng bào tương tế bào.
7. Thế nào là vận chuyển tích cực thứ phát? Trình bày quá trình vận chuyển glucose qua tế bào riềng bản chải ở ruột non.
8. Phân tích quá trình vận chuyển tích cực thứ phát của sự vận chuyển Ca^{2+} và H^+ qua màng bào tương tế bào.
9. Trình bày bằng sơ đồ quá trình vận chuyển các chất qua màng tế bào theo cơ chế nội nhập và ngoại xuất.

Chương 14

HÓA SINH HORMON

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các loại hormon theo cấu tạo hóa học và cơ chế tác dụng.
2. Viết được cấu tạo hóa học và tác dụng chính các hormon có bản chất peptid và protein.
3. Vẽ sơ đồ (có công thức hóa học) quá trình tổng hợp, thoái hóa hormon tuỷ thượng thận và hormon giáp trạng.
4. Viết được cấu tạo hóa học, tên các hormon steroid đại diện.

Hormon là những chất hữu cơ được sản xuất ra với lượng rất nhỏ bởi những tế bào của tuyến nội tiết. Hormon bài tiết trực tiếp vào máu và được vận chuyển tới các bộ phận khác nhau của cơ thể gọi là cơ quan nhận hay cơ quan đích. Ở đó hormon tạo ra những biến đổi hóa lý giúp cơ thể duy trì được sự hàng định nội môi.

Thông qua những biến đổi lý hóa tại cơ quan đích, hormon kiểm soát các quá trình chuyển hóa và các chức phận khác nhau của cơ thể: sự phát triển tế bào và mô, hoạt động của tim-huyết áp, sự co bóp dạ dày ruột, bài tiết sữa và hệ thống sinh sản, chức phận thận...v.v. Như vậy, hormon là một loại tín hiệu giữa các tế bào (extracellular signaling). Các tế bào trong cơ thể sống không thể tồn tại độc lập mà có sự hợp tác, thông tin điều chỉnh lẫn nhau định hướng cho sự phân chia, chuyển hóa của tổ chức và cơ thể.

Ở động vật, tín hiệu giữa các tế bào có thể chia làm 3 loại dựa trên khoảng cách giữa vị trí chất được bài tiết và vị trí mà chất đó thể hiện tác dụng.

– Hormon hay chất nội tiết là những chất hữu cơ tác động lên những tế bào ở xa vị trí mà nó được sản xuất ra (các tuyến nội tiết). Ở động vật, hormon được vận chuyển trong máu từ vị trí tuyến nội tiết đến vị trí tác dụng.

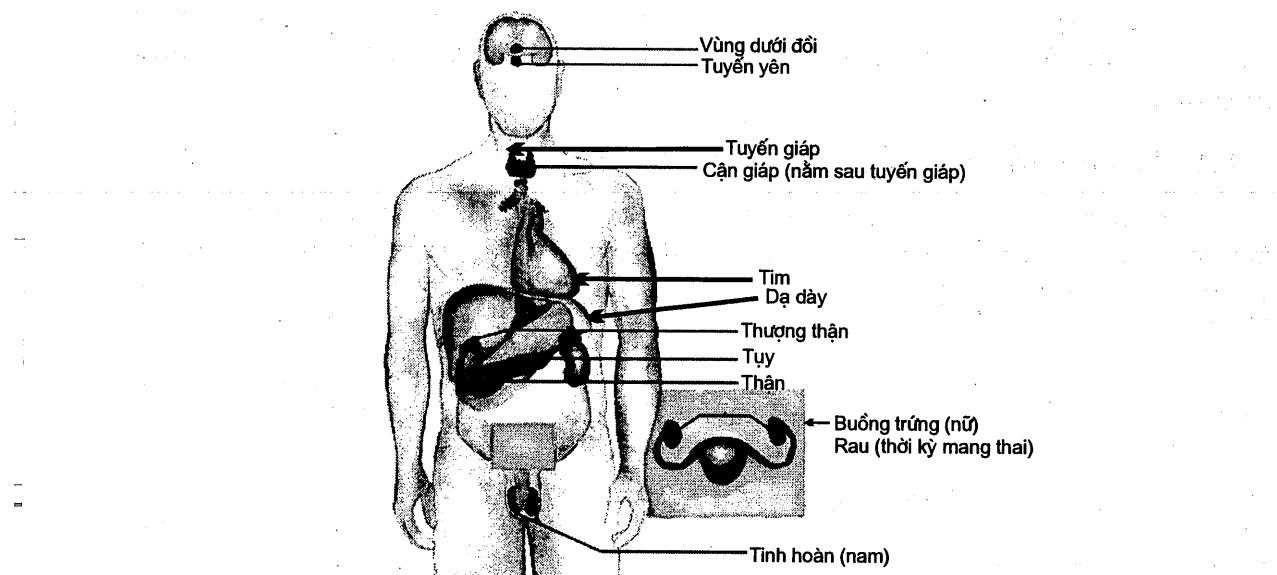
– Tín hiệu tại chỗ (paracrine signaling): các chất hữu cơ được giải phóng ra tác dụng ngay trên những tế bào gần kề với tế bào sản xuất ra nó. Sự dẫn truyền xung điện từ một tế bào này tới tế bào khác hoặc từ tế bào thần kinh tới tế bào cơ (gây ức chế hoặc kích thích co cơ) xảy ra qua kiểu tín hiệu

tại chỗ. Các chất thuộc loại tín hiệu này là chất dẫn truyền thần kinh (neurotransmitter), hormon thần kinh (neurohormone)...sẽ trình bày riêng ở chương thần kinh. Mặc dù, thần kinh và nội tiết được trình bày riêng rẽ, nhưng dẫn truyền thần kinh và hormon rất giống nhau về mặt điều hoà chuyển hóa, và trong cơ thể chỉ có một hệ thống duy nhất: hệ thống thần kinh-nội tiết.

- Tín hiệu tự thân (autocrine signaling): tế bào đáp ứng với các chất do bản thân tế bào đó tổng hợp và bài tiết ra. Nhiều yếu tố tăng trưởng (growth factors) hoạt động theo kiểu này. Các tế bào nuôi cấy thường tiết ra các chất để kích thích bản thân chúng phát triển và tăng sinh. Các tế bào khối u cũng giải phóng ra các yếu tố phát triển để kích thích sự tăng sinh quá mức, không điều hoà của các tế bào khối u, quá trình này dẫn tới sự hình thành quần thể khối u.

Nhiều yếu tố phát triển được coi là hormon (giống hormon protein). Chúng không do các tuyến nội tiết sản xuất ra mà được sản xuất từ các tế bào hoặc nhóm tế bào riêng biệt.

Các tuyến nội tiết chính của cơ thể và vị trí của chúng được trình bày ở hình 14.1.



Hình 14.1. Những tuyến nội tiết chính của cơ thể.

Người ta có thể phân biệt hormon nói chung với:

- Hormon thần kinh (neurohormone) do các tế bào thần kinh sản xuất ra và cũng bài tiết vào máu (ví dụ vasopressin).
- Chất dẫn truyền thần kinh (neurotransmitter). Cũng do các tế bào thần kinh sản xuất ra, nhưng không bài tiết vào máu mà bài tiết vào khe synap là nơi tiếp giáp giữa những tế bào thần kinh và tế bào nhận để kích

thích những tế bào nhận gần kề. (ví dụ norepinephrin hoặc acetylcholin). Tuy nhiên norepinephrin cũng được sản xuất bởi tủy thượng thận và bài tiết trực tiếp vào máu vì vậy cũng thuộc về hormon theo định nghĩa cổ điển.

Bài tiết hormon có đặc điểm khác với các chất sinh học khác (enzym, các chất chuyển hóa) là sự bài tiết hormon theo nhịp sinh học, nghĩa là nồng độ hormon trong máu thay đổi theo chu kỳ. Nhịp sinh học có thể theo giờ (LH, testosteron), theo ngày (cortisol), theo tháng (các hormon sinh dục nữ), theo mùa (thyroxin). Sự thay đổi nồng độ hormon trong máu theo nhịp sinh học cùng với nồng độ rất thấp (ở mức nanogam hoặc picogam) làm cho việc định lượng hormon rất khó khăn đòi hỏi những kỹ thuật có độ nhạy cao và trang thiết bị đắt tiền.

1. PHÂN LOẠI HORMON

Hormon có thể phân loại theo nhiều cách: theo cấu tạo hóa học hoặc phân loại theo cơ chế tác dụng của hormon.

1.1. Phân loại theo cấu tạo hóa học

1.1.1. Hormon là peptid và protein

Thuộc loại này có những hormon có từ 3 acid amin tới trên 200 acid amin gồm hormon các tuyến vùng dưới đồi, tuyến yên, tuyến tụy, ví dụ: insulin, glucagon.

1.1.2. Hormon là amin (dẫn xuất của acid amin)

Hormon là amin có trọng lượng phân tử thấp, là những dẫn xuất của tyrosin gồm những hormon của tủy thượng thận tan trong nước và những hormon của tuyến giáp ít tan trong nước hơn. Ví dụ: adrenalin, noradrenalin, T3, T4.

Nhiều tác giả xếp hai loại trên thành một loại là hormon protein. Chúng thường được sinh tổng hợp trong tuyến nội tiết ở dạng những phân tử tiền chất lớn (prohormon). Phân tử tiền chất này chứa một đoạn peptid ngắn (thường 16-22 acid amin) gọi là đoạn tín hiệu (signal peptide). Đoạn này sẽ được loại bỏ sau khi tiền chất vào lưới nội bào và phân tử trở thành tiền chất hormon (prohormon). Prohormon tích lại ở các túi dự trữ trong bào tương và sẽ giải phóng vào máu. Nhóm hormon này không gắn với protein huyết thanh mà vận chuyển trong máu ở dạng tự do (trừ T3 và T4 của tuyến giáp). Hormon loại này có thời gian bán hủy ngắn.

1.1.3. Hormon steroid

Gồm hormon vỏ thượng thận, tuyến sinh dục nam và nữ.

Tất cả các hormon steroid đều bắt nguồn từ cholesterol và có nhân cấu tạo cơ bản. Các hormon steroid lại chia thành các nhóm dựa vào số lượng carbon.

C18: estrogen, C19: androgen

C 21: corticoid chuyển hóa đường, corticoid chuyển hóa muối và progestin.

Không giống hormon peptid, hormon steroid không tích trữ ở các túi chẽ tiết trong tế bào. Hormon steroid có thể khuếch tán tự do qua màng tế bào vào dòng máu. Trong máu chúng kết hợp chặt chẽ với protein vận chuyển đặc hiệu có trong huyết thanh. Ở dạng tự do hormon mới có khả năng kết hợp với các receptor và thể hiện hoạt tính sinh học, tuy nhiên ở dạng tự do chúng dễ dàng bị thoái hóa.

1.1.4. Nhóm Eicosanoid

Ngoài 3 nhóm hormon xếp loại trên còn có những chất giống như hormon và được xếp vào *loại Eicosanoid*. Những chất này không vững bền, không tan trong nước và là những dẫn xuất của acid arachidonic-một acid béo có 20 carbon với nhiều liên kết đôi. Eicosanoid có 3 phân nhóm: prostaglandin, leukotrien và thromboxan. Những hormon loại này thường không vận chuyển xa các mô mà nó được sản xuất và tác dụng chủ yếu tại các mô rất gần.

1.2. Phân loại theo cơ chế tác dụng

Tất cả các hormon đều tác dụng lên tế bào nhận qua chất thụ thể đặc hiệu (receptor) ở tế bào nhận. Mỗi loại tế bào có cách kết hợp riêng giữa chất thụ thể với hormon. Căn cứ vào vị trí khu trú của chất thụ thể (ở màng tế bào hoặc trong tế bào) và tính chất hòa tan của hormon mà hormon được phân thành hai nhóm.

1.2.1. Nhóm kết hợp với thụ thể nội bào

Gồm các hormon steroid và hormon tuyến giáp.

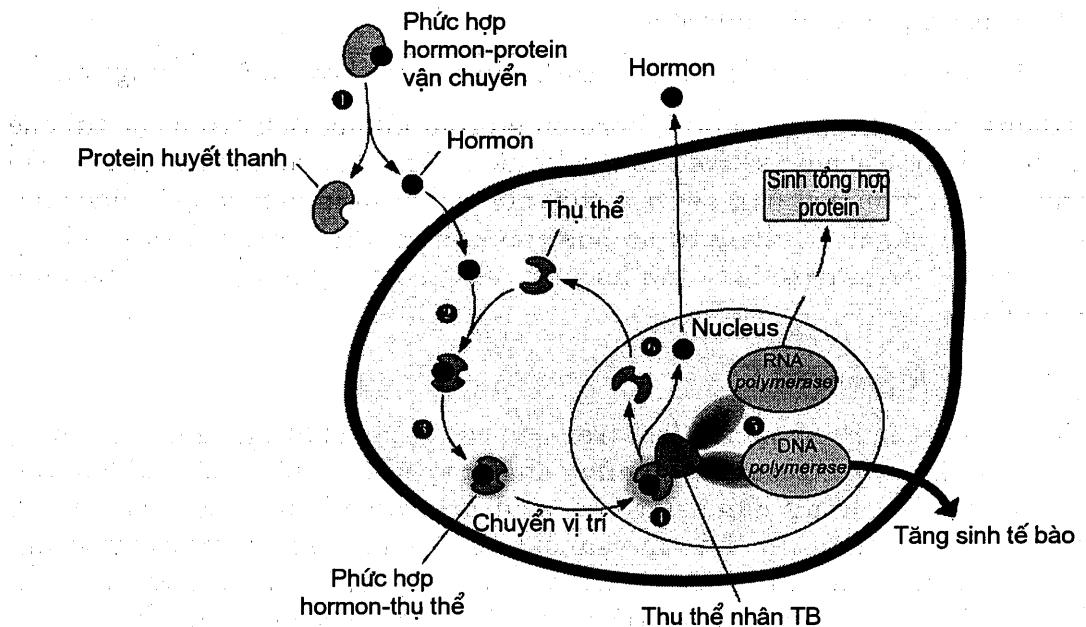
1.2.2. Nhóm kết hợp với chất thụ thể ở màng tế bào

Gồm các hormon peptid và amin tan trong nước. Những hormon thuộc nhóm này không dễ dàng qua màng tế bào và kết hợp với chất thụ thể ở mặt ngoài tế bào nhận. Những hormon thuộc nhóm này lại chia thành các phân nhóm tùy thuộc vào chất thông tin thứ hai tham gia vào cơ chế tác dụng của hormon.

2. CƠ CHẾ TÁC DỤNG CỦA HORMON

2.1. Tác dụng của hormon steroid và hormon tuyến giáp

Hormon steroid (ví dụ: estrogen, progesteron, cortisol) và hormon tuyến giáp khó tan trong nước nên vận chuyển trong máu tới tế bào nhờ chất vận chuyển đặc hiệu (protein). Tới tế bào nhận, những hormon này khuếch tán đơn thuần qua màng tế bào và kết hợp với protein thụ thể trong bào tương hoặc trong nhân tế bào.



Hình 14.2. Cơ chế tác dụng của hormon steroid

Phức hợp hormon-chất thụ thể tác dụng như một chất thông tin nội bào và gắn vào một vùng đặc hiệu của DNA nhận gọi là vùng nhạy cảm với hormon. Sự gắn này làm hoạt hóa một số gen của DNA dẫn tới tăng cường sao chép mRNA nhờ *RNA polymerase* và qua đó tăng cường sự tổng hợp protein mới đặc hiệu (hình 14.2).

2.2. Tác dụng hormon peptid và amin

Phần lớn các hormon thuộc nhóm này tan trong nước, không cần chất vận chuyển, có thời gian bán huỷ ngắn. Các hormon này thể hiện tác dụng đối với tuyến đích bằng cách gắn với thụ thể ở màng tế bào tuyến đích. Sự kết hợp này làm xuất hiện một chất được gọi là chất thông tin thứ hai ở nội bào. Một số chất thông tin thứ hai đã được biết, trong đó AMP vòng (cAMP) là chất thông tin thứ hai đã được biết rõ nhất. Các chất thông tin thứ hai sẽ khuếch đại tín hiệu hormon qua việc hoạt hóa các enzym nội bào hoặc tác động đến các quá trình chuyển hóa đặc biệt dẫn đến thể hiện tác dụng hormon.

* Protein gắn với GTP và adenylat cyclase (AC).

Gần đây người ta đã phát hiện ra một chất trung gian trong quá trình truyền tín hiệu giữa hormon-thụ thể màng tế bào và cAMP là một protein G kích thích (Gs, s là chữ đầu của stimulating).

Gs khu trú ở bào tương khi kết hợp với GTP kích thích sự tạo ra cAMP từ ATP nhờ AC làm tăng nồng độ cAMP trong bào tương. Gs gồm 3 tiểu đơn vị (polypeptid) α , β và γ . Gs có thể tồn tại dưới hai dạng: hoạt động và không hoạt động. Khi vị trí gắn với nucleotid (của tiểu đơn vị α) được kết hợp GDP, Gs không hoạt động và không có khả năng hoạt hóa AC (Hình 14.3).

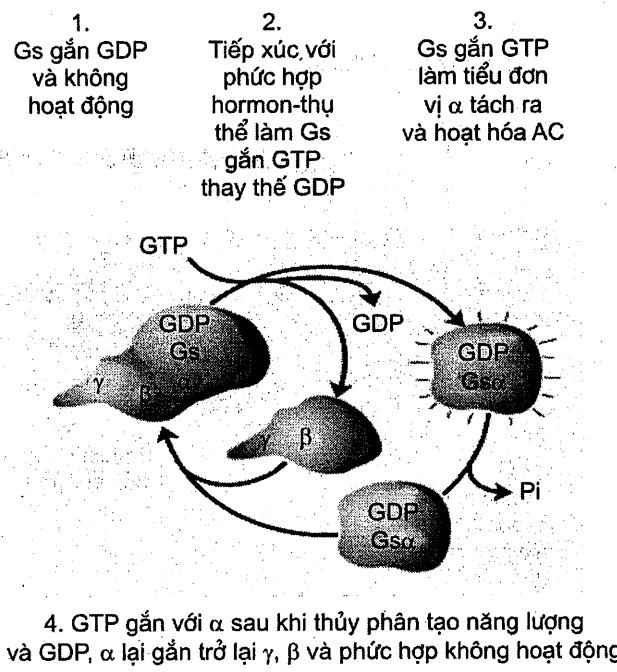
Sự liên kết epinephrin với thụ thể thúc đẩy sự thay đổi cấu trúc của thụ thể, kể cả phần thụ thể nằm sâu ở màng tế bào. Sự thay đổi cấu trúc của vùng nội bào thụ thể sẽ xúc tác sự thay thế GDP gắn với Gs không hoạt động bằng GTP. Sự thay thế GDP bằng GTP chuyển Gs thành dạng hoạt động (hình 14.3). Khi đó tiểu đơn vị β và γ tách khỏi tiểu đơn vị α ($Gs\alpha$) lúc này kết hợp với GTP và trở thành dạng hoạt động. Dạng hoạt động ($Gs\alpha$) sẽ gắn với AC và chuyển AC thành dạng hoạt động. AC xúc tác phản ứng tạo cAMP từ ATP làm tăng nồng độ cAMP trong dịch bào tương.

Tóm lại: quá trình dẫn truyền thông tin từ tín hiệu hormon qua AC gồm hai bước:

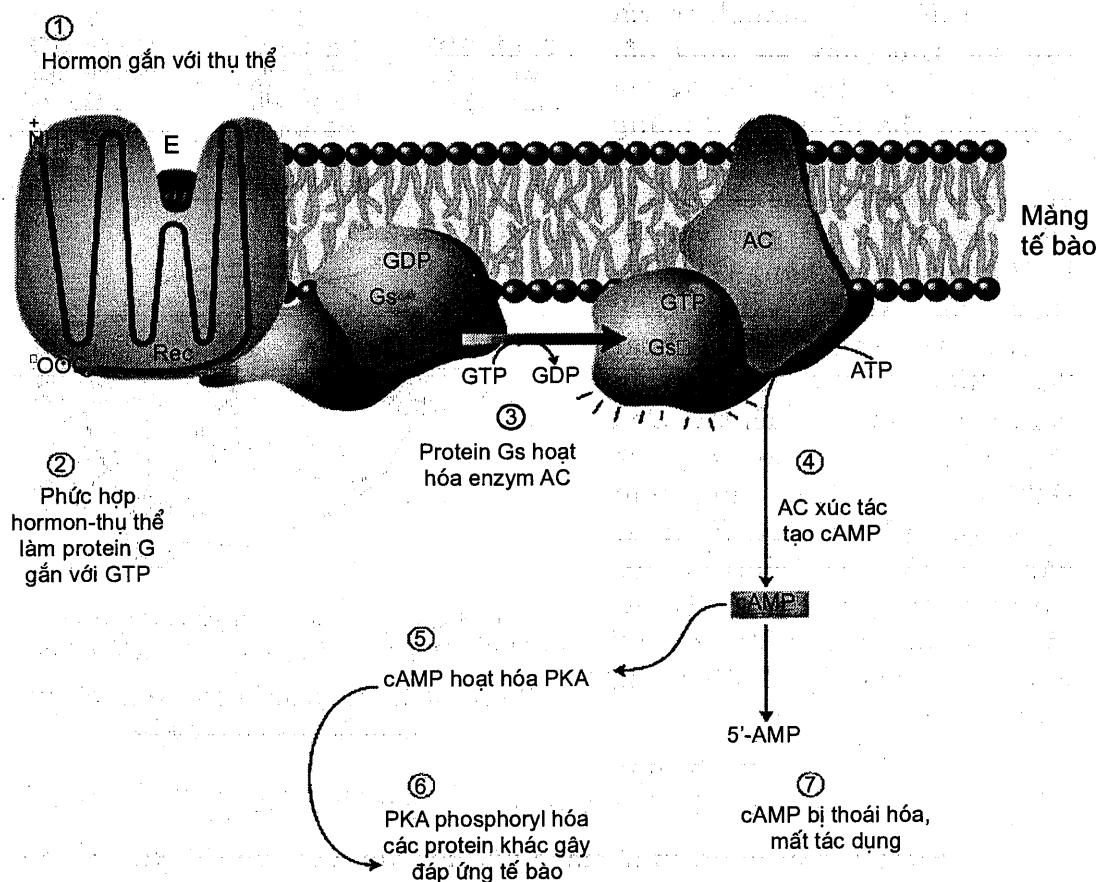
- Bước 1: một phân tử hormon kết hợp với một thụ thể xúc tác hoạt hóa nhiều phân tử protein Gs.
- Bước 2: bằng cách hoạt hóa phân tử AC, một phân tử $Gs\alpha$ hoạt động xúc tác sự tổng hợp nhiều phân tử cAMP. Hiệu quả của dòng thác phản ứng liên tiếp là sự khuếch đại rất có ý nghĩa của tín hiệu hormon. cAMP có đời sống ngắn, nhanh chóng bị phân huỷ bởi phosphodiesterase.

Tác dụng của một vài độc tố vi khuẩn thông qua sự biến đổi không thuận nghịch protein G đã được biết, ví dụ độc tố vi khuẩn tả (cholera toxin) và độc tố vi khuẩn ho gà (pertussis toxin).

Một số hormon lại có tác dụng ngược lại là ức chế AC làm hạ nồng độ cAMP và làm giảm quá trình phosphoryl hóa protein. Ví dụ somatostatin khi kết hợp với chất thụ thể đặc hiệu thì protein G loại ức chế (Gi) ức chế AC làm giảm nồng độ cAMP làm đối trọng với tác dụng của epinephrin.



Hình. 14.3. Trạng thái hoạt động và không hoạt động của protein G



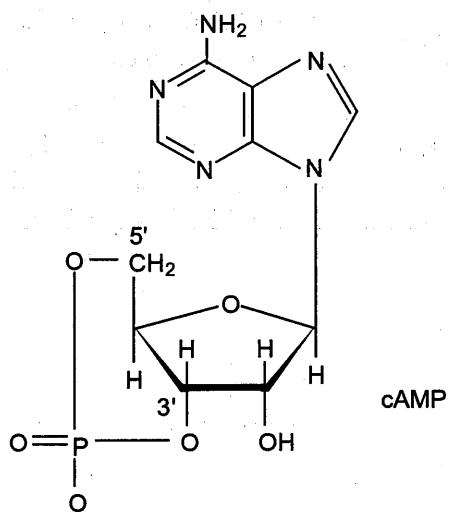
Hình 14.4. Cơ chế tác dụng chung của hormon tan trong nước

3. NHỮNG THÔNG TIN THỨ HAI (trong cơ chế tác dụng của hormon nhóm hai).

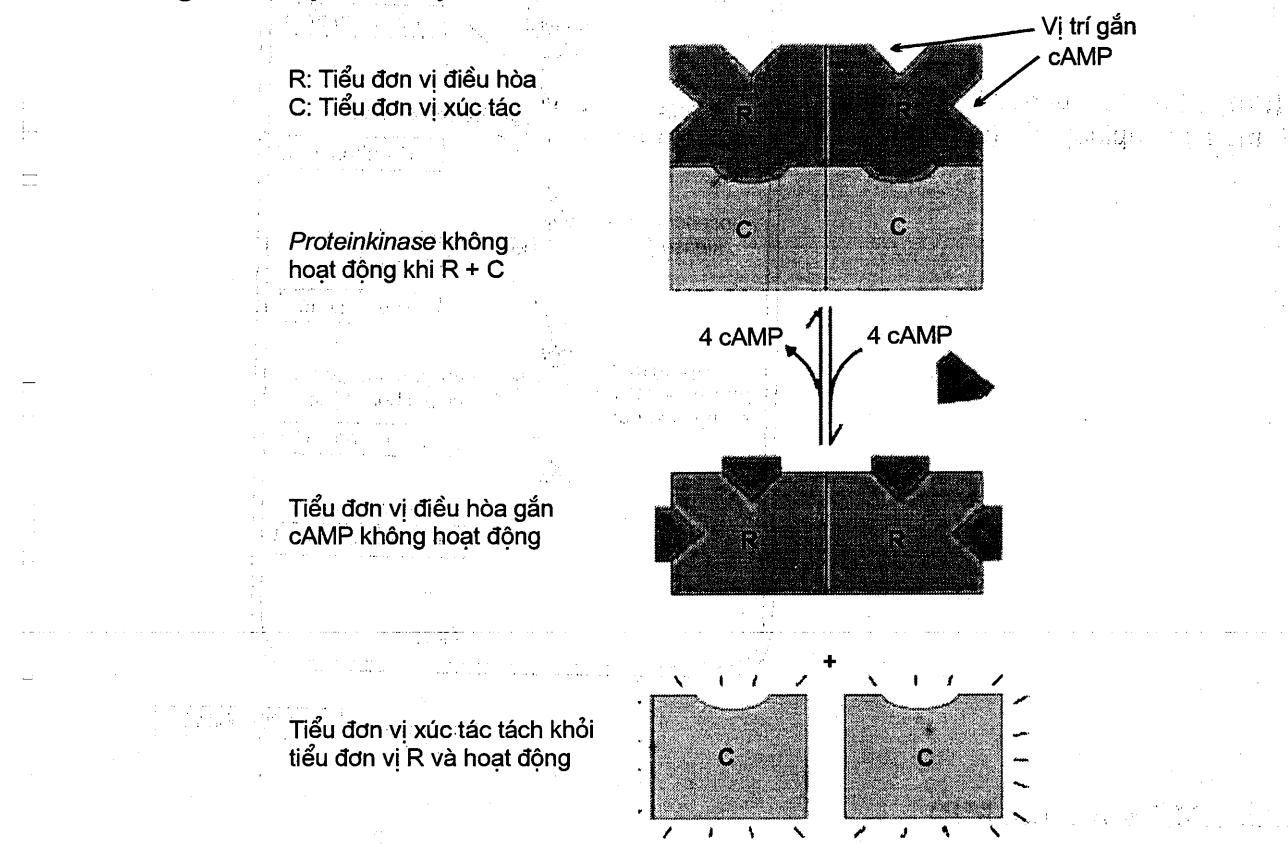
3.1. AMP vòng (cAMP)

cAMP là chất thông tin thứ hai của nhiều hormon (glucagon, epinephrin, ACTH, hormon tuyến giáp, FSH, LH).

cAMP được tạo thành từ ATP là dạng năng lượng hóa học dự trữ chủ yếu của cơ thể sống.



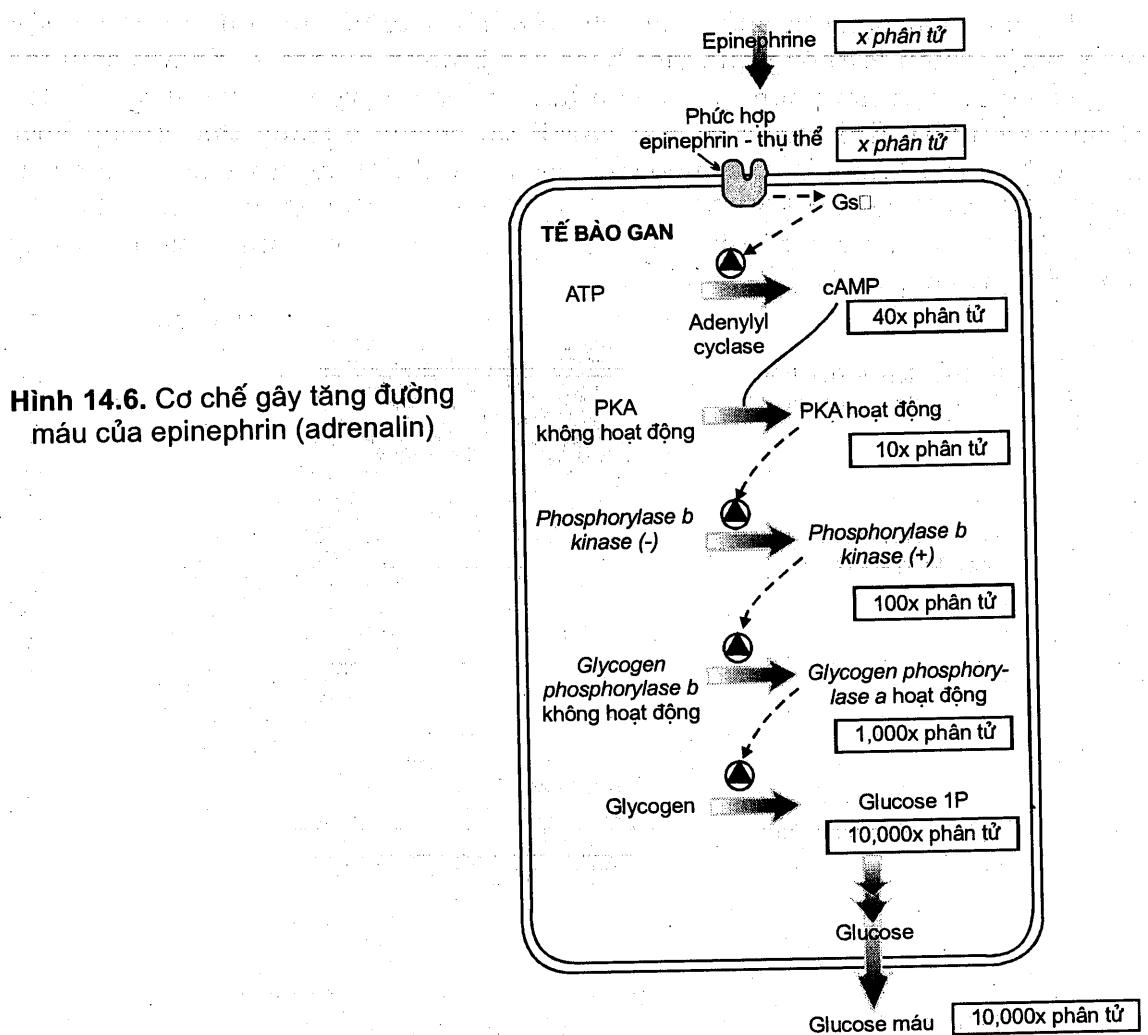
Cơ chế hoạt động làm thay đổi chuyển hóa ở tế bào đích đáp ứng với tác dụng của hormon là thông qua việc hoạt hóa *protein kinase A*. Enzym chịu tác động của cAMP có hai phần: phần điều hòa (R-regulatory unit) và phần xúc tác (C-catalytic unit). Khi không có mặt cAMP thì enzym ở trạng thái không hoạt động R_2C_2 (hình 14.5). Do tác dụng của hormon, cAMP tăng trong bào tương gắn với tiểu đơn vị R và làm tiểu đơn vị R thay đổi cấu hình tách khỏi tiểu phân C. Tiểu phân C lúc này trở nên hoạt động và xúc tác các phản ứng hóa học tương ứng làm thay đổi chuyển hóa tế bào.



Hình 14.5. Hoạt hóa protein kinase phụ thuộc cAMP

Cơ chế tăng đường máu của epinephrin là ví dụ điển hình của tác dụng của hormon thông qua cAMP.

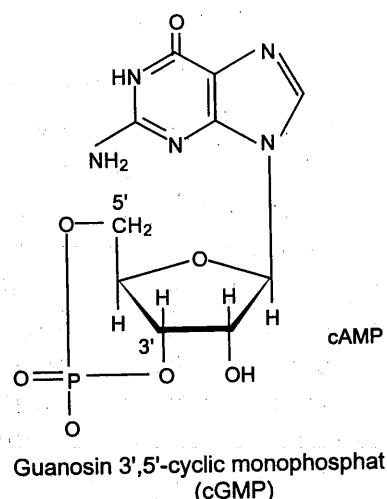
Cơ chế này được Sutherland khám phá vào năm 1950 và đã chứng minh rằng epinephrin kích thích sự hoạt động của *glycogen phosphorylase* thông qua cAMP. *Glycogen phosphorylase* tăng chuyển hóa glycogen thành glucose 1-phosphat và dẫn tới tăng tạo glucose. Hình 14.6 chỉ rõ một loạt phản ứng từ giai đoạn kích thích đầu tiên của một phân tử epinephrin tới sự tăng nồng độ glucose máu thông qua sự khuyếch đại tác dụng hormon gắn với chất thụ thể. Nhờ cách này mà từ một phân tử hormon có thể làm thay đổi hoạt động xúc tác của hàng nghìn phân tử enzym.



3.2. GMP vòng (cGMP)

cGMP cũng tác dụng như một thông tin thứ hai, ở một số loại tế bào như ruột, tim, mạch máu, não và ống thu của thận. Thông tin chuyển bởi cGMP thay đổi tùy theo tính chất mà nó tác dụng. Ở thận và ruột, cGMP làm thay đổi sự vận chuyển ion và sự giữ nước. Ở cơ tim, nó gây giãn cơ, ở não nó tham gia vào sự phát triển của não.

Ở động vật có vú, có một hormon có tên là Atrial Natriuretic Factor (ANF) được giải phóng từ tế bào cơ tim thất của tim có tác dụng hoạt hóa guanylat cyclase (GC-enzym đóng vòng tạo cGMP từ GTP). Hormon được chuyển từ tim theo máu tới thận làm tăng cGMP ở ống

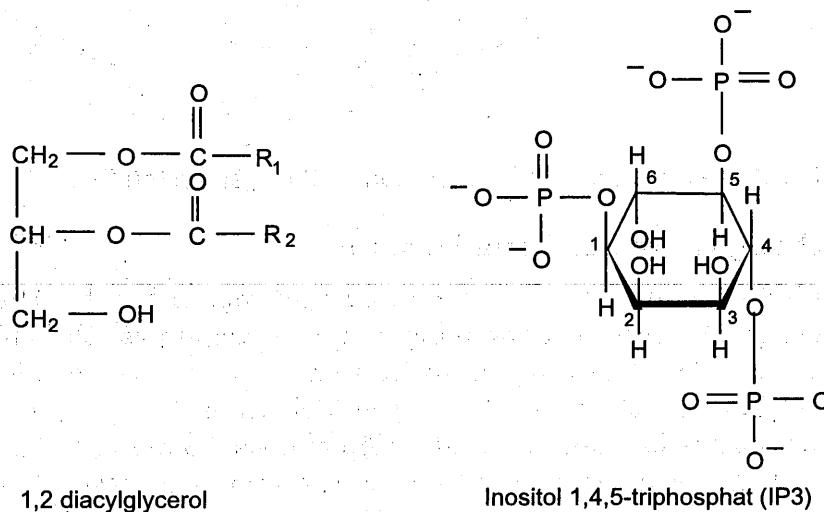


thu dẫn đến tăng bài xuất natri, nước ở ống thận. Tác dụng của cGMP thông qua *protein kinase* phụ thuộc vào cGMP (còn gọi là *protein kinase G*). Protein kinase G gồm những vùng xúc tác (C) và điều hoà (R) tương tự như *protein kinase* phụ thuộc cAMP.

Có một loại GC thứ 2 (được tìm thấy ở mô cơ tim và cơ trơn mạch máu khác hẳn loại trên có chứa hem và được hoạt hóa bởi oxyd nitric (NO được tổng hợp từ arginin). Sự tăng cGMP do NO làm giãn tế bào cơ trơn, giãn mạch.

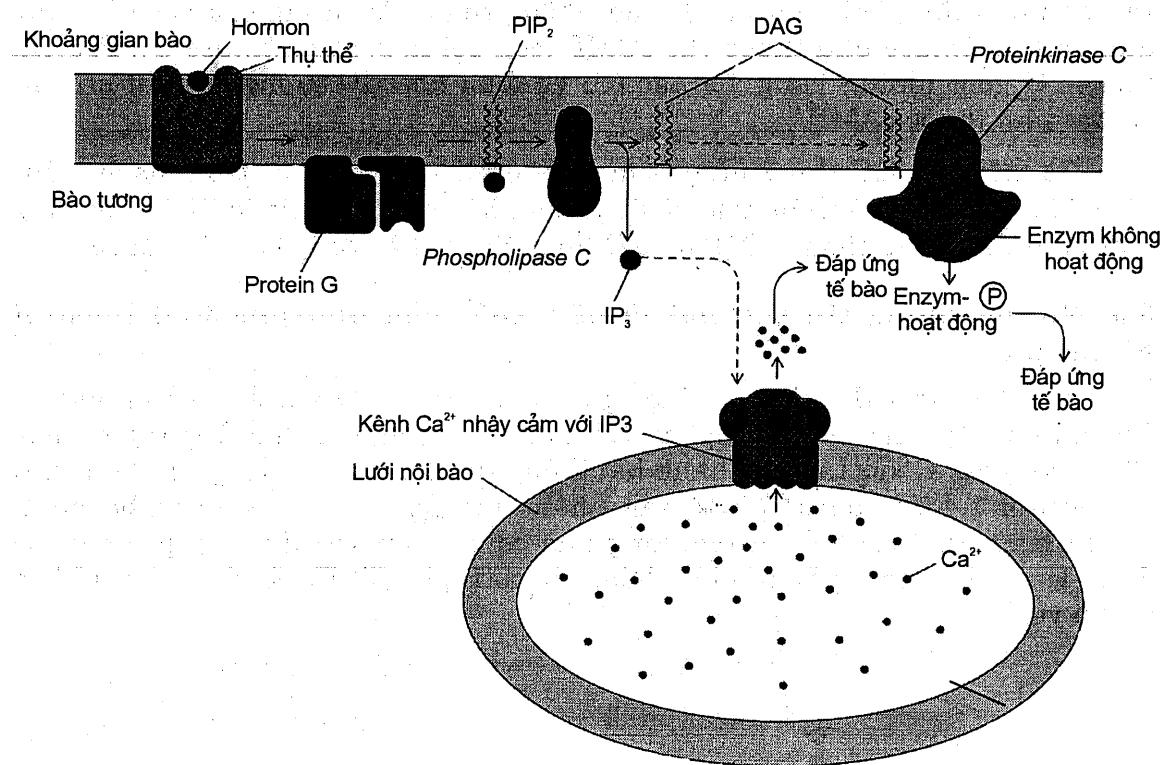
3.3. Những thông tin thứ hai là dẫn xuất của phosphatidyl inositol biphasphat

Một loại thụ thể thứ ba được gắn qua protein G với *phospholipase C*. Enzym này đặc hiệu với phosphatidyl inositol 4,5 diphosphat ở màng tế bào. *Phospholipase C* xúc tác tạo thành hai thông tin thứ hai: diacyl glycerol (DAG) và inositol 1,4,5 triphosphat từ sản phẩm phosphatidyl inositol biphasphat. Nhiều hormon được biết là tác dụng qua cơ chế này. Ví dụ: vasopressin tác dụng lên tế bào gan, yếu tố giải phóng thyrotropin (TRF) tác dụng lên tế bào tuyến yên.



Diacyl glycerol (diglycerid) tác dụng như một thông tin thứ hai, hoạt hóa *proteinkinase* phụ thuộc Ca²⁺ (*proteinkinase C*). *Proteinkinase C* phosphoryl hóa gốc Ser và Thr của protein tế bào nhận thay đổi xúc tác của protein này gây ra những biến đổi đáp ứng ở tế bào nhận.

Inosin triphosphat (IP3) là một sản phẩm tan trong nước tạo thành do tác dụng của *phospholipase C*, khuếch tán tới lối nội nguyên sinh chất tế bào. Ở đó IP3 gắn với chất thụ thể đặc hiệu làm mở kênh Ca²⁺ ở lối nội nguyên sinh giải phóng Ca²⁺ vào bào tương làm tăng nồng độ Ca²⁺ ở bào tương gấp hàng 100 lần (hình 14.7)



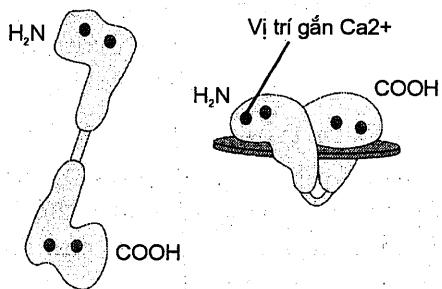
Hình 14.7. Cơ chế tác dụng của hormon qua chất truyền tin thứ 2 là DAG và IP3.

3.4. Ca^{2+} là thông tin thứ hai của hormon

Trong nhiều trường hợp Ca^{2+} tác dụng như một thông tin thứ hai kích thích đáp ứng nội bào. Bình thường nồng độ Ca^{2+} được giữ rất thấp ($0,2 \mu\text{M}$) do tác dụng của bơm Ca^{2+} trong nội nguyên sinh chất, ty thể và màng tế bào. Kích thích của hormon thần kinh hoặc các kích thích khác tạo ra một dòng chảy Ca^{2+} vào trong tế bào qua kênh đặc hiệu của Ca^{2+} ở màng tế bào hoặc giải phóng Ca^{2+} từ lối nội nguyên sinh hoặc ty thể làm tăng nồng độ Ca^{2+} ở bào tương Ca^{2+} kích thích sự đáp ứng tế bào là do hoạt hóa một loạt enzym phụ thuộc vào Ca^{2+} thông qua tiểu đơn vị điều hoà của enzym này là calmodulin, một protein gắn với Ca^{2+} .

Calmodulin là một protein acid có 4 vị trí có ái lực với Ca^{2+} . Sự liên kết giữa Ca^{2+} và calmodulin dẫn tới sự thay đổi cấu trúc của calmodulin. Ở dạng liên kết với Ca^{2+} , cấu hình calmodulin có khả năng kết hợp với một loạt protein và điều hoà hoạt động của các protein này.

Ngoài các chất truyền tin thứ 2 đã nêu lên ở trên, cho đến nay một số chất truyền tin thứ 2 khác đang được phát hiện.



Hình 14.8. Sự thay đổi cấu hình calmodulin khi gắn Ca^{2+}

3.5. Thụ thể loại tyrosin kinase

Việc phát hiện ra tác dụng của insulin đã đưa ra một cơ chế khác về tác dụng của hormon loại này. Khi insulin kết hợp với thụ thể 2 chuỗi α nằm ở mặt ngoài màng tế bào sẽ gây sự tự phosphoryl hóa (ở gốc tyrosin) 2 chuỗi β nằm ở mặt trong tế bào. Chính sự phosphoryl hóa này làm cho vùng có hoạt tính enzym tyrosinkinase ở chuỗi β hoạt hóa và phosphoryl hóa các enzym khác có trong bào tương tế bào, bắt đầu “dòng thác” của nhiều phản ứng phosphoryl hóa gây thay đổi chuyển hóa ở tế bào đích.

Một số hormon khác cũng tác dụng theo cơ chế này: yếu tố phát triển biểu mô (EGF - epidermal growth factor), yếu tố phát triển nguồn gốc tiểu cầu (PDGF-platelet derived growth factor).

4. NHỮNG HORMON PROTEIN, POLYPEPTID

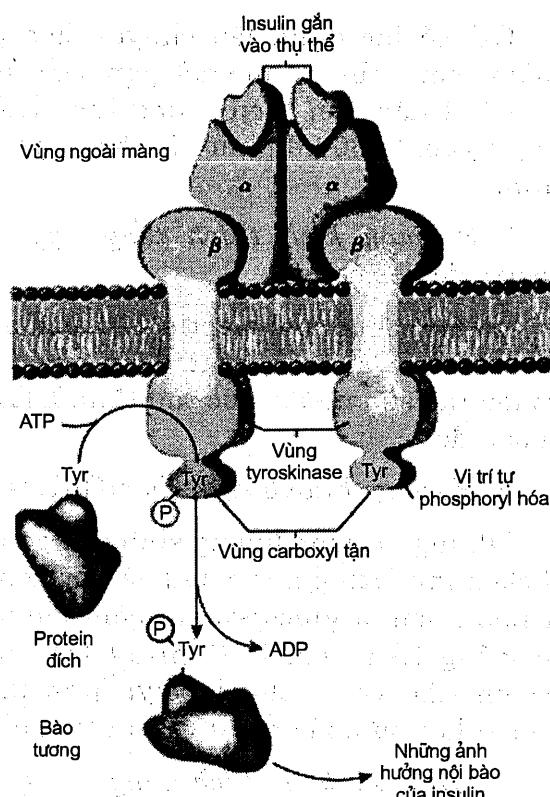
Phần này chủ yếu trình bày cấu trúc hóa học và một số tác dụng chính của các hormon.

4.1. Hormon tuyến yên

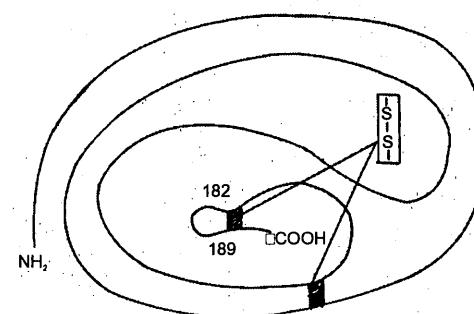
4.1.1. Hormon của tuyến yên trước

Hormon tăng trưởng (GH = growth hormone hoặc STH = somatropin hormon).

Là polypeptid gồm 191 acid amin với 2 cầu nối disulfua (giữa acid amin 53 và 165, giữa acid amin 182 và 189). GH có cấu tạo rất giống với prolactin của người và hormon lactogen của nhau thai.



Hình 14.9. Cấu trúc đơn giản của thụ thể Insulin



Hình 14.10. Cấu trúc hormon tăng trưởng ở người

GH có tác dụng lên chuyển hóa glucid, lipid, protid và điện giải của nhiều tổ chức như cơ, mô mỡ, gan. GH có tác dụng lên sự phát triển của cơ thể. Thiếu GH dẫn đến hiện tượng lùn. Thời gian bán huỷ của GH trong huyết tương người là 30-20 phút và nồng độ trung bình từ 2-4 ng/ml ở người trưởng thành.

* *Hormon kích thích tổng hợp sữa*. (Prolactin = PRL hoặc LTH = luteotropic hormone)

Là một chuỗi polypeptid 199 acid amin, trọng lượng phân tử = 23000 Da. Cấu trúc bậc một và hoạt động của LTH có nhiều giống nhau với GH và hormon tạo sữa nguồn gốc rau thai. LTH tác dụng chủ yếu lên tuyến vú để tạo sữa sau đẻ.

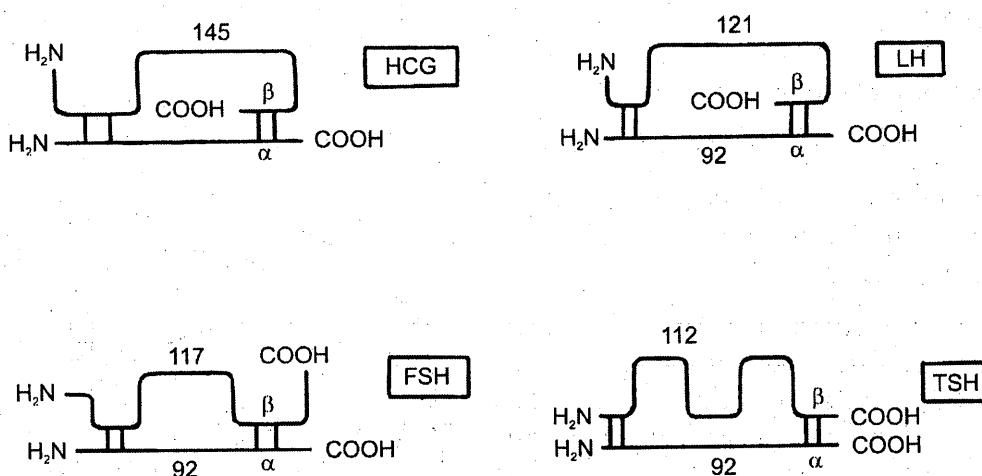
* *Hormon hướng sinh dục* (GnH = Gonadotropin hormone)

Những hormon hướng sinh dục gồm hormon kích thích nang trứng (FSH-follicle stimulating hormone) và hormon kích thích hoàng thể (LH-luteinizing hormone), đều là glucoprotein gồm hai tiểu đơn vị α và β . LH và FSH có cấu trúc giống TSH và HCG (hình 14.11). Mỗi tiểu đơn vị α rất giống nhau ở 4 loại hormon này và là chuỗi polypeptid 92 acid amin. Tính đặc hiệu của mỗi hormon là ở sự khác nhau về cấu trúc của chuỗi β .

- *Hormon kích thích nang trứng* (FSH = Follicle stimulating hormone).

Trọng lượng phân tử : 32000 Da, nồng độ trong huyết tương: 2-5 mU/mL, ở thời điểm rụng trứng FSH có nồng độ tăng tới 5-10 mU/ mL.

FSH làm nhanh sự trưởng thành của nang trứng, tăng giải phóng estrogen ở nữ, làm to tinh hoàn nhưng không làm tăng số lượng tinh trùng và không làm tăng hoạt động của tế bào kẽ ở nam giới.



Hình 14.11. Cấu trúc HCG, FSH, LH và TSH

- *Hormon kích thích hoàng thể* (LH = Luteinizing hormone).

Trọng lượng phân tử: 28500 Da. Nồng độ cơ bản khoảng 2-5mU/mL huyết tương. Ở thời điểm đỉnh của thời kỳ rụng trứng, nồng độ LH tăng đến 16-25 mU/mL.

Ở nữ, LH phối hợp với FSH gây rụng trứng và phát triển hoàng thể, kích thích bài tiết oestrogen và progesteron.

**Hormon kích thích tuyến giáp* (TSH = thyroide stimulating hormone).

Trọng lượng phân tử : 28000 Da, gồm 2 chuỗi polypeptid: chuỗi α (92 acid amin), chuỗi β (112 acid amin). Nồng độ trung bình là 3 ng/ml huyết tương.TSH tham gia nhiều giai đoạn của quá trình tổng hợp các hormon giáp trạng.

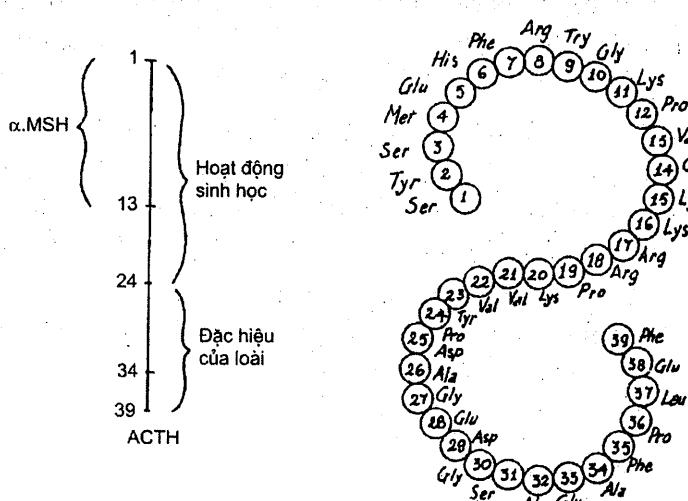
* *Hormon kích thích tuyến vỏ thượng thận* (ACTH = Adreno-corticotropin hormon).

ACTH người là polypeptid gồm 39 acid amin. Trọng lượng phân tử : 4500 Da. Đoạn peptid đầu 24 acid amin giống nhau ở nhiều loài động vật và người. Đoạn peptid còn lại không có tác dụng sinh học, thay đổi theo nguồn gốc động vật (hình 14.12).

ACTH có nhiều tác dụng: kích thích vỏ thượng thận bài tiết các hormon chuyển hóa đường, kích thích tạo melanin do ACTH có cấu tạo tương tự αMSH, điều này giải thích về nguyên nhân gây sạm da trong bệnh Addison. Chuỗi peptid có 5 acid amin (từ 6 -10) có hoạt động của MSH.

4.2.2. Hormon của tuyến yên giữa

Thuỷ giữa tuyến yên bài tiết α-MSH (*Hormon kích thích hắc tố bào* = Melanocyte stimulating hormone). Tuyến yên người lớn thiếu thuỷ giữa vì vậy không có α-MSH ở huyết tương và tuyến yên người.



Hình 14.12. Cấu tạo hóa học của ACTH

4.2.3. Hormon của tuyến yên sau

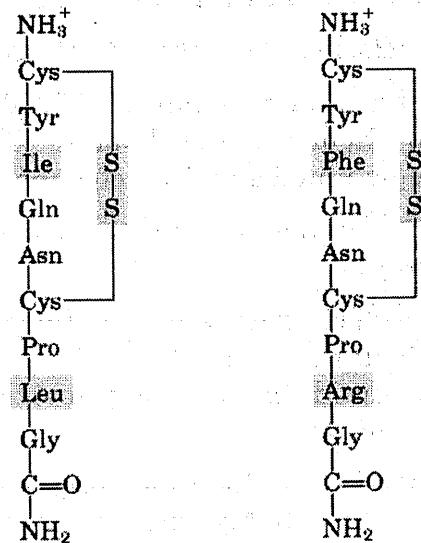
Hai hormon peptid có mặt ở thuỷ sau tuyến yên là oxytocin và vasopressin. Đây là hai hormon được tách chiết, tinh chế và tổng hợp đầu tiên (Vincent Du Vigneaud, giải thưởng Nobel 1954). Chúng được tổng hợp từ tế bào thần kinh vùng dưới đồi, di chuyển dọc bó trên thị và được dự trữ ở các nang, sẽ được giải phóng tuỳ theo sự kích thích thích hợp.

- **Vasopressin:** là hormon chống lợi niệu (ADH = Antidiuretic hormone).

Cấu tạo: peptid có 9 acid amin.

Tác dụng: giảm bài tiết nước tiểu do tăng cường tái hấp thu nước ở ống thận và làm co mạch nên có tác dụng tăng huyết áp. Thiếu hormon này sẽ gây đái nhạt, đái nhiều (5-10lit/ngày) và nước tiểu có tỷ trọng thấp (1.001-1.005).

- **Oxytocin:** là peptid có 9 acid amin, khác vasopressin ở acid amin thứ 3 và thứ 8. Oxytocin có tác dụng trên cơ trơn của tử cung và tuyến vú, gây co cơ tử cung lúc chuyển dạ và kích thích tiết sữa khi cho con bú.



Oxytocin người Vasopressin người

Hình 14.13. Cấu tạo của vasopressin và oxytocin người

4.3. Những hormon rau thai

- **Gonadotropin rau thai (HCG = Human Chorionic Gonadotropin).**

Hormon này xuất hiện trong máu và nước tiểu phụ nữ ở những ngày đầu của thời kỳ có mang, có nguồn gốc từ rau thai. HCG có nồng độ ở nước tiểu và máu cao nhất vào tháng thứ 2 và thứ 3, mất dần trong vài ba ngày sau khi đẻ.

HCG là glycoprotein, gồm hai chuỗi polypeptid α và β. Chuỗi α của HCG có cấu tạo giống chuỗi α của LH, FSH và TSH. Chuỗi β đặc hiệu cho hoạt tính sinh học của HCG, kích thích bài tiết oestrogen và progesteron (giống tác dụng của LH).

- Ngoài ra rau thai còn bài tiết hormon kích thích tạo sữa (HPL = Human Placental Lactogen), prolactin rau thai (PRL = placental prolactin) và hormon kích thích bài tiết hormon tuyến giáp (HCT = Human Chorionic Thyrotropin).

4.4. Hormon vùng dưới đồi. Vùng dưới đồi sản sinh ra những hormon thần kinh có tác dụng điều hoà sự bài tiết những hormon của tuyến yên trước. Những hormon vùng dưới đồi thường là những peptid ngắn.

Bảng 14.1. Các hormon peptid vùng dưới đồi

Tên hormon	Cấu tạo	Tác dụng chính
Hormon giải phóng corticotropin (CRH)	Một chuỗi peptid, 41 acid amin	Kích thích bài tiết ACTH
Hormon giải phóng thyrotropin (TRH)	Tripeptid, 3 acid amin.	Kích thích bài tiết TSH
Hormon giải phóng gonadotropin (GnRH)	Một chuỗi peptid, 10 acid amin	Kích thích bài tiết FSH/LH
Yếu tố ức chế Prolactin (PIF).	Một chuỗi peptid, 56 acid amin	Ức chế bài tiết PRL
Hormon giải phóng GH (GH-RH) Hormon ức chế GH (GH-IH)	3 dạng Peptid: 37, 40, 44 acid amin Peptid : 14 acid amin	Kích thích bài tiết GH Ức chế bài tiết GH

4.5. Hormon tuyến cận giáp và calcitonin

Ở người, tuyến cận giáp trạng dài 6-7mm và nặng khoảng 140mg. Hormon tuyến cận giáp và calcitonin (cùng với vitamin D) tham gia vào quá trình chuyển hóa Ca^{2+} .

**Hormon tuyến cận giáp (PTH - Parathyroid hormone)*: là polypeptid gồm 84 acid amin. Hormon tổng hợp gồm 34 acid amin đầu, người ta cũng xác định được chất tiền thân của PTH gồm prepro PTH có 115 acid amin và pro PTH có 90 acid amin.

PTH là hormon làm tăng Ca^{2+} máu, tác dụng chủ yếu lên tế bào thận và xương; tăng phân huỷ xương, giải phóng Ca^{2+} vào máu; tăng tái hấp thu Ca^{2+} và ức chế tái hấp thu phosphat của tế bào thận. Ở màng ruột, PTH tăng hấp thu Ca^{2+} phối hợp với vitamin D. PTH không có dự trữ ở tuyến, được tổng hợp và bài tiết liên tục vào máu.

* *Calcitonin (CT)*: được bài tiết từ tế bào của tuyến cận giáp và tuyến giáp. TCT là một polypeptid có 32 acid amin.

Tác dụng chính của CT là hạ Ca^{2+} và phosphat trong máu, do ức chế sự giải phóng Ca^{2+} từ xương vào máu (ngược với tác dụng của PTH). Ức chế tái hấp thu Ca^{2+} ở ống thận.

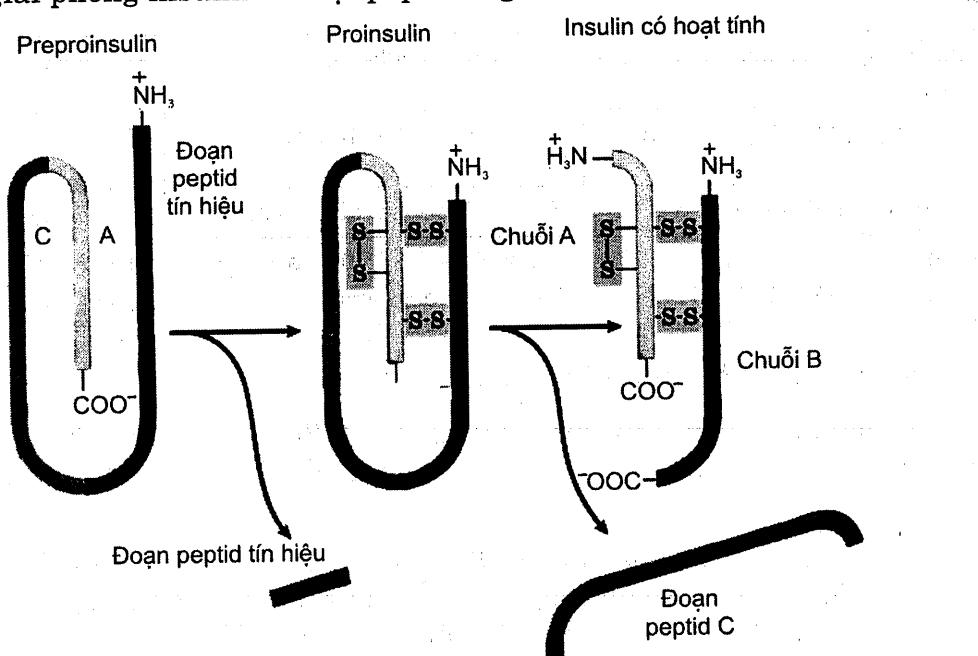
4.6. Hormon tuyến tụy

Chức phận nội tiết của tuyến tụy khu trú ở đảo Langerhans của tuyến.

4.6.1. Insulin

Cấu tạo: được bài tiết từ tế bào β của đảo Langerhans, bản chất là protein. Cấu trúc bậc 1 của insulin được xác định bởi Sanger (năm 1933), gồm 51 acid amin với hai chuỗi polypeptid: chuỗi A có 21 acid amin, chuỗi B có 30 acid amin, hai chuỗi nối với nhau bằng hai cầu nối disulfua. Ngoài ra chuỗi A có một disulfua nội chuỗi. Cấu trúc bậc 2 và bậc 3 của insulin được xác định năm 1969.

Chất tiền thân của insulin là proinsulin. Proinsulin của lợn gồm một chuỗi polypeptid, bắt đầu từ chuỗi B và nối với chuỗi A bởi một peptid gồm 30 acid amin. Trypsin đã thuỷ phân proinsulin, cắt mảnh peptid nối giữa chuỗi A và chuỗi B, giải phóng insulin và một peptid C gồm 35 acid amin.



Hình 14.14. Cấu tạo của Insulin

Insulin, proinsulin và peptid C có trong huyết tương dưới dạng tự do, không kết hợp với protein. Insulin được thoái hóa chủ yếu ở gan và thận do các protease.

Tác dụng rõ nhất của insulin là làm giảm glucose máu, bằng cách:

- Tăng tính thấm glucose qua màng tế bào, đồng thời cũng làm tăng sự thấm thấu các ion K^+ và phosphate vô cơ, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phosphoryl hóa và sử dụng glucose. Cần chú ý rằng, có một số tổ chức không nhạy cảm với insulin, do vậy ở những tổ chức này insulin không làm thay đổi nồng độ glucose trong tế bào (như tổ chức thần kinh, bạch cầu, phổi, thận, nhất là gan). Ở gan glucose thấm qua màng tế bào một cách tự do dù có hay không có mặt insulin.
- Tác dụng trực tiếp chuyển glycogen synthetase từ dạng không hoạt động thành dạng hoạt động, do đó tăng cường quá trình chuyển glucose thành glycogen.
- Kích thích tổng hợp glucosekinase ở gan, úc chế tổng hợp một số enzym xúc tác sự sản xuất đường như pyruvat carboxylase.
- Giảm tác dụng của glucose-6-phosphatase.
- Úc chế phân huỷ lipid, cho nên tăng cường đốt cháy glucose.

Về cơ chế tác dụng: insulin tác dụng lên tế bào nhận (tế bào đích) gây giảm cAMP (trái với tác dụng của adrenalin và glucagon).

4.6.2. Glucagon

Được bài tiết bởi tế bào α của đảo Langerhans. Là một peptid có 29 acid amin, có nhiều đoạn giống secretin- hormon tiêu hóa. Glucagon thoái hóa chủ yếu ở gan. Giống adrenalin, glucagon kích thích sự tạo thành AMP vòng ở tế bào đích, hoạt hóa enzym *phosphorylase* ở gan (glucagon không có tác dụng hoạt hóa enzym này ở cơ). Glucagon còn kích thích phân huỷ mỡ của mô, giải phóng glycerol và acid béo do enzym *lipase* được hoạt hóa bởi cAMP.

4.6.3. Somatostatin (GIH)

Là một peptid có 14 acid amin, được bài tiết ở vùng dưới đồi và bởi tế bào D của tuyến tụy. Somatostatin ức chế sự bài tiết hormon tăng trưởng (GH hay STH), insulin và glucagon.

4.7. Hormon tiêu hóa (hormon của hệ thống dạ dày, ruột)

Là những polypeptid, được bài tiết bởi những tế bào nội tiết đặc biệt của đường tiêu hóa.

- **Gastrin:** tạo ra từ tế bào vùng hang vị của niêm mạc dạ dày và bài tiết khi có sự tiêu hóa các protein. Có hai loại gastrin: gastrin 1 và gastrin 2. Cả hai loại đều có cấu tạo polypeptid với 17 acid amin, gastrin 2 có thêm gốc sulfat ở acid amin thứ 12 (tyrosin). Gastrin tổng hợp có 4 acid amin cuối (acid amin 14- acid amin 17), có hoạt tính sinh học của gastrin và được sử dụng trong lâm sàng.

Gastrin có tác dụng kích thích bài tiết dịch vị và co bóp của dạ dày. Người ta đã chứng minh tác dụng gây loét của gastrin và liên quan giữa tăng tiết gastrin với hội chứng Zollinger Ellison (u tuy, đa tiết dịch vị, loét tá tràng).

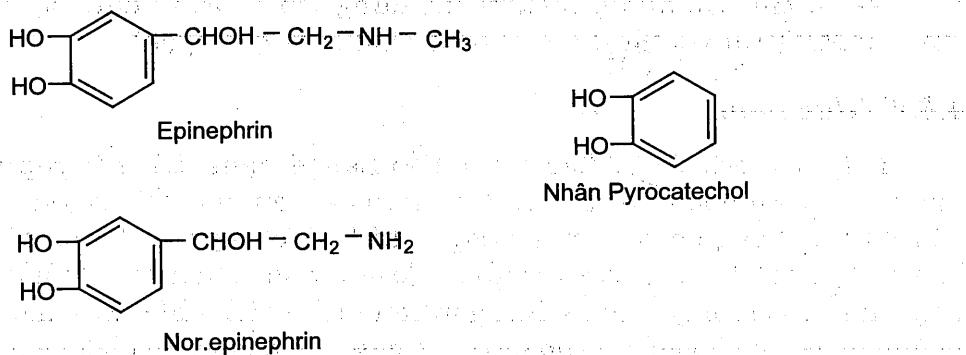
- **Secretin:** được bài tiết ở niêm mạc của khúc đầu ruột, được phát hiện năm 1902 bởi Bayliss và Starling. Là một polypeptid gồm 27 acid amin, có một phần giống glucagon. Secretin có tác dụng kích thích bài tiết nước và bicarbonat của dịch tụy.

- **Cholecystokinin (CCK):** được bài tiết từ niêm mạc tá tràng khi có sự tiêu hóa mỡ và protid. Là một polypeptid có 33 acid amin. Kích thích bài tiết *amylase* tụy.

5. HORMON LÀ DẪN XUẤT CỦA ACID AMIN

5.1 Hormon tụy thượng thận

Tụy thượng thận có hai loại tế bào, một loại tế bào bài tiết adrenalin và một loại tế bào bài tiết noradrenalin; gọi chung là catecholamin vì chúng được coi là dẫn xuất của catechol.



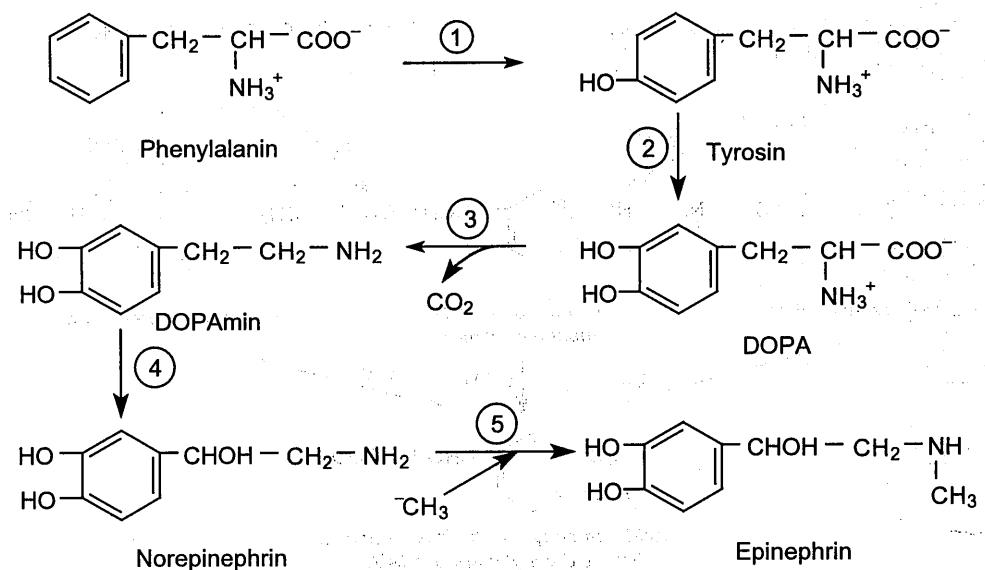
Hình 14.15. Cấu tạo hóa học của catecholamin

* Sinh tổng hợp catecholamin:

Catecholamin được tổng hợp từ một acid amin cần thiết là phenylalanin qua các giai đoạn:

- Oxy hóa phenylalanin thành tyrosin nhờ phenylalanin *hydroxylase*.
- Oxy hóa tyrosin thành dihydroxyphenylalanin (DOPA) nhờ tyrosin *hydroxylase*.
- Khử carboxyl của DOPA thành Dopamin nhờ DOPA-*decarboxylase* có coenzym là pyridoxalphosphat.
- Chuyển dopamin thành norepinephrin nhờ dopamin β *hydroxylase*. Phản ứng này cần sự có mặt của oxy phân tử và vitamin C.
- Metyl hóa norepinephrin thành epinephrin nhờ S-adenosyl-methionin (chất cho gốc $-\text{CH}_3$).

Norepinephrin còn được tổng hợp và dự trữ ở tân cùng dây thần kinh. Phản ứng methyl hóa norepinephrin xảy ra ở tuỷ thượng thận trong tế bào ưa crom. Tỷ lệ giữa 2 hormon được bài tiết là: Norepinephrin/Epinephrin = 1/4.



Hình 14.16. Tổng hợp epinephrin và norepinephrin

* *Thoái hóa của catecholamin*

Xảy ra chủ yếu ở gan, với sự tham gia của hai enzym chính:

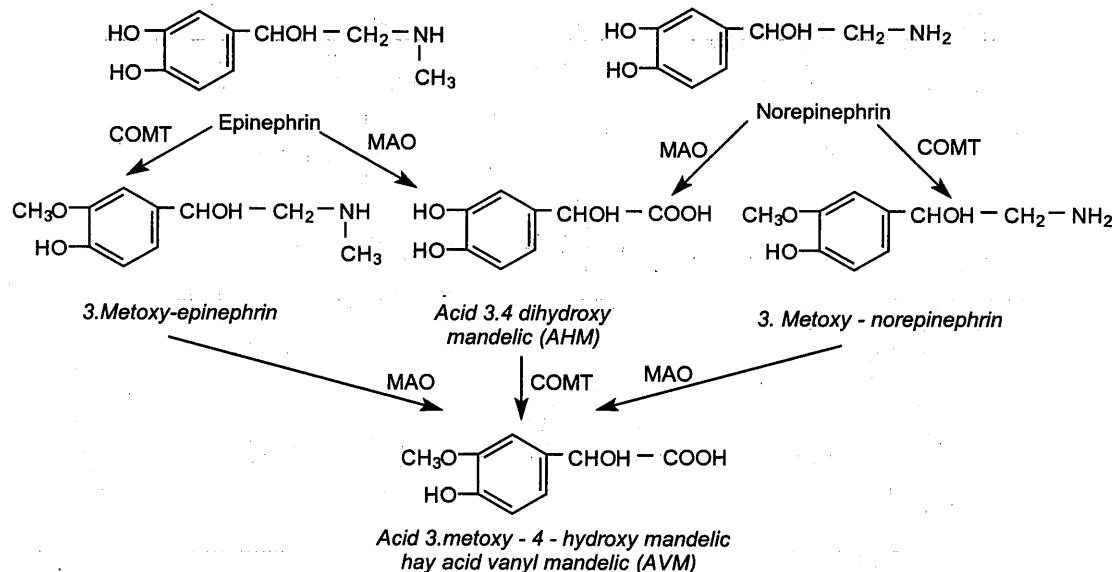
- *Monoamino oxidase* (MAO): có ở tận cùng thần kinh, xúc tác quá trình khử amin oxy hóa catecholamin, tạo acid 3,4 dihydroxy mandelic.
- *Catechol oxymethyl transferase* (COMT): xúc tác sự vận chuyển gốc - CH_3 từ S-adnosyl methionin lên gốc phenol của catecholamin.

Sản phẩm thoái hóa cuối cùng, chủ yếu của catecholamin là acid vanyl mandelic (AVM), chất này được bài tiết ra nước tiểu. Trong nước tiểu còn có 3.metoxyadrenalin và 3.metoxynorepinephrin, là những chất không có hoạt tính sinh học. Các sản phẩm này được đào thải qua nước tiểu dưới dạng liên hợp với acid glucuronic và acid sulfuric.

* *Tác dụng của catecholamin.*

Epinephrin và Norepinephrin có những tác dụng giống nhau và khác nhau:

- Trên hệ tim mạch: epinephrin làm giãn mạch ở cơ xương, ở tim và làm co mạch ở da, ở các tạng ổ bụng. Norepinephrin làm co mạch toàn thân, do đó gây tăng huyết áp.
- Trên chuyển hoá: epinephrin kích thích phân huỷ glycogen ở gan và cơ, làm tăng đường máu qua trung gian là cAMP; tăng phân huỷ lipid giải phóng acid béo và glycerol.



Hình 14.17. Thoái hóa của catecholamin

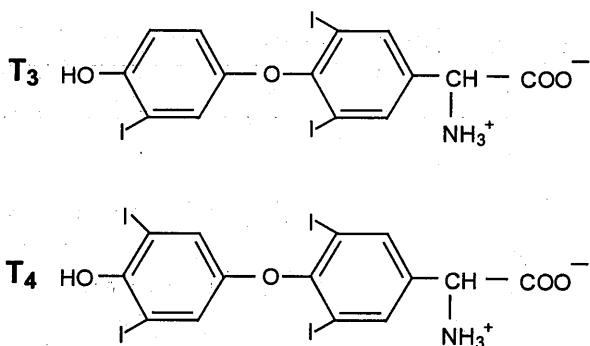
5.2. Hormon giáp trạng

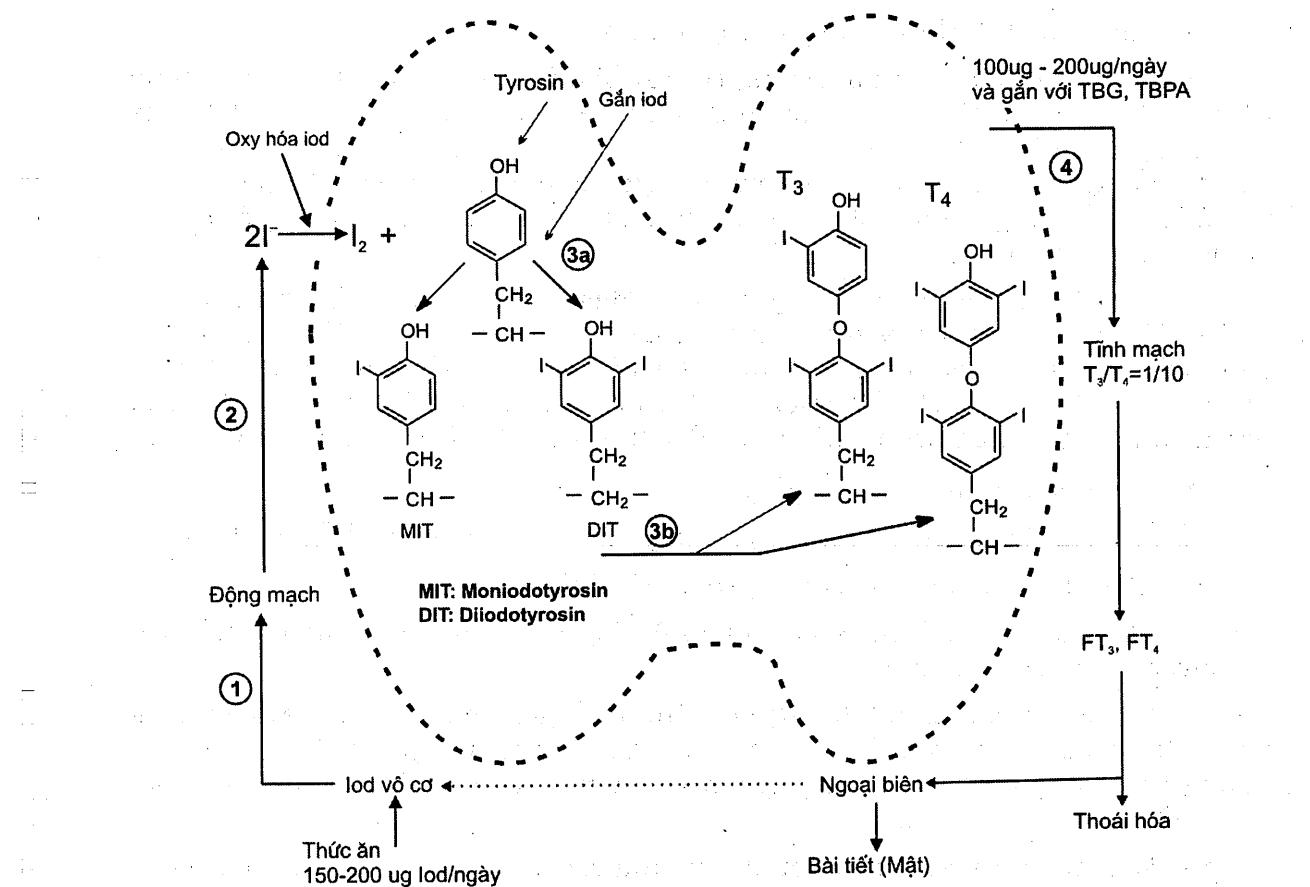
Tuyến giáp có hai phần rõ rệt: một phần gồm những nang bào tiết các hormon có iod, chủ yếu là thyroxin (T₄) và triiodothyronin (T₃), một phần gồm những tế bào nang bào tiết một polypeptid là calcitonin (calcitonin cũng có nguồn gốc cận giáp trạng). Hoạt động tuyến giáp phụ thuộc vào việc cung cấp iod – một nguyên tố hiếm - qua thức ăn vào cơ thể. Mối liên quan giữa tuyến giáp và iod đã được biết từ lâu, thể hiện ở bệnh bướu cổ địa phương do thức ăn và nước uống thiếu iod.

* Cấu tạo hóa học

Hormon tuyến giáp là dẫn xuất có iod của tyrosin. Chất tiền thân của hormon tuyến giáp là monoiodotyrosin (MIT) và diiodotyrosin (DIT). Hai chất có tác dụng hormon là T₃ và T₄. T₃ hoạt động mạnh hơn T₄ nhưng T₄ chiếm lượng lớn hơn nhiều.

* Tổng hợp hormon giáp trạng (hình 14.18).





Hình 14.18. Các giai đoạn sinh tổng hợp và bài xuất hormon tuyến giáp vào máu.

- Giai đoạn 1: thu nhận và cô đặc iodua bởi tế bào tuyến giáp:

Iod được đưa vào cơ thể qua thức ăn và nước uống (khoảng 50-200 $\mu\text{g}/\text{ngày}$). Iod được hấp thu bởi ruột dưới dạng iodua (I^-) và nhanh chóng được gắn vào tuyến giáp. Tuyến giáp giữ khoảng 100 μg iod/ngày, 25g tuyến giáp ($\approx 1/300$ trọng lượng cơ thể) giữ 1/3 lượng iod toàn phần của cơ thể. Giai đoạn này được kích thích chủ yếu bởi TSH và thioure, bị úc chế bởi các anion: thiocyanat SCN^- , clorat ClO_4^- .

- Giai đoạn 2: oxy hóa iod.

Quá trình được xúc tác bởi *peroxidase* màng. Các chất thioure, thiourecil và anion cyanua CN^- úc chế hoạt động của enzym, do đó có tác dụng ngăn chặn quá trình oxy hóa iodua.

- Giai đoạn 3: gắn iod phân tử vào thyroglobulin.

Thyroglobulin là chất keo, gồm chủ yếu là glycoprotein. Iod được gắn vào những gốc tyrosin của thyroglobulin tạo MIT và DIT dưới tác dụng xúc tác của iodua *peroxidase*. Sau đó có sự ngưng tụ của hai phân tử DIT để tạo thành T_4 (chủ yếu) và của một phân tử DIT với một phân tử MIT để tạo thành T_3 trên phân tử thyroglobulin.

- Giai đoạn 4: thuỷ phân thyroglobulin:

Dưới tác dụng của các *protease*, thyroglobulin được thuỷ phân giải phóng T3 và T4 vào máu. Giai đoạn này được kích thích bởi TSH, MIT và DIT chứa 2/3 lượng iod của thyroglobulin, không qua huyết tương. Enzym *halogenase* của tuyến giáp khử iod của iodothyrosin giải phóng iodua và một phần I sẽ tham gia phản ứng iod hóa thyroglobulin (chu trình iod trong tuyến giáp) cùng với iod lấy từ máu.

T3 và T4 đổ vào máu. Trong huyết tương, T4 được vận chuyển chủ yếu (70% -75%) bởi TBG (thyroxin binding globulin) và 15% - 20% bởi TBPA (thyroxin binding prealbumin). Phần nhỏ kết hợp với albumin. Bình thường trong máu T4 chiếm 90%, T3 chiếm 10%, còn khoảng 0,03% thyroxin ở dạng tự do và dạng này có hoạt tính sinh học. TBG, TBPA, TBA là kho dự trữ T3 và T4.

* *Thoái hóa hormon tuyến giáp*

Quá trình thoái hóa hormon tuyến giáp xảy ra ở nhiều mô như gan, thận...

- Khử iod nhờ xúc tác của thyroxin *deiodinase*.
- Khử amin, khử carboxyl hoặc liên hợp ở nhóm chức phenol với acid glucuronic và acid sulfuric.
- + Các sản phẩm liên hợp được tạo thành ở gan, theo đường mật đổ xuống ruột. Vì khuẩn có enzym β *glucuronidase* phân huỷ sản phẩm liên hợp, giải phóng hormon giáp trạng và một phần hormon ở dạng tự do này được tái hấp thu nhờ chu trình ruột gan.
- + Quá trình thoái hóa chuỗi alanin qua các bước khử amin, khử carboxyl tạo những sản phẩm không có tác dụng sinh học.

* *Tác dụng của hormon giáp trạng*:

Tất cả các tế bào của cơ thể (trừ não và tinh hoàn người trưởng thành) đều là tế bào đích của hormon tuyến giáp. Tác động lên nhiều chuyển hóa.

- + Chuyển hóa glucid: tăng hấp thu glucose ở ruột, tăng phân huỷ glycogen.
- + Tăng phân huỷ lipid, nhất là triglycerid, phospholipid và cholesterol.
- + Tăng tổng hợp protein do tác động trực tiếp đến sự hoạt hóa RNA *polymerase* hoặc gián tiếp qua kích thích bài tiết GH.
- + Tăng cường sử dụng oxy của cơ thể, tăng chuyển hóa cơ bản, có tác dụng sinh nhiệt.

6. CÁC HORMON STEROID

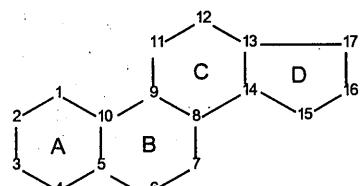
Thuộc nhóm này có hormon vỏ thượng thận và hormon sinh dục nữ, hormon sinh dục nam.

6.1. Danh pháp hóa học của các steroid

Hormon steroid đều có nhân cơ bản là nhân cyclopentanoperhydrophenanthren (nhân gonan), 17C với 3 vòng 6 carbon và 1 vòng có 5 carbon; đánh số A, B, C, D.

* Hormon steroid chia làm 3 nhóm:

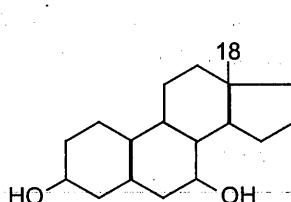
- Nhóm 18C có nhân cơ bản là Estran, gốc methyl -CH₃ (tức C18) đính ở vị trí C13. Thuộc nhóm này gồm có các hormon sinh dục nữ.



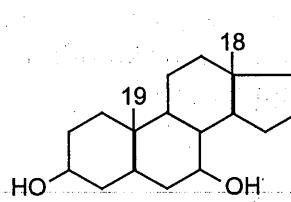
Cyclopentanoperhydrophenanthrene (Gornan)

- Nhóm 19C có nhân cơ bản là andostan, gốc methyl -CH₃ (tức C18 và C19) đính ở vị trí C13 và C10. Thuộc nhóm này là các hormon sinh dục vỏ thượng thận và sinh dục nam.

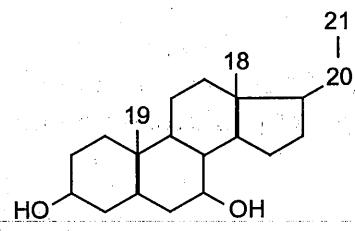
- Nhóm 21C có nhân cơ bản là pregnan. Ngoài hai nhóm -CH₃ đính ở C13 và C10, có thêm một chuỗi ngang -CH₂-CH₃ đính ở vị trí C17. Thuộc nhóm này có progesteron và các hormon chuyển hóa đường, hormon chuyển hóa muối nước của vỏ thượng thận.



Estran (18C)



Aldrostan (19C)

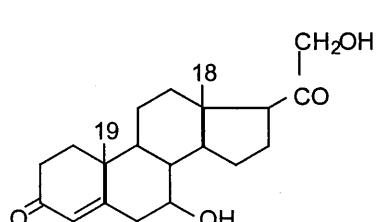


Pregnan (21C)

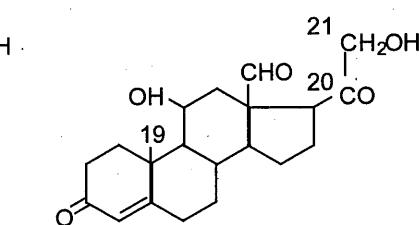
6.2. Hormon vỏ thượng thận

6.2.1. Cấu tạo hóa học: Chiết suất khoảng 50 steroid được chiết xuất từ vỏ thượng thận nhưng chỉ có 10 chất có hoạt tính hormon, chia làm ba nhóm:

- *Hormon chuyển hóa muối, nước (Mineralocorticoid):* aldosteron, 11-deoxycorticosteron (DOC), được bài tiết từ vùng cầu của vỏ thượng thận, gồm 21C.

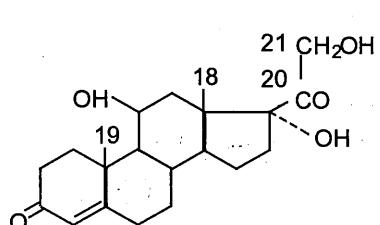


11-Deoxy corticosteron

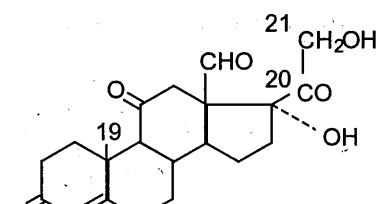


Aldosteron
(11β, 21 dihydroxy 3,20 dioxopregn-4-en-18-al)

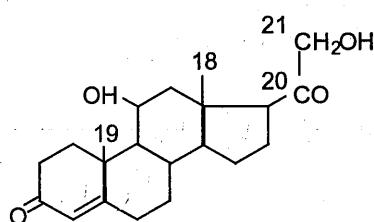
– Hormon chuyển hóa đường (*Glucocorticoid*): gồm có cortisol, cortison và corticosterone, đều có 21C và có oxy ở C11 nên gọi là 11.oxysteron.



Cortisol (11 β , 17, 21 trihydroxy-4 pregnene-3, 20 dion)

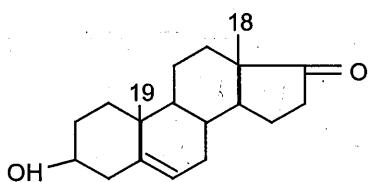


Cortison (11 dehydrocortisol)

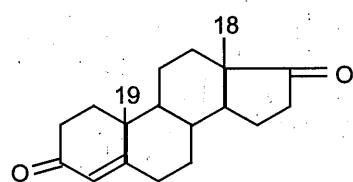


Corticosterone

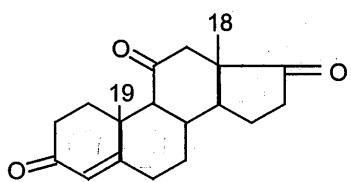
– Hormon sinh dục vỏ thượng thận: gồm có dehydroepiandrosteron (DHEA), androstendion, 17 ceto androstendion (androstentrion) và 11 β -hydroxy androstendion. Nhóm này có 19C.



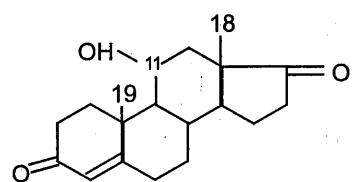
DHEA (3 β -hydroxy 5-androsten-17on)



Androstendion (Δ -4-androsten-3,17 dion)



Androstentrion



11 hydroxy-androstendion

6.2.2. Tổng hợp và thoái hóa hormon vỏ thượng thận

Tổng hợp: nguyên liệu là mầu 2C (acetat) diễn ra qua nhiều bước

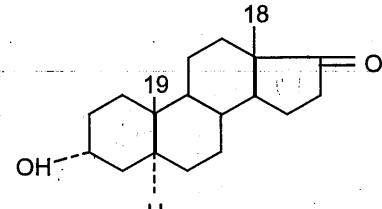
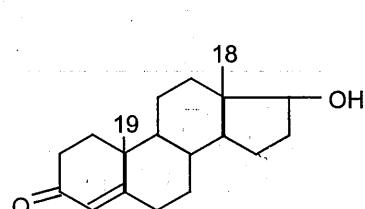
Thoái hóa: chủ yếu ở gan, nhờ các phản ứng oxy hóa khử tạo các sản phẩm không còn hoạt tính của hormon, đào thải dưới dạng liên hợp qua nước tiểu. 1-5% các hormon bài xuất qua nước tiểu dưới dạng tự do.

6.2.3. Tác dụng của các hormon vỏ thượng thận

- Hormon chuyển hóa đường: kích thích tân tạo đường, tăng dự trữ glycogen ở gan, tăng hoạt độ *G6 Phosphatase* nên tăng giải phóng glucose tự do từ gan vào máu và làm tăng đường máu. Tăng thoái hóa acid amin và protein ở cơ. Cortisol giúp cơ thể chống lại các stress, chống viêm và chống dị ứng. Vì vậy cortisol được dùng trong điều trị viêm khớp và bệnh tạo keo.
- Hormon chuyển hóa muối: aldosteron có tác dụng mạnh nhất, chủ yếu là tăng tái hấp thu Na^+ ở ống lợn xà, tăng bài tiết K^+ , do đó tăng giữ nước trong cơ thể.
- Hormon sinh dục vỏ thượng thận: tác dụng như các hormon sinh dục nam nhưng yếu hơn.

6.3. Hormon sinh dục nam

* Cấu tạo hóa học.



Chất chính là testosterone, do tế bào kẽ (Leydig) của tinh hoàn bài tiết, ngoài ra còn có aldosterone – là sản phẩm thoái hóa của testosterone ở gan.

Tác dụng của aldosterone bằng 1/6 tác dụng của testosterone.

* Tổng hợp.

Từ nguyên liệu là cholesterol

* Thoái hóa.

Androstendion là sản phẩm thoái hóa đầu tiên của testosterone. Những giai đoạn tiếp theo giống như thoái hóa của các hormon sinh dục vỏ thượng thận. Như vậy, testosterone (nguồn gốc tinh hoàn) và androstendion (nguồn gốc vỏ thượng thận) có chuyển hóa chung và biến đổi thành aldosterone, etiocholanolon và một phần nhỏ thành epiandrosteron. Những sản phẩm này

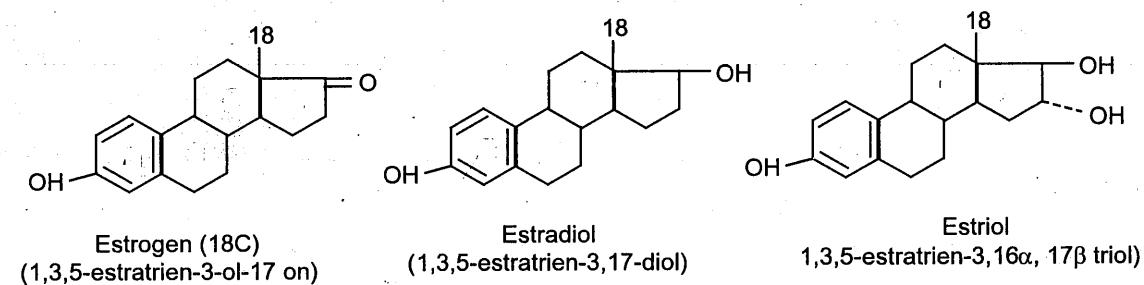
chiếm khoảng 80% trong các 17 cetosteroid trung tính đào thải ra nước tiểu dưới dạng liên hợp glucuronic hoặc sulfuric. Ở nước tiểu trẻ em, 17 cetosteroid có khoảng 2,5 mg/24 giờ, tăng dần ở tuổi dậy thì: nam khoảng 13 ± 2 mg/ 24 giờ và nữ khoảng 9 ± 2 mg/24 giờ, rồi giảm dần theo tuổi.

6.4. Hormon sinh dục nữ

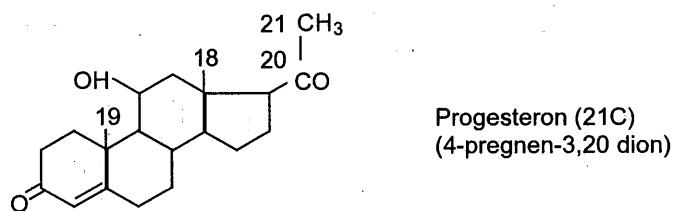
Gồm 2 nhóm: folliculin (hay estrogen) và progesteron. Sự bài tiết các hormon này tùy thuộc vào thời kỳ phát triển của nang trứng: giai đoạn nang tố bài tiết estrogen; giai đoạn hoàng thể, bài tiết estrgen và progesteron.

* *Cấu tạo hóa học:*

– Estrogen: 18C gồm 3 chất là estron, estradiol và estriol. Đó là những steroid phenolic, chất lưu thông chính trong máu là estradiol.



– Progesteron: 21C, có nhân pregnan.



* *Tổng hợp:*

Buồng trứng, tinh hoàn, vỏ thượng thận và rau thai đều tổng hợp được các estron và estradiol từ testosterone và androstendion.

Quá trình tổng hợp được kích thích bởi FSH và LH của tuyến yên và kích thích rau thai HCG. Progesteron được tổng hợp nhiều nhất ở hoàng thể và rau thai, dưới tác dụng của FSH, LH tuyến yên, các yếu tố giải phóng vùng dưới đồi và khi có mang còn được kích thích bởi HCG.

* *Thoái hóa.*

Sản phẩm thoái hóa chủ yếu của estrogen ở nước tiểu là estriol, dưới dạng glucuro hoặc sulfo liên hợp, một phần nhỏ ở dạng tự do, gọi chung là các phenolsteroid.

Ở người bình thường:

- Trước ngày kinh nồng độ estrogen bài xuất ra nước tiểu là thấp nhất: 5-10 µg/24h.
- Cao nhất ở ngày rụng trứng: 50-100 µg/24h. Giảm dần rồi đạt đỉnh cao thứ 2 ở thời kỳ hoàng thể.
- Thời kỳ hoàng thể: 30-40 µg/24h.

Progesteron thoái hóa ở gan tạo thành pregnandiol đào thải dưới dạng glucuro và sulfo liên hợp.

Ngoài ra, trong cơ thể còn có hormon eicosanoid. Hormon eicosanoid được tổng hợp từ những acid béo có nhiều liên kết đôi mà chất tiền thân chính là acid arachidonic (20C có 4 liên kết đôi). Hormon eicosanoid được xếp vào loại hormon tại chỗ, ba loại eicosanoid chủ yếu đã biết là:

Prostaglandin có ở nhiều mô, kích thích co bóp cơ trơn.

Leucotrien có ở bạch cầu, lách gây co bóp phế quản.

Thromboxan có ở các mô và bạch cầu, điều hoà đông máu và làm co mạch.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày định nghĩa hormon, phân biệt hormon thần kinh, chất dẫn truyền thần kinh, hormon tại chỗ, hormon tự thân.
2. Phân loại hormon theo cấu tạo hóa học và cơ chế tác dụng (mỗi loại kể tên và viết công thức cấu tạo một hormon đại diện).
3. Trình bày cơ chế tác dụng chung của hormon tan trong lipid (nhóm steroid), đặc điểm tác dụng hormon loại này.
4. Trình bày cơ chế tác dụng của hormon tan trong nước, vai trò của Protein G (minh họa tác dụng gây tăng glucose máu của epinephrin bằng sơ đồ).
5. Trình bày các chất truyền tin thứ 2 đã biết trong cơ chế tác dụng của các hormon tan trong nước.
6. Trình bày cấu tạo hóa học, quá trình tổng hợp và thoái hóa hormon catecholamin và hormon tuyến giáp.
7. Trình bày các loại hormon steroid, mỗi loại cho ví dụ.

PHẦN III

HÓA SINH MÔ VÀ CƠ QUAN

Chương 15

SỰ TRAO ĐỔI MUỐI - NƯỚC

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được vai trò và sự phân bố các chất vô cơ trong cơ thể.*
2. *Trình bày được sự vận chuyển nước giữa trong và ngoài thành mạch, giữa trong và ngoài tế bào.*
3. *Trình bày được sự điều hoà trao đổi muối nước.*
4. *Thể nào là sự rối loạn nước- điện giải trong cơ thể và các thông số đánh giá rối loạn.*

Môi trường lỏng trong cơ thể luôn được duy trì hằng định. Sự hằng định này do có sự thăng bằng giữa nước, các thành phần đặc biệt của tế bào và các chất điện giải. Sự cân bằng nội môi được duy trì bởi những cơ chế điều hòa nhằm ngăn cản những thay đổi lớn các thành phần này. Sự thay đổi nước hoặc các thành phần điện giải dẫn đến sự thay đổi các thành phần khác. Nước và các chất điện giải có ở khắp mọi tế bào tham gia cấu tạo tế bào và cần thiết cho mọi hoạt động sống của tế bào. Sự trao đổi muối nước liên quan mật thiết với nhau và liên quan đến chuyển hóa các chất hữu cơ trong cơ thể.

1. NƯỚC TRONG CƠ THỂ

Trong cơ thể nước tồn tại dưới hai dạng nước tự do và nước kết hợp

1.1. Cấu tạo và đặc tính của nước

- Nước tự do: phân tử nước gồm một nguyên tử oxy liên kết với hai nguyên tử hydro. Cấu trúc phân tử nước hình tam giác, mỗi nguyên tử nằm trên một đỉnh và trên cùng một phía. Góc liên kết giữa oxy và hai nguyên tử hydro là $104,5^{\circ}$. Đồng thời liên kết giữa O-H phân cực khá mạnh, nên toàn bộ phân tử nước phân cực mạnh. Chính đặc điểm phân cực này làm cho nước có những tính chất lý hóa đặc biệt quan trọng. Nước hòa tan được nhiều chất vô cơ và hữu cơ và là môi trường sống không thể thiếu của mọi sinh vật nói chung

và của con người nói riêng. Trong cơ thể nước tham gia vào nhiều phản ứng hóa sinh. Tỷ khối của nước biến thiên theo sự thay đổi của nhiệt độ. Tất cả những tính chất trên là do đặc điểm phân cực của phân tử nước làm cho nước có thể liên hợp phân tử qua các liên kết hydro với nhau. Nước tự do có điểm đông lạnh ở 0°C , sôi ở 100°C . Nước tự do thay đổi theo chế độ ăn uống.

- Nước kết hợp: là nước tham gia vào cấu tạo tế bào và có hai dạng:

+ Nước hydrat hóa tạo lớp vỏ hydrat quanh các tiểu phân protein tạo thành các hạt keo hay các micell. Người ta tính rằng cứ 10g protein thì mất 5g nước để hydrat hóa lượng protein này.

+ Nước bị cầm nầm trong khoảng giữa các phân tử và các hạt nhỏ tạo nên mạng lưới của gel và làm cho gel có trạng thái nửa rắn. Điều này rất quan trọng cho sự sống vì nó giữ cho cơ thể sinh vật có cấu trúc nhất định, mặc dù đôi khi gel chỉ chứa một lượng rất nhỏ chất khô. Một số cơ quan như cơ và tim có độ rắn chắc nhất định nhưng chứa tỷ lệ nước từ 70-80%, còn ở máu lượng nước là 83% lại ở trạng thái lỏng vì không có cấu tạo gel. Trong phần nước kết hợp thì nước bị cầm chiếm lượng nhiều hơn nước hydrat hóa.

Nước kết hợp không đóng băng ở 0°C mà ở nhiệt độ thấp hơn -0°C .

1.2. Hàm lượng nước trong cơ thể

Lượng nước trung bình của cơ thể người khác nhau từ 40 đến 75% trọng lượng của cơ thể. Lượng nước còn phụ thuộc vào giới, tuổi và tình trạng cơ thể. Tỷ lệ này giảm ở những người già và những người béo phệ. Tuổi càng nhỏ tỷ lệ nước càng cao. Trẻ sơ sinh bình thường lượng nước chiếm khoảng 80%, sau một tuần lượng nước giảm còn khoảng 60%. Ở người trưởng thành bình thường lượng nước khoảng 55-65%. Lượng nước của thai nhi cũng thay đổi phụ thuộc tuổi thai. Tuổi thai càng nhỏ lượng nước càng nhiều, thai nhi 2 tháng tuổi lượng nước chiếm tới 97%, thai 3 tháng tuổi lượng nước khoảng 94%. Lượng nước giảm dần đến năm tháng tuổi còn khoảng 85%. Nước phân bố không đều trong các mô, nước trong mô mỡ chỉ chiếm 25-30%, ở mô liên kết nước chiếm 60-80%. Bảng dưới đây là hàm lượng của nước trong một số cơ quan và một số dịch sinh học trong cơ thể.

Bảng 15.1: Hàm lượng nước trong một số cơ quan và dịch sinh học của cơ thể người trưởng thành.

Cơ quan	Hàm lượng nước(%)	Dịch sinh học	Hàm lượng nước(%)
Gan	70	Máu	80-83
Thận	82,7	Nước tiểu	95
Phổi	79	Mồ hôi	99,5
Xương	16- 46	Sữa	89
Cơ	70	Nước bọt	99,4

Như vậy nước có trong mọi tế bào, mọi mô tạo ra môi trường lỏng bên trong cơ thể, môi trường thiết yếu của sự sống.

1.3. Sự phân bố nước trong cơ thể

Nước trong cơ thể phân bố ở hai khu vực :

Nước trong tế bào (Intracellular Fluid: ICF) chiếm khoảng 55% tổng lượng nước toàn phần của cơ thể.

Nước ngoài tế bào (Extracellular Fluid: ECF) chiếm khoảng 45% tổng lượng nước toàn phần. Nước ngoài tế bào là nước lưu thông gồm nước ở huyết tương, bạch huyết, dịch gian bào mô liên kết, xương sụn và nước trong các dịch sinh học. Nước trong các dịch sinh học khác như: nước bọt, dịch tụy, mật, dịch ruột, dịch vị, dịch não tụy.

Bảng 15.2: Sự phân bố nước trong cơ thể:

Khu vực	Tỷ lệ %
Nước trong tế bào	55
Nước ngoài tế bào:	45
- Nước trong huyết tương và bạch huyết	7,5
- Nước ở dịch gian bào	20
- Nước trong các dịch sinh học	2
- Nước trong xương sụn	8
- Nước trong mô liên kết	7,5

1.4. Nhu cầu nước của cơ thể

Nhu cầu nước hàng ngày ở người lớn bình thường khoảng 35g cho mỗi kg thân trọng. Ở trẻ em nhu cầu về nước tăng gấp 3 đến 4 lần so với người lớn. Trẻ sơ sinh cần tới 140g nước cho mỗi cân nặng. Nhu cầu nước của cơ thể không những thay đổi theo tuổi mà còn thay đổi theo điều kiện thời tiết và điều kiện làm việc. Thời tiết nóng nắng nhu cầu nước cao hơn, lao động nặng nhọc mất nhiều mồ hôi, nhu cầu nước tăng.

1.5. Sự thăng bằng xuất nhập nước - Bilan nước

Bình thường lượng nước vào cơ thể và lượng nước bài xuất có sự cân bằng gọi là bilan nước. Ở người khỏe mạnh bình thường lượng nước nhập bằng lượng nước xuất hay bilan nước bằng không. Cơ thể chỉ có khả năng duy trì thăng bằng xuất nhập nước ở một mức độ nhất định. Có thể gặp rối loạn thăng bằng xuất nhập nước trong một số bệnh: nội tiết, bệnh thận, suy tim, bệnh gan...

Bảng 15.3: Thăng bằng xuất nhập nước ở cơ thể.

Nước nhập	Nước xuất
Nước qua đường uống: 1200ml	Nước tiểu: 1400ml
Nước trong thức ăn : 1000ml	Nước qua mồ hôi: 500ml
Nước từ chuyển hóa : 300ml	Nước qua hơi thở: 500ml
	Nước qua phân: 100ml
Tổng cộng: 2500ml	2500ml.

1.6. Vai trò của nước trong cơ thể

Vai trò quan trọng của nước là tham gia cấu tạo cơ thể thông qua nước kết hợp. Nước tham gia các phản ứng hóa sinh trong cơ thể: hydrat hóa, phản ứng thuỷ phân, phản ứng hợp nước và là môi trường của các phản ứng chuyển hóa của cơ thể. Nước là dung môi hoà tan các chất dinh dưỡng và vận chuyển các chất dinh dưỡng đến các mô và mang các sản phẩm cặn bã từ chuyển hóa của tế bào đến cơ quan bài tiết để đào thải ra ngoài.

Nước tham gia điều hoà thân nhiệt qua mồ hôi và qua hơi thở. Khi nhiệt độ môi trường tăng, nước tăng thoát ra qua hơi thở và mồ hôi cùng với nhiệt giúp cho thân nhiệt không tăng theo nhiệt độ của môi trường. Nước lại được dẫn truyền nhanh khắp cơ thể nhờ hệ tuần hoàn nên vai trò điều hoà thân nhiệt của nước lại càng quan trọng.

Nước tham gia bảo vệ cơ thể cũng như bảo vệ các cơ quan thông qua nước trong các dịch: dịch bao khớp, dịch các màng và dịch não tuỷ. Dịch khớp giúp cho khớp cử động dễ dàng, còn dịch màng tim, dịch màng phổi giúp cho các cơ quan này dễ hoạt động.

Nước tham gia tạo áp suất của các dịch trong cơ thể. Cùng với các chất hoà tan trong nước, nước góp phần tạo ra áp suất các dịch của cơ thể.

2. CÁC CHẤT VÔ CƠ (CÁC MUỐI)

2.1. Hàm lượng và sự phân bố các chất vô cơ trong cơ thể

Các chất vô cơ chiếm từ 4 đến 5% trọng lượng cơ thể và phân bố không đều ở các mô trong cơ thể. Muối vô cơ có trong thành phần tất cả các tế bào và các mô của cơ thể: xương có nhiều Ca, Mg, P dưới dạng muối phức hợp không tan. Trong các dịch ngoài tế bào, da và tổ chức dưới da có nhiều Na và Cl. Dịch trong tế bào có nhiều K, phosphat và Mg. Còn ở tuyến giáp tập trung nhiều iod. Trong dịch dạ dày có một lượng lớn acid clo hydric. Trong dịch tuy có nhiều HCO_3^- . Các chất vô cơ trong cơ thể tồn tại với lượng khác nhau tuỳ thuộc chức năng sinh lý cũng như nhu cầu của cơ thể. Một số chất tồn tại với số lượng lớn như Na, K, Cl, Ca, P, Mg. Một số tồn tại với số lượng nhỏ như: I, Br, Cu, Co, Mn, Zn, Mo...những nguyên tố này được gọi là những nguyên tố vi

lượng. Một số có lượng rất nhỏ trong cơ thể gọi là nguyên tố siêu vi lượng như: Cr, Si, Ti... Các chất này có thể ở dạng muối không tan, có thể là muối tan trong các dịch hoặc ở dạng kết hợp với protein.

2.2. Nhu cầu các chất vô cơ của cơ thể

Nhu cầu về các chất vô cơ của cơ thể phụ thuộc vào tuổi và trạng thái sinh lý. Đối với người trưởng thành nhu cầu chất vô cơ trong một ngày như sau.

Bảng 15.4: Nhu cầu các chất vô cơ.

Chất vô cơ	Nhu cầu/ngày	Chất vô cơ	Nhu cầu/ngày
Na	6g	Phosphat	1,5g
K	4g	Mg	0,3g
Ca	0,8g	Fe	0,02g
Cl	4g	Các nguyên tố vi lượng.	

Tuy vậy ở giai đoạn sinh lý đặc biệt, nhu cầu về một số chất có thay đổi. Trẻ em trong giai đoạn phát triển nhu cầu về Ca, P cao hơn người lớn. Phụ nữ trong thời kỳ mang thai và cho con bú nhu cầu về Fe, Ca, P cao hơn lúc bình thường.

2.3. Hấp thu và bài xuất chất vô cơ

Các chất vô cơ được đưa vào cơ thể qua đường tiêu hóa, phần lớn được hấp thu ở ruột non vào máu. Mặc dù mỗi muối có cơ chế hấp thu riêng và chịu sự chi phối của nhiều yếu tố. Nhìn chung các muối được hấp thu dễ dàng, nhất là NaCl và KCl. Sau khi được hấp thu vào máu các muối được phân bố đến các mô theo chức năng sinh lý của nó và theo nhu cầu của cơ thể. Thí dụ sắt chủ yếu đến gan. Một số muối như Ca, P, Mg, F đến tổ chức xương hoặc răng, NaCl trong da.

Muối được bài xuất chủ yếu qua phân, qua nước tiểu và qua mồ hôi. Những muối đào thải ra phân như sắt, calci, phosphat, magie, các kim loại nặng (Hg, Pb, Bi, Cu). Phần lớn các muối đào thải ra nước tiểu như: Na, K, Ca, Cl, S, I, Co, P. Một phần NaCl, sulfat đào thải ra mồ hôi.

2.4. Vai trò của các chất vô cơ trong cơ thể

Mặc dù các chất vô cơ phân bố không đều trong cơ thể nhưng chúng cũng quan trọng trong nhiều quá trình sống:

– Tham gia cấu tạo tế bào và mô, một số muối của Ca, P tạo thành các muối không tan tạo nên hình dạng đặc thù của tổ chức xương và tổ chức răng. Tham gia cấu tạo các thành phần quan trọng của tế bào như acid nucleic, màng tế bào.

- Tham gia bình ổn protein ở trạng thái keo trong tế bào và mô. Nồng độ và tỷ lệ của một số chất vô cơ ảnh hưởng tới chức phận sinh lý của tế bào nhất là các chất ở dạng phức hợp với protein.
- Tham gia tạo áp suất thẩm thấu: áp suất thẩm thấu của các dịch trong cơ thể phần lớn do các chất vô cơ hòa tan trong các dịch tạo ra. Áp suất này ảnh hưởng tới sự phân bố của nước.
- Tham gia cấu tạo hệ thống đệm của cơ thể: thành phần hai hệ đệm chính của cơ thể là hệ đệm bicarbonat và hệ đệm phosphat là các chất vô cơ.
- Các chất vô cơ còn có vai trò đặc biệt như: có vai trò trong hoạt động của enzym

Một số ion hoạt hóa enzym: Cl⁻ hoạt hóa amylase, Na⁺, K⁺ hoạt hóa ATPase. Một số kìm hãm hoạt động của enzym đó là các kim loại nặng. Một số tham gia cấu tạo enzym hoặc coenzym, tham gia cấu tạo hormon, tham gia trong quá trình đông máu và dẫn truyền thần kinh.

2.5. Một số chất vô cơ trong cơ thể

2.5.1. Natri

Na⁺ là cation chính của dịch ngoài tế bào. Nồng độ Na⁺ máu từ 136-145 mmol/L. Natri có vai trò trong sự phân bố nước và tạo nên áp suất thẩm thấu của huyết tương. Khi quá nhiều Na⁺ gây tăng áp suất thẩm thấu của huyết tương, nước được giữ lại làm tăng thể tích huyết tương. Nồng độ Na⁺ toàn phần của cơ thể liên quan chặt chẽ với lượng nước của cơ thể. Natri duy trì cân bằng acid-base bởi cơ chế trao đổi Na⁺/H⁺ ở ống thận. Natri còn giữ vai trò trong kích thích thần kinh cơ. Hàng ngày lượng Na⁺ đưa vào xấp xỉ 100-200mmol, được hấp thu tích cực ở ruột non. Thận là cơ quan điều hoà Na⁺ của cơ thể. Natri của huyết tương được lọc ở cầu thận và tái hấp thu ở ống thận. Hấp thu Na⁺ chủ yếu ở ống lượn gần chiếm 70%, phần còn lại ở quai Henle và ống lượn xa. Thận có khả năng hấp thu tới 99% lượng Na⁺ bị lọc, khi cần thiết. Tái hấp thu Na⁺ ở ống thận chịu sự điều hoà của Aldosteron. Aldosteron là hormon chuyển hóa muối nước được bài tiết từ vỏ thượng thận giữ vai trò quan trọng trong cân bằng điện giải. Khi có aldosteron sự tái hấp thu Na⁺ ở ống thận tăng lên và nước được tái hấp thu theo. Một yếu tố nữa ảnh hưởng tới nồng độ Na⁺ là peptid hormon của tâm nhĩ (atrionatriuretic protein: ANP). ANP làm tăng tốc độ lọc cầu thận, làm tăng bài xuất Na⁺ và nước ra nước tiểu.

2.5.2. Kali

K⁺ là cation chính ở trong tế bào chiếm tới 98%, ngoài tế bào chỉ có 2%. Nồng độ K⁺ trong tế bào là 150 mmol/L, ngoài tế bào là 3,5 đến 5 mmol/L. Duy trì sự chênh lệch nồng độ K⁺, Na⁺ giữa trong và ngoài tế bào nhờ bơm Na⁺, K⁺ ATPase. Kali giữ vai trò quan trọng trong chuyển hóa tế bào, đặc biệt trong điều hoà nhiều quá trình của tế bào. Kali có vai trò quan trọng trong kích thích thần kinh cơ. Nồng độ kali có vai trò trong điều hoà nồng độ H⁺.

Cân bằng K^+ ngoài tế bào được duy trì bởi thận. Chế độ ăn hàng ngày bình thường cung cấp lượng kali từ 80-100 mmol. Kali được hấp thu ở ruột non, được lọc qua thận và tái hấp thu ở ống lợn gần. Sự bài xuất kali phụ thuộc lượng natri được tái hấp thu và nồng độ aldosteron trong tuần hoàn. Không chỉ nồng độ kali có ý nghĩa, mà quan trọng hơn cả là tỷ lệ về nồng độ kali giữa trong và ngoài tế bào. Tỷ lệ này cho phép sinh ra điện thế hoạt động cần thiết cho chức năng thần kinh cơ. Vì vậy tăng hay giảm nồng độ kali huyết thanh gây rối loạn tỷ lệ này dẫn đến loạn nhịp tim và liệt cơ.

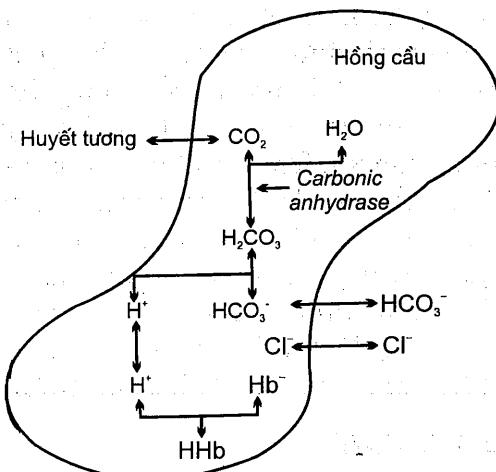
2.5.3. Clo

Cl^- là anion chính ở dịch ngoài tế bào của cơ thể. Bình thường nồng độ clo trong huyết thanh từ 99-109 mmol/L. Chức năng chính của clo duy trì cân bằng thể tích dịch, duy trì áp suất thẩm thấu ngoài tế bào và trung hoà điện. Sự thay đổi clo luôn tỷ lệ với lượng natri và lượng nước của cơ thể. Bất kỳ sự thay đổi tỷ lệ natri và clo có thể góp phần thay đổi cân bằng acid-base của cơ thể. Chuyển hóa Clo liên quan chặt chẽ với natri vì nó kết hợp với natri. Clo còn đặc biệt quan trọng trong việc duy trì cân bằng anion-cation khi trao đổi với HCO_3^- (Clo shift). Khí carbonic (CO_2) là sản phẩm chuyển hóa bình thường của tế bào, khuếch tán tự do qua màng tế bào vào huyết tương. Một lượng nhỏ CO_2 hòa tan trong huyết tương, phần lớn khuếch tán vào trong hồng cầu do chênh lệch về nồng độ. Trong hồng cầu có enzym carbonic anhydrase (CA) xúc tác cho phản ứng hợp nước của carbonic thành acid carbonic. Acid H_2CO_3 phân ly thành ion H^+ và ion HCO_3^- . Ion H^+ được đệm bởi hemoglobin, ion HCO_3^- trong hồng cầu trở nên cao hơn huyết tương nên đã khuếch tán ra huyết tương. Để duy trì cân bằng điện giải Cl^- vào trong tế bào đổi chỗ cho HCO_3^- . Quá trình này gọi là sự đổi chỗ của clo hay clo shift.

Khẩu phần ăn bình thường hàng ngày có từ 70 đến 200mmol clo ở dạng muối với natri hoặc kali. Clo từ ruột được hấp thu vào máu. Sự điều hoà clo liên quan thu động với natri ở ống lợn gần và quai Henle. Quá thừa, clo được bài xuất ra nước tiểu và mồ hôi. Khi quá nhiều mồ hôi sẽ kích thích bài tiết aldosteron, aldosteron sẽ tác động lên tuyến mồ hôi để bảo tồn Na^+ và Cl^- .

2.5.4. Bicarbonat (HCO_3^-)

HCO_3^- là anion nhiều thứ hai của dịch ngoài tế bào, là thành phần chính của CO_2 ngoài huyết tương và chiếm tới hơn 90% lượng CO_2 toàn phần. Bình thường lượng HCO_3^- trong huyết thanh từ 22 đến 28 mmol/L. HCO_3^- là thành phần của hệ đệm bicarbonat. Hệ đệm này hoạt động ngay khi có sự thay đổi pH máu. HCO_3^- cũng là dạng vận chuyển



Hình 15.1. Sự đổi chỗ của clo giữa hồng cầu và huyết tương

CO_2 tạo ra trong quá trình chuyển hóa chất ở các mô đến phổi để đào thải. HCO_3^- được đào thải chủ yếu bởi thận qua sự tăng hoặc giảm tái hấp thu của ống thận để duy trì cân bằng acid-base của nội môi. Giảm lượng HCO_3^- của huyết tương trong nhiễm acid chuyển hóa, tăng lượng HCO_3^- huyết tương trong nhiễm kiềm chuyển hóa. Trong nhiễm acid, thận tăng đào thải H^+ vào nước tiểu, HCO_3^- được tái hấp thu gần như hoàn toàn (90% ở ống lợn gần còn lại ở ống lợn xa). Trong nhiễm kiềm HCO_3^- tăng, thận tăng bài xuất HCO_3^- ra nước tiểu cùng với Na^+ .

2.5.5. *Calci*

Hơn 99% calci trong cơ thể có ở trong xương, chỉ khoảng 1% trong máu và các dịch ngoài tế bào. Có rất ít calci ở trong bào tương các tế bào. Nồng độ calci trong máu cao hơn từ 5.000 đến 10.000 lần so với ở tế bào cơ tim và tế bào cơ trơn.

Trong máu calci tồn tại ở một vài dạng: calci tự do khoảng 45%, xấp xỉ 40% kết hợp với protein đặc biệt với albumin. Vào khoảng 15% kết hợp với các anion khác như: bicarbonat, citrat, phosphat, lactat. Sự phân bố này có thể thay đổi trong một số bệnh. Đặc biệt đáng chú ý khi nồng độ các chất như albumin, lactat, citrat, phosphat, bicarbonat cao. Có thể thay đổi trong khi phẫu thuật hoặc điều trị tăng cường.

Giảm calci máu do giảm hormon cận giáp, giảm magiê, giảm albumin huyết thanh hoặc do tổn thương cầu thận, bệnh gan mạn tính, suy dinh dưỡng.

Tăng calci máu do cường cận giáp là nguyên nhân chính, sau là do các khối u. Trong những bệnh nhân cường tuyến giáp có cường cận giáp. Do dùng thuốc lợi niệu gây tăng tái hấp thu calci làm tăng calci

2.5.6. *Phosphat*

Các thành phần phosphat có nhiều trong tế bào sống và giữ vai trò đặc biệt trong nhiều quá trình hóa sinh. Có trong thành phần các acid nucleic DNA, RNA. Tham gia cấu tạo các coenzym. Tham gia cấu tạo các hợp chất phosphat hữu cơ giàu năng lượng như ATP, GTP, creatin phosphat, 2,3-DPG... Sự thiếu hụt phosphat có thể làm cạn kiệt ATP, làm thay đổi nồng độ 2,3-DPG trong hồng cầu làm ảnh hưởng tới ái lực của hemoglobin với oxy. Hiểu được nguyên nhân thay đổi nồng độ phosphat trong máu thường khó, do sự đổi chỗ của phosphat ở tế bào.

Nguyên nhân chính làm giảm phosphat máu do phosphat vào trong tế bào. Ngay sau khi phosphat vào trong tế bào, được tế bào sử dụng để tổng hợp nên các thành phần phosphat hữu cơ. Khi các thành phần phosphat hữu cơ chuyển hóa tạo thành phosphat vô cơ ra ngoài tế bào vào máu và được điều hòa bởi thận. Nồng độ phosphat trong máu khoảng 12mg% (3,9mmol/L) chủ yếu là phosphat hữu cơ. Phosphat vô cơ chỉ chiếm khoảng từ 3 đến 4mg%. Trong xương lượng phosphat chiếm 80% lượng phosphat toàn phần của cơ thể.

3. SỰ TRAO ĐỔI MUỐI - NUỚC

Trong cơ thể nước và muối liên quan mật thiết với nhau. Quá trình trao đổi muối và nước không thể tách riêng biệt và chịu sự chi phối của nhiều yếu tố. Nước và muối trong đường tiêu hóa được hấp thu vào máu và đưa đến các mô. Đồng thời cũng có sự vận chuyển nước cùng với những sản phẩm đào thải đến cơ quan bài tiết như ống tiêu hóa, thận, da, phổi để đào thải ra ngoài. Chính vì vậy muối nước của cơ thể luôn được đổi mới nhờ quá trình trao đổi.

3.1. Các yếu tố quyết định sự vận chuyển và phân bố nước trong cơ thể

3.1.1. Áp suất thẩm thấu (ASTT)

Áp suất thẩm thấu của các dịch được tạo nên do các chất hòa tan trong các dịch. Các chất hòa tan trong các dịch của cơ thể có ba loại:

– Các chất điện giải hòa tan trong các dịch trong cơ thể gần như là yếu tố quyết định áp suất thẩm thấu của các dịch. Đối với dịch ngoài tế bào nồng độ Na^+ , Cl^- cao hơn, còn dịch trong tế bào ion K^+ , ion phosphat cao hơn. Chính các ion này có vai trò quyết định áp suất thẩm thấu ở các khu vực này nhiều hơn so với các ion khác.

– Các hợp chất hữu cơ phân tử lượng nhỏ như: glucose, ure, các acid amin... Các chất này có thể vận chuyển qua màng tế bào cũng như thành mạch tương đối dễ dàng vì vậy nồng độ của chúng trong các dịch không khác nhau. Do đó áp suất thẩm thấu do chúng tạo ra trong các khu vực được xem như xấp xỉ nhau.

– Các chất hữu cơ phân tử lượng lớn đặc biệt là protein. Giữa các khu vực có sự khác nhau về lượng protein vì vậy áp suất thẩm thấu tạo ra bởi protein cũng khác nhau giữa các khu vực này. Áp suất thẩm thấu do protein tạo ra được gọi là áp suất keo. Áp suất của từng khu vực do ba loại chất hòa tan trong các dịch tạo nên áp suất thẩm thấu ở mỗi khu vực này. Áp suất thẩm thấu có tác dụng giữ nước và kéo nước vào khu vực nó chiếm giữ. Nơi nào có áp suất thẩm thấu cao nước sẽ đi vào nơi đó. Nơi có áp suất thẩm thấu cao có nhiều chất hòa tan, nước đi vào làm giảm áp suất thẩm thấu, môi trường trở nên đẳng trương duy trì hoạt động sống của tế bào.

3.1.2. Áp lực thuỷ tĩnh (ALTT)

Áp lực thuỷ tĩnh được tạo ra do lực ép của nước vào màng tế bào hay do áp lực của dòng máu ép vào thành mạch. Áp lực thuỷ tĩnh có tác dụng đẩy nước ra khỏi nơi nó chiếm giữ. Khu vực nào có áp lực thuỷ tĩnh cao nước sẽ từ khu vực đó đi ra.

3.1.3. Cân bằng Donnan và áp suất do keo

Thí nghiệm của Donnan: lấy một bình được ngăn đôi bình bằng một màng bán thẩm. Đổ vào mỗi nửa của bình các muối NaCl và Na proteinat

(RN_a) riêng biệt. Các muối này có nồng độ khác nhau tương ứng với a và b. Nước và các ion Na⁺, Cl⁻ qua màng dễ dàng, ion keo proteinat (R) không qua màng. Sau một thời gian khuếch tán, cân bằng được thiết lập và gọi là trạng thái cân bằng Donnan:

Màng		Màng	
1	2	1	2
Na ⁺ _a	Na ⁺ _b	Na ⁺ _{a-x}	Na ⁺ _{b+x}
Cl ⁻ _a	R _b	Cl ⁻ _{a-x}	R _b

Theo Donnan tại trạng thái cân bằng thì:

$$(a-x)(a-x) = (b+x)x.$$

Định luật Donnan 1: "sự cân bằng sẽ đạt được" khi tích số nồng độ các ion khuếch tán có cùng trị số ở hai phía của màng.

Lượng ion khuếch tán :

$$x = \frac{a^2}{b+2a}$$

Định luật Donnan 2: khi đã có sự cân bằng tổng điện tích các ion dương bằng tổng điện tích các ion âm ở mỗi phía của màng.

Ở trạng thái cân bằng Donnan, khu vực có ion keo proteinat có áp suất thẩm thấu cao hơn. Sự chênh lệch về áp suất thẩm thấu này do ion keo và do ion khuếch tán tạo ra gọi là áp suất do keo.

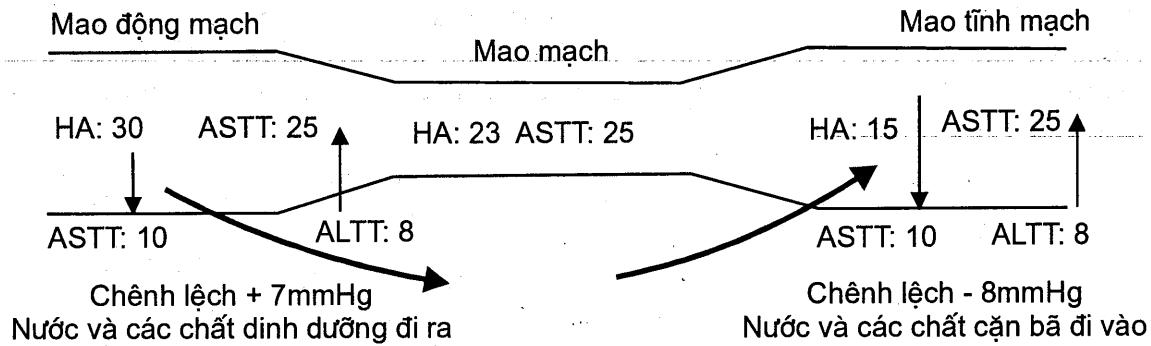
3.1.4. Một số yếu tố khác

Ngoài ra còn một số yếu tố khác cũng ảnh hưởng tới sự vận chuyển nước đó là sức bền thành mạch, sức bền của màng tế bào, lực co bóp của tim và lưu lượng máu.

3.2. Sự trao đổi muối nước và các chất giữa các khu vực

3.2.1. Sự trao đổi nước và các chất giữa huyết tương và dịch gian bào

Ngăn cách giữa hai khu vực này là thành mạch. Giữa hai khu vực có sự khác nhau về nồng độ protein, nên có sự khác nhau về ASTT. Trong huyết tương nồng độ protein từ 60-80g/L, tạo ra ASTT lòng mạch là 25mmHg. Dịch gian bào ít protein hơn nên ASTT là 10mmHg. Còn huyết áp thì khác nhau tùy phần của hệ mạch: HA mao động mạch là 30mmHg, HA mao tĩnh mạch là 15mmHg. Còn áp suất thuỷ tĩnh của dịch gian bào là 8mmHg. Sự trao đổi nước giữa huyết tương và dịch gian bào xảy ra theo sơ đồ sau:



Hình 15.2. Sự trao đổi nước và các chất giữa trong và ngoài thành mạch

3.2.2. *Sự trao đổi nước và các chất giữa khu vực trong và ngoài tế bào*

Ngăn cách giữa hai khu vực này là màng tế bào. Màng tế bào cho nước qua lại tự do và thường đi theo các chất vận chuyển qua màng, đặc biệt là điện giải để điều chỉnh sự chênh lệch áp suất thẩm thấu. Còn các chất qua màng một cách chọn lọc và theo cơ chế vận chuyển tích cực để duy trì tình trạng chênh lệch nồng độ của nhiều chất giữa hai khu vực này. Ion Na^+ , K^+ vận chuyển qua màng tế bào nhờ bơm Na, K -ATPase. Cứ một ATP thuỷ phân thì 3 Na^+ từ trong tế bào đi ra và 2 K^+ từ ngoài tế bào đi vào trong tế bào. Sự vận chuyển Na^+ , K^+ qua màng tế bào là quá trình vận chuyển tích cực ngược nồng độ. Người ta thấy rằng khoảng 25% năng lượng của cơ thể lúc nghỉ được sử dụng để duy trì hoạt động của bơm này. Ngoài ra sự vận chuyển Na^+ , K^+ qua màng qua các kênh ion trong giai đoạn dẫn truyền thần kinh cơ. Ion Cl^- và ion HCO_3^- vận chuyển qua màng qua clo shift theo dạng vận chuyển antiport (một ion Cl^- đi vào thì một ion HCO_3^- đi ra). Ion H^+ vận chuyển cùng lactat, glucose, acid amin theo dạng symport. H^+ còn vận chuyển với Ca^{2+} , K^+ theo dạng antiport.

Các chất điện giải còn được vận chuyển qua màng tế bào do sự chênh lệch về gradient nồng độ. Cơ chế vận chuyển các chất qua màng xem trong chương màng tế bào.

4. ĐIỀU HOÀ TRAO ĐỔI MUỐI NƯỚC

Một người khỏe mạnh bình thường phải đảm bảo nhu cầu về nước, cân bằng nước và các điện giải trong cơ thể luôn được duy trì. Cơ chế điều hoà cân bằng muối nước bao gồm các cơ chế thần kinh, nội tiết cùng với sự tham gia của một số cơ quan tiêu hóa, thận, phổi, da.

4.1. Cơ chế thần kinh

Các receptor thẩm thấu và các receptor thể tích của hypothalamus nhạy cảm với những thay đổi về áp suất thẩm thấu và thay đổi thể tích tuần hoàn. Các receptor này đáp ứng nhanh với những thay đổi nhỏ về áp suất thẩm

thấu. Khi áp suất thẩm thấu huyết tương tăng từ 1% đến 2% sẽ kích thích làm tăng bài tiết ADH trong tuần hoàn lên 4 lần. Còn khi áp suất thẩm thấu giảm 1% đến 2% sẽ ngừng bài tiết ADH.

4.2. Cơ chế nội tiết

Điều hoà trao đổi muối nước chịu sự chi phối của nhiều hormon như ADH, aldosteron, ANP.

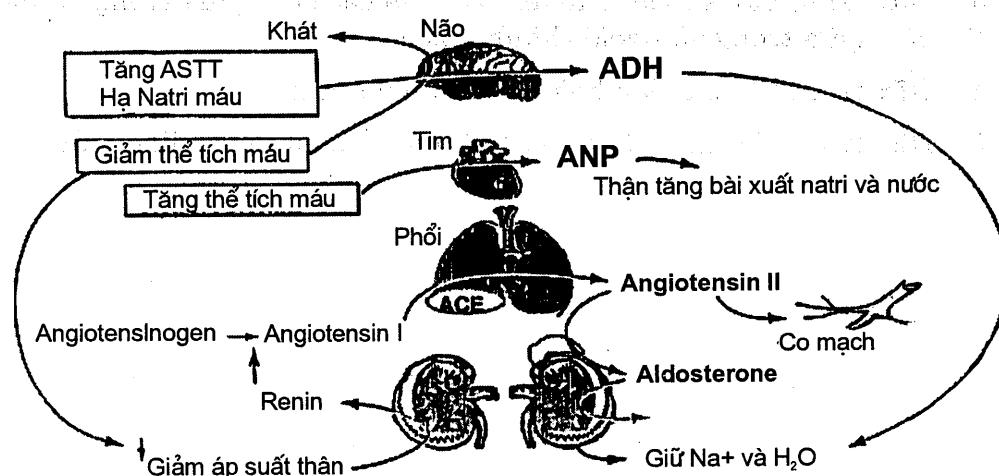
- Kích tố chống bài niệu vasopressin hay ADH: là peptid hormon được tổng hợp ở hypothalamus và dự trữ ở hậu yên. ADH làm tăng tính thẩm nước của ống thận, làm tăng tái hấp thu nước ở ống thận, cô đặc nước tiểu. Giảm ADH, giảm tái hấp thu nước, nước bị đào thải ra nước tiểu gây đái nhạt.

Cơ chế điều hoà bài tiết ADH.

Khi giảm thể tích tuần hoàn hoặc tăng áp suất thẩm thấu huyết tương sẽ làm tăng cảm giác khát và tăng bài tiết ADH. Kết quả làm tăng lượng nước đưa vào cơ thể và tăng tái hấp thu nước ở ống thận. Khối lượng nước tuần hoàn tăng, làm giảm áp suất thẩm thấu sẽ ức chế bài tiết ADH và giảm khát.

- Aldosteron: là hormon vỏ thượng thận có tác dụng làm tăng tái hấp thu Na ở ống thận. Điều hoà bài tiết aldosteron qua hệ thống Renin-Angiotensin. Aldosteron

- Atrial natriuretic protein (ANP): là peptid hormon được tổng hợp ở tim nhĩ của tim có vai trò trong cân bằng nước và điện giải. ANP tác động lên thận gây tăng bài tiết Na và nước bằng cách tăng tốc độ lọc cầu thận và giảm tái hấp thu Na ở ống thận. Theo Zeidel và Brener thì ANP làm giãn mao mạch cầu thận làm tăng tốc độ lọc cầu thận dẫn đến làm tăng thể tích nước tiểu và tăng bài xuất Na. ANP được giải phóng bởi các tín hiệu tăng thể tích máu và tăng áp suất máu.



Hình 15.3. Điều hoà trao đổi muối nước bởi hormon và một số cơ quan

4.3. Một số cơ quan tham gia điều hòa trao đổi muối nước

Trong số những cơ quan tham gia điều hòa trao đổi muối nước quan trọng nhất là cơ quan tiêu hóa, thận rồi đến da và phổi.

5. RỐI LOẠN NƯỚC- ĐIỆN GIẢI

Rối loạn nước-điện giải trong cơ thể rất thường gặp trên lâm sàng và cũng rất đa dạng. Nguyên nhân gây rối loạn nước điện giải cũng rất phong phú. Vì vậy việc đánh giá đúng mức độ và nguyên nhân gây rối loạn là cần thiết. Có biện pháp điều chỉnh rối loạn đúng, kịp thời thì hiệu quả điều trị sẽ tăng lên rất nhiều.

Những rối loạn nước trong cơ thể có thể là thừa nước hoặc thiếu nước. Còn những rối loạn điện giải trong cơ thể có thể là tăng hay hạ các điện giải trong máu. Những điện giải trong máu liên quan chặt chẽ với sự thay đổi nước của huyết tương là các ion Na^+ và ion K^+ .

Để đánh giá rối loạn nước điện giải trong cơ thể cần biết được các thông số thể tích tuần hoàn, thể tích nước tiểu, ASTT của huyết tương và của nước tiểu và định lượng các chất điện giải trong máu và trong nước tiểu.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Hãy trình bày vai trò và sự phân bố các muối vô cơ trong cơ thể.
2. Hãy trình bày các yếu tố quyết định tới sự vận chuyển và phân bố nước trong cơ thể.
3. Hãy trình bày sự vận chuyển nước và các chất giữa trong và ngoài tế bào, giữa trong và ngoài thành mạch.
4. Hãy trình bày sự điều hòa trao đổi muối nước.
5. Hãy trình bày các thông số đánh giá rối loạn nước- điện giải .

Chương 16

KHÍ MÁU VÀ SỰ THĂNG BẰNG ACID – BASE

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được sự vận chuyển O₂ và CO₂ trong máu.*
2. *Trình bày thành phần và khả năng đệm của các hệ đệm của máu.*
3. *Trình bày được vai trò của phổi và thận trong sự điều hòa thăng bằng acid-base trong cơ thể.*
4. *Trình bày được các loại rối loạn thăng bằng acid-base.*

Các cơ thể động vật phải có một bề mặt trao đổi chất được biệt hóa như phổi hoặc mang, một hệ thống vận chuyển các khí cho cơ thể sử dụng và khí do cơ thể đào thải.

Các khí được vận chuyển là O₂ và CO₂.

Trong quá trình vận chuyển CO₂, một lượng lớn H⁺ tạo thành.

pH của máu động mạch = 7,40 ± 0,05, pH này được duy trì nhờ các hệ thống đệm của cơ thể và nhờ các cơ quan điều hòa.

Trạng thái acid – base của tế bào được phản ánh qua trạng thái acid – base của máu, máu là một mô lỏng dễ lấy để phân tích.

1. SỰ VẬN CHUYỂN KHÍ

1.1. Sự vận chuyển O₂ trong máu

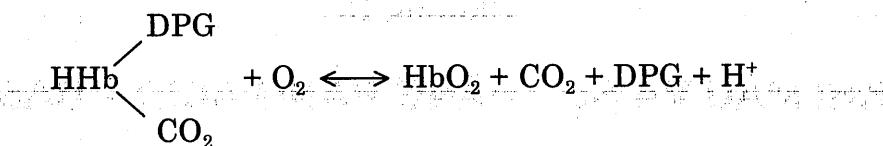
1.1.1. Vai trò vận chuyển oxy của hemoglobin

Ở 38°C, 1 lít huyết tương chỉ hoà tan được 2,3 ml O₂. Một lít máu có 150g hemoglobin (Hb) có khả năng vận chuyển khoảng 200 ml O₂ (gấp 87 lần khả năng của huyết tương). 1g Hb có khả năng vận chuyển được 1,34 ml O₂.

Hb là một chất mang O₂ lý tưởng, bão hòa được 98% O₂ ở phổi và 35% ở cơ hoạt động.

Sự gắn O₂ của hemoglobin là sự cộng tác.

1.1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự gắn O₂ của hemoglobin



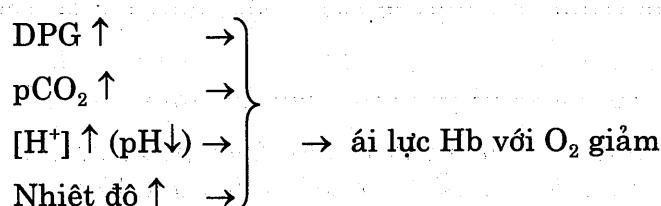
– DPG là 2,3 Diphosphoglycerat, chất này có tác dụng làm giảm ái lực của Hb với O₂. Nồng độ DPG cao làm tăng hiệu quả vận chuyển O₂; làm tăng hiệu quả sử dụng O₂ của các mô: lên núi cao < 5500 m, nồng độ DPG tăng; xuống đồng bằng nồng độ DPG giảm trở về mức độ bình thường.

Ở bào thai, HbF có 2 chuỗi γ thay cho 2 chuỗi β, hoạt động phù hợp với điều kiện bào thai.

Bảng 16. 1. Sự khác nhau giữa HbA và HbF

HbA	HbF
Chuỗi β	Chuỗi γ
α-NH ₃ ⁺ tự do	α-NH ₃ ⁺ tự do
Lys ⁺⁸²	Lys ⁺⁸²
His ⁺¹⁴³	Ser ⁰¹⁴³

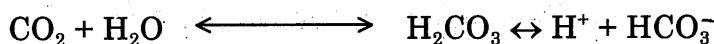
Sự thay đổi acid amin His⁺ thành Ser⁰ ở vị trí 143 của chuỗi γ làm cho 2,3-DPG gắn vào γ kém hơn, dẫn tới ái lực của HbF với O₂ cao hơn ái lực của HbA với O₂, điều này có tác dụng hút O₂ từ HbA của máu mẹ sang HbF của máu thai nhi.



1.2. Sự vận chuyển CO₂ trong máu

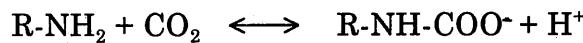
CO₂ trong máu được vận chuyển dưới 3 dạng:

1.2.1. Dạng bicarbonat (HCO₃⁻): trong hồng cầu, phần lớn CO₂ được enzym *carbonic anhydrase* (CA) xúc tác, kết hợp với H₂O để tạo thành H₂CO₃, sau đó H₂CO₃ tự phân ly thành H⁺ và HCO₃⁻:

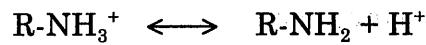


Dạng HCO₃⁻ chiếm 78% các dạng vận chuyển CO₂ trong máu.

1.2.2. Dạng carbamin: dạng này chiếm 13% các dạng vận chuyển CO₂ trong máu. Dạng này được tạo thành do CO₂ phản ứng với các nhóm amin tự do của các chuỗi α và β của Hb theo phản ứng:



Vì pH trong hồng cầu bằng 7,20 nên các nhóm $R-NH_2$ đều tích điện (+) : $R-NH_3^+$, muốn có $R-NH_2$ để gắn CO_2 phải có phản ứng:



Như vậy, sự tạo thành HCO_3^- và $R-NH_2$ đều sản sinh H^+ .

1.2.3. CO_2 dạng hoà tan: đây là dạng CO_2 được hoà tan trong máu, dạng này chỉ chiếm 9% các dạng vận chuyển CO_2 trong máu.

1.3. Khả năng đệm của hemoglobin

Ngoài vai trò vận chuyển O_2 và vận chuyển một phần CO_2 (dưới dạng carbamin), hemoglobin còn có vai trò đệm do nó có khả năng giữ H^+ .

Bảng 16. 2. Các dạng vận chuyển CO_2

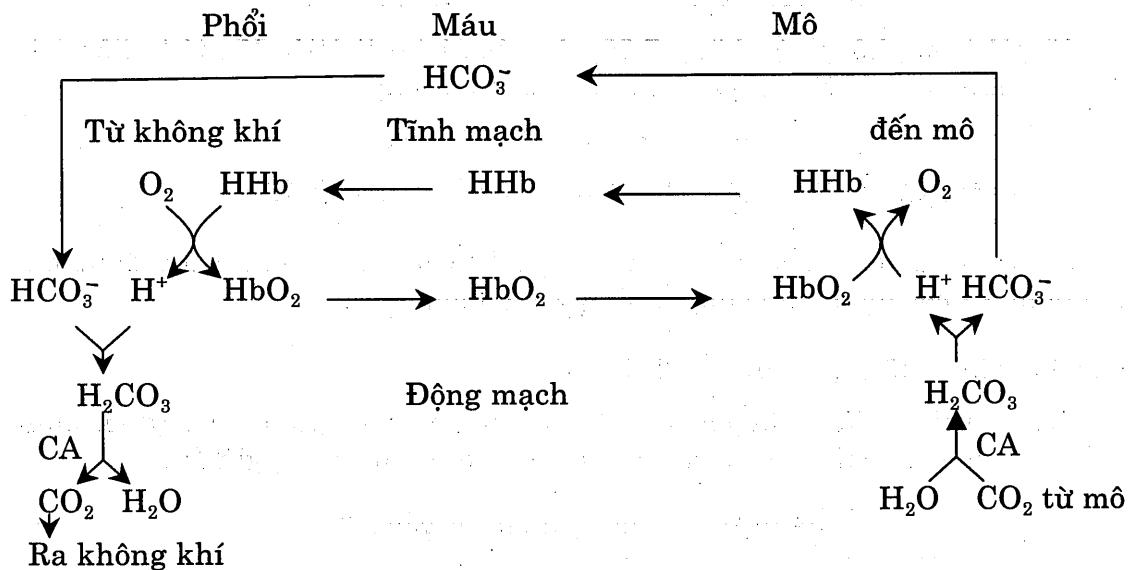
Dạng vận chuyển	Vận chuyển (%)
HCO_3^-	78
Carbamin	13
CO_2 hoà tan	9

Bảng 16. 3. Các phản ứng xảy ra ở đầu tận N của chuỗi α và β của hemoglobin.

Quá trình	Các đầu tận N	
	Chuỗi α	Chuỗi β
Sự tạo thành carbamin	Có	Có
Sự gắn DPG	Không	Có
Sự gắn H^+ (hiệu ứng Bohr)	Có	Không

Khả năng đệm của hemoglobin là do các nhóm có khả năng gắn H^+ , ví dụ như 4 nhóm amin tận cùng và các nhóm bên imindazol của gốc His. Một phân tử hemoglobin có 38 gốc His/ 4 chuỗi polypeptid của nó.

Hemoglobin có khả năng đệm 50%, còn các đệm khác (đệm phosphat trong hồng cầu, đệm protein huyết tương) đóng góp 10% khả năng đệm của máu. Còn lại, H^+ sinh ra từ H_2CO_3 được hấp thu theo một cơ chế khác gọi là cơ chế đắng hydro cũng của hemoglobin. Cơ chế đắng hydro được biểu diễn ở hình 16.2.



Hình 16. 2. Sơ đồ vận chuyển O₂ và sự vận chuyển CO₂ đắng hydro của hemoglobin.

Cơ chế đắng hydro có khả năng đệm 40% acid sinh ra trong quá trình vận chuyển CO₂ bình thường.

Bảng 16. 4. Khả năng đệm H⁺ sinh ra trong quá trình vận chuyển CO₂:

Các cách đệm H ⁺	Khả năng đệm (%)
Sự đệm bởi hemoglobin	50
Sự đệm bởi các đệm khác	10
Sự đệm bởi cơ chế đắng hydro	40

Trong hồng cầu, CO₂ tác dụng với H₂O thành H₂CO₃ dưới tác dụng của enzym carbonic anhydrase. H₂CO₃ lại phân ly thành H⁺ và HCO₃⁻. H⁺ được đệm bởi Hb, còn HCO₃⁻ trong hồng cầu cao hơn ở huyết tương nên được khuếch tán ra huyết tương. Để duy trì cân bằng anion, Cl⁻ đi vào hồng cầu thay thế cho HCO₃⁻ nhờ sự đổi chỗ Cl⁻ (xin xem chương 15: sự trao đổi muối-nước).

2. SỰ THĂNG BẰNG ACID-BASE

2.1. Cơ sở hóa lý của sự thăng bằng acid - base

2.1.1. Khái niệm về pH: nước là chất phân ly yếu:



Hệ số cân bằng của sự phân ly của nước là:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{H}^+] [\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} \quad (2)$$

Nồng độ của H_2O trong 1 lít nước tinh khiết = $1000/18 = 55,5 \text{ mol/L}$

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_{\text{eq}}[\text{H}_2\text{O}] = 1,8 \times 10^{-16} \times 55,5 = 1,01 \times 10^{-14} \quad (3)$$

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-7} \text{ mol/L} \quad (4)$$

Sorenson (1909) đã biểu thị nồng độ H^+ ra pH bằng cách biến đổi các thông số sau:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] \quad (5)$$

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1,0 \times 10^{-14}$$

Lấy log 2 vế và nhân với -1, ta có: $\log[\text{H}^+] + \log[\text{OH}^-] = \log 10^{-14} = -14$

$$-\log[\text{H}^+] - \log[\text{OH}^-] = 14$$

Ký hiệu $-\log[\text{H}^+] = \text{pH}$ và $-\log[\text{OH}^-] = \text{pOH}$, ta có: $\text{pH} + \text{pOH} = 14$

Các nồng độ $[\text{H}^+]$ và $[\text{OH}^-]$ có liên quan tương hỗ với nhau. Nếu nồng độ $[\text{H}^+]$ cao thì $[\text{OH}^-]$ phải thấp.

Ví dụ: nếu $[\text{H}^+] = 10^{-2} \text{ M}$ thì $[\text{OH}^-] = 10^{-12} \text{ M}$.

2.1.2. Phương trình Henderson-Hasselbalch

Một dung dịch acid yếu sẽ phân ly: $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$

Hệ số phân ly sẽ là:

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \rightarrow [\text{H}^+] = K \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

Lấy log 2 vế và nhân với -1, ta có:

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

Ký hiệu $-\log[\text{H}^+] = \text{pH}$ và $-\log K = \text{pK}$, ta có:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Khả năng đệm tốt nhất của một dung dịch đạt được khi $[\text{A}^-] = [\text{HA}]$, nghĩa là khi đó $\text{pH} = \text{pK}$. Trong huyết tương, 90 đến 95% CO_2 ở dưới dạng HCO_3^- , do đó nồng độ CO_2 và $[\text{HCO}_3^-]$ chỉ khác nhau độ khoảng 1mmol/L. Đối với hệ đệm $[\text{HCO}_3^-]/\text{H}_2\text{CO}_3$ của huyết tương, phương trình Henderson-Hasselbalch sẽ là:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

Theo định luật Henry, nồng độ của một khí trong một dung dịch tỷ lệ với áp lực riêng phần của khí đó trên bề mặt của dịch. Đối với CO_2 , nồng độ CO_2 hòa tan tỷ lệ với áp lực riêng phần của nó trong dung dịch, nghĩa là phụ thuộc vào hệ số hoà tan α của CO_2 . Sự phụ thuộc này được xác định bằng phương trình:

$$[\text{CO}_2 \text{ hòa tan}] = \alpha \cdot p\text{CO}_2 (\text{mEq/L})$$

α là hệ số hoà tan của CO_2 và có giá trị bằng 0,03 mEq/L ở 37°C . Phương trình Henderson-Hasselbalch lúc này sẽ trở thành:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,03 \cdot \text{pCO}_2}$$

$[\text{HCO}_3^-]$ được tính bằng mEq/L.

Khi một acid mạnh được thêm vào máu, $[\text{HCO}_3^-]$ sẽ phản ứng với acid đó, tạo thành H_2CO_3 , $[\text{HCO}_3^-]$ sẽ giảm đi và CO_2 được tạo thành. Vì cơ thể là một hệ thống mở nên CO_2 dư được thở ra, tỷ lệ $[\text{HCO}_3^-]/p\text{CO}_2$ không bị biến đổi nhiều. Tương tự như vậy, khi một base được thêm vào máu, nó sẽ bị trung hoà bởi H_2CO_3 . Hệ thống đệm trong cơ thể thật sự là một hệ thống mở trong đó $p\text{CO}_2$ luôn được điều chỉnh để phù hợp với yêu cầu của cơ thể. Nếu sự hô hấp không thực hiện được sự điều chỉnh này, $p\text{CO}_2$ sẽ bị thay đổi mạnh và hệ thống đệm bicarbonat sẽ kém hiệu lực. Hệ đệm $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ quan trọng vì:

- * Nhạy cảm với điều hoà bởi phổi và thận
- * Dễ đo lường
- * Có lượng lớn trong máu.

Phương trình Henderson-Hasselbalch là phương trình cơ bản thể hiện trạng thái thăng bằng acid-base của cơ thể.

2.2. Sự thăng bằng acid-base trong cơ thể sống

Bình thường, pH máu động mạch = 7,38 – 7,42.

Lượng H^+ tạo thành trong quá trình chuyển hóa là khoảng 100 mEq/ 24h; pH máu được giữ thăng bằng nhờ các hệ đệm trong huyết tương và hồng cầu.

2.2.1. Các hệ đệm của cơ thể

– Các hệ đệm của huyết tương và dịch gian bào: huyết tương và dịch gian bào có các hệ đệm sau:

- + Hệ đệm bicarbonat: $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$
- + Hệ đệm phosphat: $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$
- + Hệ đệm protein: proteinat/protein

- Các hệ đệm của hồng cầu: hồng cầu có các hệ đệm hemoglobin sau:

+ Hệ đệm hemoglobinat/ hemoglobin: KHb/ HHb

+ Hệ đệm oxyhemoglobinat/ oxyhemoglobin: KHbO₂/ HHbO₂

Khả năng đệm của các hệ đệm của máu được chỉ ra ở bảng 16.5.

Bảng 16. 5. Khả năng đệm của các hệ đệm của máu

Các hệ đệm của máu	Khả năng đệm (%)
Hệ đệm hemoglobin	82
Hệ đệm protein	10
Hệ đệm bicarbonat	7
Hệ đệm phosphat	1

- Các hệ đệm của dịch trong tế bào:

Trong tế bào có K⁺, protein và các phosphat hữu cơ cao có khả năng đệm tốt sự biến đổi pH khi CO₂ thay đổi. Khả năng đệm của tế bào của các mô là rất lớn, chiếm tới 52% trong tổng số khả năng đệm của cơ thể đối với các acid chuyển hóa (bảng 15.6).

Bảng 16. 6. Khả năng đệm của các hệ đệm của cơ thể đối với các acid chuyển hóa

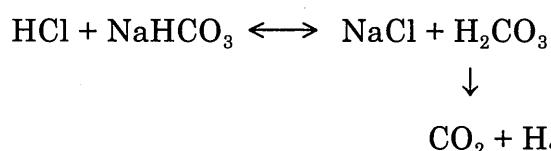
Các mô	Khả năng đệm (%)
Tế bào của các mô	52
Các dịch ngoài tế bào	42
Hồng cầu	6

2.2.2. Sự điều hoà thăng bằng acid-base của cơ thể

- Tác dụng của hệ đệm: các hệ đệm có vai trò điều hoà nhanh chóng các tác nhân gây ra mất thăng bằng nội môi về acid-base.

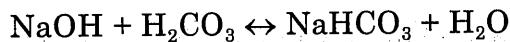
Ví dụ: đối với hệ đệm bicarbonat: NaHCO₃/ H₂CO₃

Khi một acid HA xâm nhập vào cơ thể, nó sẽ tác dụng với phần NaHCO₃ của hệ đệm bicarbonat (ví dụ HA là HCl):



Sản phẩm tạo thành là CO₂ và H₂O. CO₂ là chất dễ bay hơi, được phổi thở ra ngoài nên pCO₂ máu không bị tăng. Như vậy, khi một acid xâm nhập vào cơ thể, mặc dù phải sử dụng một phần HCO₃, nhưng tỷ số phương trình Henderson-Hasselbalch ít thay đổi, điều này cũng có nghĩa là pH của máu ít bị thay đổi.

Trái lại, khi một base, ví dụ NaOH xâm nhập vào cơ thể, nó sẽ tác dụng với phần H_2CO_3 của hệ đệm bicarbonat (ví dụ base là NaOH):



Khi một base xâm nhập vào cơ thể, nó sẽ phản ứng với phần acid của hệ đệm, tạo nên $NaHCO_3$ là một base đệm của huyết tương và dịch gian bào và H_2O ; pH của máu cũng rất ít bị thay đổi.

- Điều hoà bởi cơ chế sinh lý:

+ Điều hoà thăng bằng acid-base bởi phổi:

Vai trò của phổi là làm cho cơ thể người một hệ thống mở, thông qua tác dụng của hệ đệm bicarbonat và hemoglobin. CO_2 được tạo thành liên tục trong tổ chức với tốc độ 200 ml/phút (≈ 20 mmol/phút), liên tục được đào thải ở phổi (xem phần vận chuyển CO_2).

Khi một acid mạnh xâm nhập vào cơ thể, nó sẽ tác dụng với $NaHCO_3$ của hệ đệm bicarbonat, tạo thành H_2CO_3 . H_2CO_3 dưới tác dụng của CA sẽ tách thành CO_2 và H_2O . CO_2 tạo thành được đào thải qua phổi. Kết quả là acid mạnh bị mất đi, trong khi cơ thể chỉ mất một phần $NaHCO_3$, còn pCO_2 không thay đổi.

Khi một base mạnh xâm nhập vào cơ thể, các ion OH^- của base mạnh sẽ kết hợp với CO_2 (dưới dạng hoà tan hay H_2CO_3) tạo thành HCO_3^- và H_2O . Lượng CO_2 qua phổi sẽ giảm nhưng pCO_2 của máu vẫn giữ ở mức bình thường. Sự tăng pH sau khi thêm một base mạnh vào cơ thể sẽ trở nên không đáng kể.

+ Sự điều hoà thăng bằng acid-base bởi thận:

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:

- Thận tái hấp thu bicarbonat: gần 90% bicarbonat được tái hấp thu ở ống lượn gần. Trong tế bào ống thận CO_2 và H_2O được tạo thành trong các quá trình chuyển hóa, được chuyển thành H_2CO_3 dưới tác dụng của carbonic anhydrase. H_2CO_3 được phân ly thành H^+ và HCO_3^- . Ion H^+ được bài tiết ra khỏi tế bào ống thận, HCO_3^- cùng với Na^+ được tái hấp thu trở lại máu.

- Thận đào thải muối acid và acid không bay hơi. Ở ống lượn xa ion H^+ cũng được đào thải thế chỗ cho Na^+ đã được tái hấp thu cùng với HCO_3^- . Trong nước tiểu, các muối Na_2HPO_4 nhận H^+ trở thành muối NaH_2PO_4 , làm cho pH giảm, còn Na^+ được tái hấp thu vào máu. Một số acid hữu cơ như acid acetic, acid lactic, ... cũng được đào thải dưới dạng nguyên vẹn qua thận.

- Một cơ chế thứ ba cũng xảy ra ở ống lượn xa là tế bào ống thận bài tiết ion H^+ dưới dạng muối amon. Ở tế bào ống thận NH_3 được tạo ra chủ yếu do thuỷ phân glutamin dưới tác dụng của *glutaminase*. NH_3 khuếch tán thụ động ra nước tiểu, cùng với H^+ đào thải dưới dạng muối NH_4^+ (xin xem thêm chương 18: hóa sinh thận và nước tiểu).

Hàng ngày có tới 30-50 mEq ion H^+ được đào thải ra nước tiểu dưới dạng muối amon và khoảng 10-30 mEq dưới dạng các muối acid khác.

2.3. Các thông số sử dụng để đánh giá trạng thái acid-base của cơ thể

2.3.1. pH máu

pH máu được sử dụng để đánh giá tình trạng thăng bằng acid-base của cơ thể là pH máu động mạch hoặc máu mao mạch đã được động mạch hóa, trong điều kiện máu không bị tiếp xúc với oxy. Để đánh giá tình trạng thăng bằng acid-base của cơ thể, cần phải đánh giá kết hợp pH máu với các thông số thăng bằng acid-base khác.

Bình thường pH máu động mạch của người khỏe mạnh nằm trong khoảng 7,38 - 7,42. Sở dĩ pH máu của người khỏe mạnh được duy trì ở mức độ bình thường là nhờ khả năng đệm của các hệ đệm trong máu và cơ chế hoạt động điều chỉnh của phổi và thận.

2.3.2. pCO_2 máu động mạch

pCO_2 máu chỉ phụ thuộc vào sự hoạt động điều hoà của phổi, tức là phụ thuộc vào mức độ thông khí phế nang. pCO_2 máu tỷ lệ nghịch với mức độ thông khí phế nang. Bình thường, pCO_2 máu dao động xung quanh 40 mmHg.

2.3.3. Bicarbonat thực ($AB =$ actual bicarbonate)

Bicarbonat thực là nồng độ bicarbonat trong máu thử được lấy trong điều kiện không tiếp xúc với không khí, tương ứng với pH và pCO_2 thực của máu được định lượng.

Giá trị bình thường của AB là 25 mEq/L. Thông số này phụ thuộc nhiều vào pCO_2 . Khi pCO_2 tăng cao, AB sẽ tăng lên theo.

2.3.4. Bicarbonat chuẩn (SB: standard bicarbonate)

Bicarbonat chuẩn là nồng độ HCO_3^- ở điều kiện chuẩn: $pCO_2 = 40$ mmHg, $t^\circ = 37^\circ C$.

Giá trị bình thường của SB là 25 mEq/L. Giá trị SB chỉ thay đổi trong trường hợp rối loạn thăng bằng acid-base chuyển hóa.

2.3.5. Base đệm (BB = buffer base)

Base đệm là tổng số nồng độ của các anion đệm trong máu toàn phần (HCO_3^- , HPO_4^{2-} , protein, Hb^- , ...). BB không phụ thuộc nhiều vào pCO_2 máu, nhưng bị phụ thuộc một phần vào nồng độ Hb máu. Giá trị BB bình thường của máu là 46 mEq/L.

2.3.6. Base dư (EB = excess base)

Base dư (hoặc base thiếu) là lượng base thiếu hụt trong máu. Base dư được xác định bằng lượng acid được thêm vào máu để đưa pH máu về pH = 7,40 ở điều kiện $pCO_2 = 40$ mmHg và nhiệt độ = $37^\circ C$.

Giá trị EB bình thường của máu có pH = 7,4 ; pCO₂ = 40 mmHg ở 37°C là bằng 0. EB có giá trị âm khi thiếu base (thừa acid), EB có giá trị dương khi thừa base (thiếu acid) trong máu. Thông số EB của máu chẳng những thể hiện tình trạng rối loạn thăng bằng acid-base của cơ thể mà nó còn cho phép đánh giá lượng base thiếu hoặc thừa, từ đó có thể tính toán lượng base hoặc acid cần thiết phải đưa vào cơ thể để điều chỉnh lại sự thăng bằng acid-base cho bệnh nhân.

3. RỐI LOẠN THĂNG BẰNG ACID-BASE

Rối loạn thăng bằng acid-base là một tình trạng bệnh lý làm thay đổi pH sinh lý của máu. Có 4 loại rối loạn thăng bằng acid-base chủ yếu, đó là nhiễm acid chuyển hóa, nhiễm kiềm chuyển hóa, nhiễm acid hô hấp và nhiễm kiềm hô hấp. Ngoài ra, còn 4 loại rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp.

3.1. Nhiễm acid chuyển hóa

3.1.1. Định nghĩa nhiễm acid chuyển hóa

Nhiễm acid chuyển hóa (metabolic acidosis) là rối loạn thăng bằng acid-base do mức độ HCO₃⁻ huyết tương bị giảm, do đó làm pH của máu giảm xuống dưới giới hạn bình thường. Các phát hiện hóa sinh trong nhiễm acid chuyển hóa bao gồm pH thấp, nồng độ HCO₃⁻ huyết thanh giảm, có sự giảm pCO₂ khi có bù bởi phổi và có sự acid hóa nước tiểu khi có bù bởi thận. pH máu thấp trước khi có bù và có giá trị bình thường hoặc giảm nhẹ sau khi đã được bù. Cl⁻ có thể tăng nếu nhiễm acid chuyển hóa do HCO₃⁻ bị mất khi ỉa chảy. K⁺ có thể giảm trong nhiễm acid do thận hoặc do ỉa chảy có sự mất K⁺ hoặc trong nhiễm acid do cetonic trong đái tháo đường.

3.1.2. Nguyên nhân nhiễm acid chuyển hóa

Nhiễm acid chuyển hóa có thể do các nguyên nhân chủ yếu sau: nhiễm acid chuyển hóa do sự tạo thành H⁺ tăng, do ăn uống thừa acid, do bài tiết H⁺ giảm hoặc do mất HCO₃⁻.

Sự bù bởi phổi được thực hiện bởi sự tăng thông khí phế nang để đào thải CO₂ ra khỏi cơ thể, điều này làm giảm pCO₂ và do đó làm H₂CO₃ giảm, tỷ số HCO₃⁻ / H₂CO₃ tăng và pH máu tăng dần về giới hạn bình thường. Sự bù bởi phổi được bắt đầu khi pH thấp kích thích các chemoreceptor và quá trình bù bởi phổi được hoàn thành trong khoảng từ 12 đến 24 giờ.

Sự bù bởi thận có hiệu quả hơn khi nguyên nhân gây nhiễm acid chuyển hóa không phải do thận. Thận đáp ứng với nhiễm acid chuyển hóa bằng cách tăng bài tiết H⁺ và tăng tái hấp thu HCO₃⁻. Sự bù đối với nhiễm acid chuyển hóa bởi thận được hoàn thành trong khoảng thời gian từ 2 đến 4 ngày, khi sự bài tiết H⁺ trở về bình thường.

3.2. Nhiễm kiềm chuyển hóa

3.2.1. Định nghĩa: nhiễm kiềm chuyển hóa (metabolic alkalosis) là một tình trạng thừa HCO_3^- trong máu, sự tăng HCO_3^- làm cho tử số của phương trình Henderson-Hasselbalch tăng, dẫn đến tỷ số $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ tăng, do đó làm pH máu cao hơn bình thường. Có hai điều kiện cần thiết của nhiễm kiềm chuyển hóa: một là, nồng độ HCO_3^- ngoài tế bào tăng và hai là, thận không có khả năng bài tiết lượng HCO_3^- đó.

Khi nhiễm kiềm chuyển hóa, pH tăng, HCO_3^- tăng, pCO_2 động mạch bình thường hoặc tăng nhẹ nếu sự bù bởi phổi xảy ra, mặc dù pCO_2 rất hiếm khi tăng vượt quá 60 mmHg (một pCO_2 cao hơn có thể chỉ ra một nhiễm acid hô hấp trùm lên một nhiễm kiềm chuyển hóa). pH tăng trong nhiễm kiềm chuyển hóa không được bù hoặc được bù một phần, nhưng bình thường khi nhiễm kiềm được bù hoàn toàn. K^+ và Cl^- bị giảm. Nước tiểu thường kiềm vì sự bài tiết acid bị giảm và sự bài tiết HCO_3^- tăng.

3.2.2. Nguyên nhân nhiễm kiềm chuyển hóa

Nhiễm kiềm chuyển hóa có thể do tiếp nhận thừa chất kiềm, do mất H^+ hoặc do K^+ bị cạn kiệt. Một nhiễm kiềm cấp có thể bị gây nên do nôn mửa, do ăn uống phải các chất kháng acid hoặc HCO_3^- . Nhiễm kiềm chuyển hóa mạn có thể do điều trị steroid, bệnh Cushing, cường aldosteron hoặc uống thừa licorice trong một thời gian dài.

3.2.3. Sự bù trong nhiễm kiềm chuyển hóa

Trong nhiễm kiềm chuyển hóa, pH tăng và tỷ số $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ lớn hơn 20/1. Sự bù đối với nhiễm kiềm chuyển hóa cũng được thực hiện bởi 2 cơ quan bài tiết là phổi và thận. Khi nhiễm kiềm chuyển hóa, pH tăng gây ức chế trung tâm hô hấp, làm giảm thông khí phế nang, do đó pCO_2 tăng. Thận đáp ứng đối với pH tăng trong nhiễm kiềm chuyển hóa bằng cách giảm tái hấp thu HCO_3^- , nghĩa là tăng bài xuất HCO_3^- để là giảm tử số của phương trình Henderson-Hasselbalch, đồng thời giữ lại H^+ , trong khi phổi giữ lại CO_2 để làm tăng mao số của phương trình này. Kết quả là cơ chế này có tác dụng đưa tỷ số này về giá trị 20/1 và đưa pH về gần pH sinh lý 7,40.

Sự bù bởi phổi trong nhiễm kiềm chuyển hóa ít có hiệu quả vì đây là những rối loạn acid-base nguyên phát. Sự giảm thông khí phế nang cũng làm giảm pO_2 .

3.3. Nhiễm acid hô hấp

3.3.1. Định nghĩa: nhiễm acid hô hấp (respiratory acidosis) là tình trạng tăng áp lực riêng phần của CO_2 trong máu (pCO_2), nguyên nhân là do giảm thông khí phế nang. Nhiễm acid hô hấp thường gặp trong suy hô hấp mạn hoặc trong đợt cấp của suy hô hấp cấp. Khi bị nhiễm acid hô hấp cấp, pCO_2 máu tăng, pH giảm, HCO_3^- bình thường và tỷ số $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ giảm.

3.3.2. Các nguyên nhân gây nhiễm acid hô hấp

Nguyên nhân cơ bản của nhiễm acid hô hấp là do giảm thông khí phế nang nguyên phát một cách quá mức. Ví dụ: tắc đường thở, ức chế trung tâm hô hấp, bệnh bại liệt, bệnh phổi, gù hoặc vẹo cột sống.

3.3.3. Sự bù trong nhiễm acid hô hấp

Trong nhiễm acid hô hấp, thận đóng vai trò chủ yếu bằng cách giữ lại HCO_3^- , mặc dù cũng có sự tham gia bù một phần của phổi. Thận bù đối với nhiễm acid hô hấp bằng cách tăng sự trao đổi Na^+ và H^+ (nghĩa là làm tăng bài xuất H^+ và giữ lại Na^+), giữ lại HCO_3^- và tăng sự tạo thành NH_3 . Cl^- huyết thanh giảm vì Cl^- được trao đổi với HCO_3^- và được bài tiết cùng với H^+ và NH_4^+ . Một phần CO_2 đi vào tế bào, được hydrat hóa nhờ enzym carbonic anhydrase để tạo thành H_2CO_3 . H_2CO_3 sau đó được phân ly thành H^+ và HCO_3^- . H^+ được đệm bởi hệ đệm hemoglobin và các đệm khác; còn HCO_3^- sẽ làm tử số của phương trình Henderson-Hasselbalch, do đó làm pH máu tăng dần về pH sinh lý.

Sự bù của thận bắt đầu được thực hiện trong khoảng từ 6 đến 12 giờ, đạt tối ưu trong khoảng 2 đến 3 ngày và hoàn thành và khoảng ngày thứ 5 sau rối loạn. Trong nhiễm acid hô hấp mạn, sự bù của thận không có hiệu quả để đưa pH về pH sinh lý như khi bị nhiễm acid hô hấp cấp.

3.4. Nhiễm kiềm hô hấp

3.4.1. Định nghĩa: nhiễm kiềm hô hấp (respiratory alkalosis) là tình trạng giảm pCO_2 máu, nguyên nhân là do tăng thông khí phế nang quá mức. Nhiễm kiềm hô hấp thường gặp trong suy hô hấp mạn hoặc trong đợt cấp của suy hô hấp cấp. Khi bị nhiễm kiềm hô hấp, pCO_2 máu giảm, pH tăng, HCO_3^- bình thường và tỷ số $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ tăng.

3.4.2. Các nguyên nhân gây nhiễm kiềm hô hấp

Nguyên nhân cơ bản của nhiễm kiềm hô hấp là do tăng thông khí phế nang nguyên phát một cách quá mức. Một số nguyên nhân gây nhiễm kiềm hô hấp có thể là do thiếu oxy, do tăng thông khí phế nang hoặc phù phổi.

3.4.3. Sự bù trong nhiễm kiềm hô hấp

Vì nguyên nhân cơ bản của nhiễm kiềm hô hấp là do tăng thông khí phế nang nguyên phát một cách quá mức, vì vậy, sự bù hô hấp là làm giảm thông khí phế nang. Nếu các chomoreceptor hô hấp không đáp ứng với pO_2 cao và pCO_2 thấp của nhiễm kiềm hô hấp thì sự bù chuyển hóa sẽ được một số hệ đệm sẽ phát huy tác dụng: các hệ đệm hemoglobinat/ hemoglobin, proteinat/protein và hệ đệm phosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) sẽ cung cấp các H^+ để HCO_3^- biến đổi thành H_2CO_3 . Việc đệm đổi với HCO_3^- làm giảm HCO_3^- và làm tăng H_2CO_3 , dẫn đến làm giảm tỷ số $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ của phương trình Henderson-Hasselbalch, do đó làm giảm pH. H^+ của các hệ đệm đã sử dụng trong quá trình đệm được thay thế bởi K^+ , điều này làm K^+ máu hạ.

3.5. Những rối loạn acid-base hỗn hợp

Trong thực tế lâm sàng có thể thấy nhiều loại rối loạn acid-base. Có một số rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp do hậu quả của sự kết hợp của hai hay nhiều sự mất thăng bằng acid-base tiên phát hoặc của một sự rối loạn acid-base mà không được bù một cách đầy đủ. Một số rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp có thể gặp là:

1. Rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp do một nhiễm acid hô hấp kết hợp với một nhiễm kiềm chuyển hóa khi nhiễm acid hô hấp kéo dài và bệnh nhân được điều trị với một lượng thừa các thuốc lợi niệu, các thuốc này có tác dụng làm giảm mạnh thể tích máu động mạch, gây nên một sự giảm K⁺ máu và dẫn đến một sự nhiễm kiềm chuyển hóa chùm lên. Ở những bệnh nhân này, HCO₃⁻ và pCO₂ máu tăng nhưng K⁺ máu giảm.

2. Rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp do một nhiễm kiềm hô hấp kết hợp với một nhiễm acid chuyển hóa khi bệnh nhân bị ngộ độc salicylat do uống quá liều aspirin. Lúc đầu, aspirin kích thích các thụ thể hóa học (chemoreceptor), làm tăng thông khí phế nang quá mức, gây nên nhiễm kiềm hô hấp. Sau đó, các sản phẩm phụ của salicylat trong thuốc aspirin sẽ dẫn đến nhiễm acid chuyển hóa. Một pCO₂ thấp với một pH máu bình thường có thể chỉ dẫn một sự uống aspirin quá liều. Nhiễm acid chuyển hóa chiếm ưu thế ở trẻ em, trái lại nhiễm kiềm hô hấp có khuynh hướng chiếm ưu thế ở tuổi vị thành niên và ở người lớn.

3. Rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp do một nhiễm acid hô hấp kết hợp với một nhiễm acid chuyển hóa khi nhiễm acid hô hấp do ngừng hoạt động tim phổi và nhiễm acid chuyển hóa do tăng acid lactic máu gây nên do thiếu oxy mô. Trong trường hợp này, pH của máu sẽ rất thấp vì cả hai nguyên nhân này đều dẫn đến nhiễm acid, nghĩa là làm giảm pH.

4. Rối loạn thăng bằng acid-base hỗn hợp do một nhiễm kiềm hô hấp kết hợp với một nhiễm kiềm chuyển hóa khi bệnh nhân được sử dụng máy hô hấp nhân tạo kết hợp với việc điều trị bằng thuốc lợi tiểu mà không được theo dõi một cách cẩn thận. Trong tình trạng này, pH máu sẽ rất cao do sự tham gia của cả hai loại nhiễm kiềm hô hấp và nhiễm kiềm chuyển hóa.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày sự vận chuyển O₂ và CO₂ trong máu.
2. Trình bày thành phần và khả năng đệm của các hệ đệm của máu.
3. Trình bày vai trò của phổi trong sự điều hoà thăng bằng acid-base của cơ thể.
4. Trình bày vai trò của thận trong sự điều hoà thăng bằng acid-base của cơ thể.
5. Trình bày các loại rối loạn thăng bằng acid-base.

Chương 17

HÓA SINH GAN

MỤC TIÊU

1. Trình bày được thành phần hóa học chính và vai trò của mật.
2. Phân tích đặc điểm chuyển hóa glucid, lipid và protid của tế bào gan.
3. Nêu được các cơ chế khử độc của gan và các xét nghiệm hóa sinh gan.

ĐẠI CƯƠNG

Gan là một trong những cơ quan quan trọng nhất của cơ thể về chức phận chuyển hóa và là cơ quan thứ hai sau hệ cơ xương về tỷ lệ so với thân trọng (nặng khoảng 2kg). Các hoạt động chuyển hóa của gan xảy ra ở các tế bào nhu mô (parenchymal), chiếm 80% khối lượng gan. Gan cũng gồm các tế bào Kupffer chứa hệ thống lưới nội nguyên sinh chất.

Do đảm nhận nhiều chức phận chuyển hóa là cửa ngõ của các chất vào cơ thể qua bộ máy tiêu hóa, nên gan là một cơ quan dễ bị nhiễm bệnh. Tỷ lệ bệnh gan-mật thường cao hơn bệnh lý của các cơ quan khác và các xét nghiệm hóa sinh là rất quan trọng giúp cho việc chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh lý của hệ thống này.

1. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA NHU MÔ GAN

Thành phần các chất cấu tạo gan thay đổi tuỳ theo điều kiện hoạt động, ăn uống, thời kỳ hoạt động của cơ thể.

Bảng 17.1. Thành phần hóa học của gan tính theo tỷ lệ %

Các chất	Tỷ lệ %
Nước	70-75
Chất khô	25-30
Protein	12-15
Glycogen	2-10
Glucose	0,1
Lipid trung tính	2,0
Phospholipid	2,5
Cholesterol	2,3
Các chất khoáng	rất thấp
Các vitamin	rất thấp

– **Protein:** protein chiếm khoảng 1/2 chất khô của gan. Những protein của gan là albumin, globulin, một ít nucleoprotein, collagen, ferritin. Ferritin là sự kết hợp của apoferritin và sắt, vì vậy ferritin là dạng dự trữ sắt của cơ thể. Ngoài ra, gan còn chứa nhiều acid amin tự do như cystein, methionin, tryptophan, arginin, glicin, histidin và nhiều nhất là acid glutamic.

– **Glucid:** chiếm khoảng 2-10% trọng lượng khô của gan tùy theo tình trạng cơ thể. Glucid ở gan chủ yếu là glycogen.

– **Lipid:** lipid gan chiếm khoảng 5% trọng lượng khô của gan, trong đó 40% là lipid trung tính, 50% là phospholipid còn lại 10% là cholesterol.

– **Enzym và vitamin:** gan đảm nhận nhiều chức năng chuyển hóa quan trọng của cơ thể nhờ có một hệ thống enzym rất hoàn chỉnh và có nhiều enzym mà các tổ chức khác không có.

Gan có chứa nhiều vitamin A, D, K, các vitamin nhóm B (B1, B2, B12,...) và vitamin C. Ngoài ra gan còn chứa một số ion kim loại quan trọng như Fe, Na, K, Mg, Cu, Zn...

2. CHỨC NĂNG CHUYỂN HÓA GLUCID, LIPID, PROTEIN CỦA GAN

Các chuyển hóa hóa sinh xảy ra ở gan rất mạnh, phong phú, phức tạp. Nói đến hoạt động hóa sinh của gan là nói đến hầu hết các hoạt động hóa sinh trong tế bào. Ở đây chỉ nêu ra những đặc điểm hóa sinh quan trọng của gan khác với các tổ chức khác.

2.1. Chức năng chuyển hóa glucid

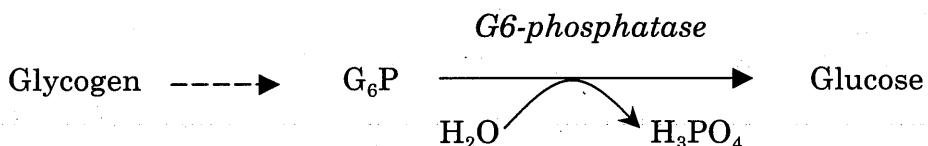
Gan đóng vai trò rất quan trọng trong chuyển hóa glucid. Gan là kho dự trữ glucid của cơ thể dưới dạng glycogen.

Khi nồng độ glucose máu có xu hướng tăng trên mức bình thường (ví dụ ngay sau bữa ăn hoặc sau khi uống đường), lượng glucose từ thức ăn qua thành ruột theo tĩnh mạch cửa về gan một cách ô ạt, gan sẽ giữ glucose lại và tăng quá trình sinh tổng hợp glycogen nhờ có những enzym cần thiết và hoạt động mạnh.

Gan có thể tổng hợp glycogen từ các ose khác như galactose, fructose, và manose nhờ hệ enzym chỉ có ở gan.

Gan còn có thể tổng hợp glycogen từ các sản phẩm chuyển hóa trung gian như lactat, pyruvat, acetyl CoA...nhờ hệ thống enzym chỉ có ở gan. Đây là điểm khác nhau cơ bản giữa gan và cơ. Khi cơ hoạt động mạnh, glycogen hoặc glucose ở cơ sẽ phân huỷ mạnh nhằm cung cấp năng lượng nhiều trong một thời gian ngắn; đồng thời quá trình này cũng sinh ra nhiều sản phẩm chuyển hóa trung gian. Các sản phẩm chuyển hóa trung gian ở cơ sẽ được vận chuyển về gan để tái tạo glucose và tổng hợp glycogen vì cơ không có khả năng này.

Khi glucose máu có xu hướng giảm dưới mức bình thường, gan sẽ tăng cường phân huỷ glycogen tạo glucose cung cấp cho máu. Mặc dù cơ và một số cơ quan khác cũng chứa glycogen, nhưng glycogen không thể phân ly cung cấp glucose cho máu vì chỉ ở gan có enzym *glucose 6-phosphatase*. Đây là enzym cần thiết để xúc tác phản ứng chuyển glucose 6-phosphate thành glucose tự do.



Glucose hình thành sẽ qua màng tế bào gan vào máu và đi đến các cơ quan của cơ thể.

Do khả năng tổng hợp glycogen mạnh để dự trữ và phân ly nhiều glucose vào máu mà gan đóng vai trò chủ chốt trong cơ thể trong việc điều hoà đường máu. Toàn bộ hệ thống điều hoà đường máu bằng hormon hoàn toàn phụ thuộc vào sự toàn vẹn chức năng gan.

Ngoài glycogen gan còn tổng hợp heparin, một chất chống đông máu tự nhiên có bản chất polysaccharid.

Ở gan, glucose còn được chuyển hóa thành acid glucuronic, một thành phần cần thiết cho chức năng khử độc của gan.

2.2. Chức năng chuyển hóa lipid

– Quá trình thoái hóa lipid: quá trình β -oxi hóa acid béo xảy ra mạnh mẽ ở gan tạo ra các mẩu acetyl CoA. Một phần nhỏ acetyl CoA được đốt cháy trong chu trình acid citric ở gan đến CO_2 và H_2O cung cấp năng lượng cho hoạt động của gan, một phần acetyl CoA được gan sử dụng tổng hợp cholesterol, acid mêt. Phần lớn acetyl CoA được tế bào gan sử dụng để tổng hợp thể ceton. Thể ceton sau khi tổng hợp ở gan được đưa vào máu và đến các tổ chức khác. Ở các tổ chức này thể ceton được chuyển trở lại thành acetyl CoA để các tổ chức khác sử dụng, đặc biệt là não và thận. Như vậy, thể ceton là dạng vận chuyển acetyl CoA trong máu từ gan đến các tổ chức khác và gan nhờ có hệ enzym hoạt động mạnh đã oxy hóa acid béo “hộ” các tổ chức khác.

– Quá trình tổng hợp lipid.

Nhiều cơ quan và tổ chức trong cơ thể có tổng hợp lipid, đặc biệt là mô mỡ có quá trình tổng hợp lipid mạnh. Tuy nhiên tổng hợp lipid ở gan có ý nghĩa quan trọng. Sau khi lipid được hấp thu ở ruột dưới dạng các thành phần cấu tạo như glycerol, acid béo (hoặc ở dạng những hạt nhũ tương rất nhỏ), một phần nhỏ sẽ được tái tổng hợp lại thành lipid ở ruột và hầu hết được vận chuyển về gan trước khi vận chuyển đến các tổ chức khác. Ngoài tổng hợp các lipid trung tính, cholesterol gan còn tổng hợp rất nhiều các phospholipid, là phân tử lipid có cực giữ vai trò chính trong cấu tạo các lipoprotein huyết thanh. Nhờ quá trình tổng hợp này gan đóng vai trò quan trọng trong việc vận

chuyển lipid trung tính, cholesterol ra khỏi gan, tránh ứ đọng mỡ ở gan. Khi chức năng gan bị suy giảm trong một số bệnh, quá trình tổng hợp và vận chuyển lipid ra khỏi gan bị rối loạn có thể dẫn đến ứ đọng mỡ ở gan.

Gan tổng hợp phần lớn cholesterol huyết thanh. Quá trình este hóa cholesterol có thể diễn ra ở gan hoặc huyết tương và enzym xúc tác cho các phản ứng este hóa này chỉ do gan sản xuất. Lượng cholesterol este hóa chiếm khoảng 60-70% lượng cholesterol toàn phần huyết tương. Khi tổn thương suy giảm chức năng gan thì tỷ lệ cholesterol este hóa/ cholesterol toàn phần sẽ giảm.

2.3. Chức năng chuyển hóa protein

Gan tổng hợp toàn bộ albumin và một phần globulin huyết thanh. Ngoài ra gan còn tổng hợp fibrinogen, ferritin, prothrombin cũng như phần lớn các protein huyết tương khác. Khi suy giảm chức năng gan, tỷ số albumin/globulin (A/G) sẽ giảm, và có các rối loạn về đông máu.

Gan còn tổng hợp rất nhiều các acid amin không cần thiết từ các acid cетonic đưa vào máu cung cấp cho các cơ quan khác tổng hợp protein.

Gan chứa nhiều enzym tham gia vào quá trình thoái hóa acid amin, đặc biệt các enzym transaminase xúc tác quá trình trao đổi amin như AST (GOT) và ALT (GPT). Trong một số bệnh gan khi có tổn thương dẫn tới phá huỷ tế bào, các enzym *transaminase* được giải phóng khỏi tế bào và tăng cao trong huyết thanh, có khi tăng gấp nhiều lần bình thường (đặc biệt là ALT). Trong một số trường hợp tổn thương huỷ hoại tế bào ở mức độ sâu hơn, một số enzym bình thường có ở ty thể gan như *glutamat dehydrogenase* (GLDH) cũng xuất hiện và tăng cao trong huyết thanh.

Gan có vai trò rất quan trọng trong quá trình khử độc nhờ quá trình tổng hợp urê từ NH₃, một sản phẩm của quá trình thoái hóa acid amin. Các enzym tham gia quá trình tổng hợp urê ở gan hoạt động mạnh và gan là nơi duy nhất tổng hợp urê của cơ thể. Trong trường hợp 3/4 tổ chức gan bị huỷ hoại hoặc cắt bỏ, chức năng tổng hợp urê của gan vẫn bình thường.

Gan tham gia vào quá trình thoái hóa hemoglobin, tạo bilirubin tự do và đặc biệt là tạo bilirubin liên hợp (được gọi là sắc tố mật) để đào thải qua mật hoặc qua nước tiểu.

3. CHỨC NĂNG TẠO MẬT

Gan sản xuất mật liên tục, dự trữ trong túi mật và bài tiết từng đợt vào tá tràng. Lượng mật bài tiết hàng ngày ở người trưởng thành trung bình 1000 ml.

3.1. Thành phần hóa học của mật

Thành phần hóa học chính của mật là muối mật, sắc tố mật, cholesterol.

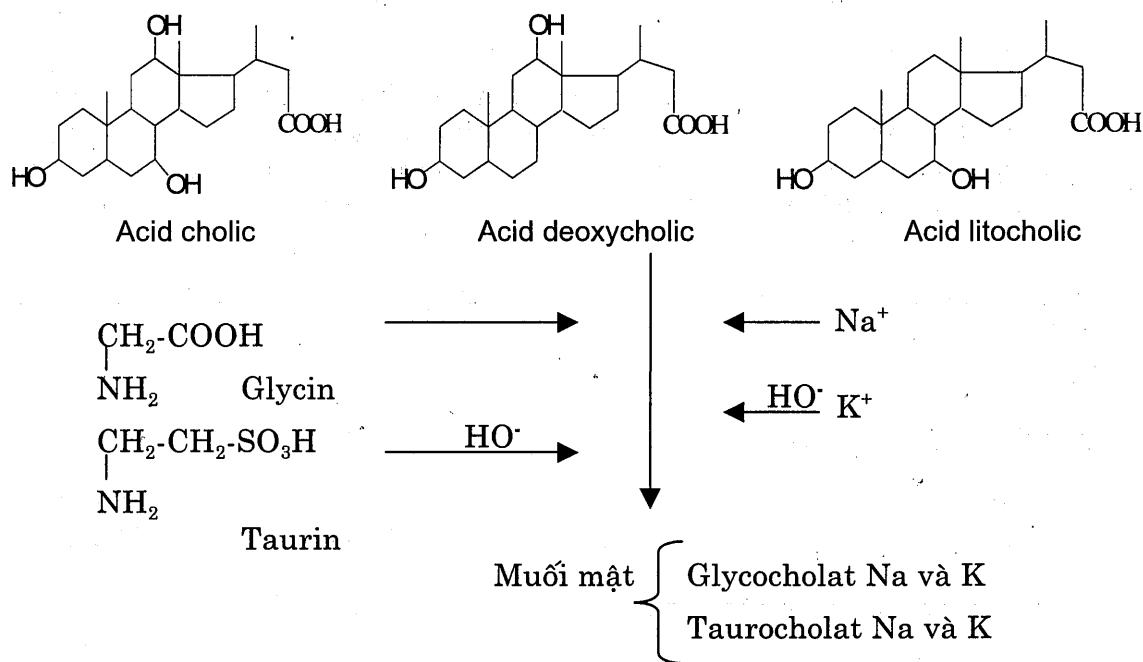
Bảng 17.2. Một số đặc tính và thành phần hóa học chính của mật

	Mật ở ống gan	Mật ở túi mật
Tỷ trọng	1,009-1,013	1,206-1,048
pH	7,5	6,8
Nước	97,6%	86%
Chất khô	2,4%	14%
Muối mật	0,6%	7%
Mucin, sắc tố mật	0,5%	4,1%
Ion vô cơ	0,7%	0,8%
Lipid trung tính	0,3%	1,9%
Acid béo	0,08%	0,1%
Phosphatid	0,05%	0,2%
Cholesterol	0,15%	0,6%

Thành phần quan trọng nhất của mật là acid mật. Các acid mật là sản phẩm thoái hóa cuối cùng của cholesterol ở gan. Trong mật người có ba acid mật chính là acid cholic, acid deoxycholic và acid litocholic.

Các acid mật không được bài tiết tự do trong mật mà được liên hợp với glycin và taurin (một dẫn xuất của cystein) rồi kết hợp với Na^+ hoặc K^+ tạo thành các muối mật.

Muối mật có thể kết hợp với một số chất hòa tan trong lipid như cholesterol..., để tạo thành những phức hợp hòa tan trong nước và được đưa ra khỏi tế bào gan.



Một thành phần quan trọng khác của mật là sắc tố mật. Sắc tố mật là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin. Sắc tố mật chủ yếu là bilirubin liên hợp và bilivecdin (xem phần chuyển hóa hemoglobin).

3.2. Tác dụng của mật

Mật được tạo ra ở tế bào gan, đưa xuống dạ trũ ở túi mật và được đưa xuống tá tràng khi thức ăn được đưa từ dạ dày xuống tá tràng. Mật có màu vàng là màu của bilirubin còn mật trong túi mật có màu sẫm hơn từ xanh lá cây đến nâu nhạt (do bilirubin bị oxy hóa thành bilivecdin và bị cô đặc). Ruột hấp thu từ 80%-90% acid mật và đưa trở lại gan, phần còn lại được bài xuất theo phân ra ngoài.

Muối mật có tác dụng nhũ tương hóa lipid của thức ăn, làm tăng diện tiếp xúc của lipid với enzym lipase, đồng thời hoạt hóa lipase giúp cho tiêu hóa lipid được dễ dàng. Những hạt nhũ tương lipid nhỏ (đường kính dưới 0,5 micron) có thể được hấp thu trực tiếp ở ruột. Vì vậy, tiêu hóa, hấp thu lipid phụ thuộc lượng muối mật có trong mật.

Mật còn có tác dụng làm tăng nhu động ruột vì lượng mật hàng ngày được bài xuất xuống ruột rất lớn.

Ngoài ra gan còn đào thải rất nhiều chất độc cũng như các chất cặn bã của các quá trình chuyển hóa qua việc bài xuất mật xuống ruột rồi theo phân ra ngoài.

4. CHỨC NĂNG KHỦ ĐỘC

Hàng ngày cơ thể luôn phải tiếp nhận các chất độc hại do chuyển hóa các chất sinh ra (các chất độc nội sinh) hoặc do được đưa vào từ bên ngoài có trong thức ăn và nước uống (các chất độc ngoại sinh). Cơ thể muốn tồn tại phải có một cơ chế chống lại các chất độc hại này và vai trò quan trọng này do gan đảm nhiệm.

Dù là chất độc nội sinh (H_2O_2 , bilirubin tự do, NH_3 , ...) hay ngoại sinh (alcol, thuốc kháng sinh, thuốc ngủ,...) đều được gan giữ lại chuyển thành các chất không độc và đào thải ra ngoài. Đây chính là chức phận khủ độc của gan. Gan thực hiện chức năng khủ độc bằng hai cách.

4.1. Khủ độc theo cơ chế cố định và thải trừ

Theo cơ chế này, các chất độc khi đến gan được gan giữ lại rồi đào thải nguyên dạng theo đường mật. Các chất độc được đào thải theo cách này không bị biến đổi về mặt hóa học. Các chất độc được gan khủ độc theo cách này bao gồm các muối kim loại nặng (muối Cu, Pb,...), một số chất màu.

Dựa theo cơ chế khủ độc này người ta có thể thăm dò chức năng gan bằng cách tiêm một chất màu (không hoặc ít độc) vào tĩnh mạch. Sau từng thời gian nhất định người ta lấy máu và định lượng chất màu. Nếu chức năng gan tốt, chất màu sẽ bị gan giữ lại để thải trừ qua đường mật và hàm lượng chất màu trong máu sẽ giảm nhanh chóng theo thời gian.

4.2. Khử độc theo cơ chế hóa học

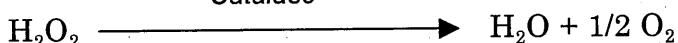
Đây là cách khử độc chính và quan trọng của gan. Đặc điểm của quá trình này là chất độc được biến đổi hóa học thành chất không độc, dễ tan trong nước để đào thải ra ngoài.

- Quá trình tạo urê từ NH₃.

NH₃ là một sản phẩm thoái hóa của các acid amin hoặc các base nito là một chất độc nội sinh, đặc biệt độc đối với não. Khi NH₃ đến gan sẽ được gan giữ lại và tổng hợp thành urê là một chất không độc đào thải ra nước tiểu.

H₂O₂ cũng là một chất độc được sinh ra trong một số phản ứng hóa học sẽ được phân huỷ bởi enzym *catalase* hoạt động rất mạnh ở gan theo phản ứng sau.

Catalase



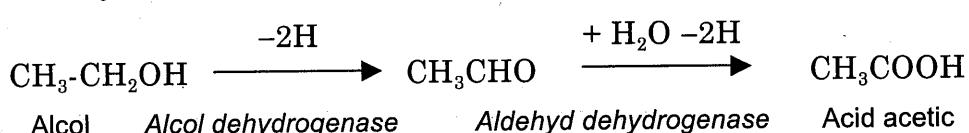
Ngoài các quá trình khử độc ở trên, gan có các phản ứng khử độc sau.

4.2.1. Phản ứng oxy hóa

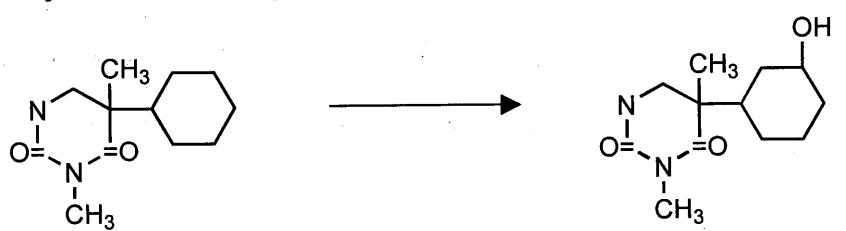
Các phản ứng oxy hóa các chất hóa học (xenobiotic) hoặc thuốc của gan được thực hiện bởi các enzym cytochrom P-450, *flavin monooxygenase*, *amino oxidase* hoặc các *dehydrogenase*.

- Oxy hóa carbon mạch thẳng.

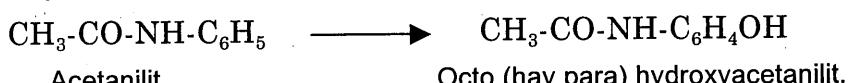
Ví dụ alcol ethylic bị oxy hóa dưới tác dụng của alcol *dehydrogenase* thành aldehyd acetic rồi acid acetic.



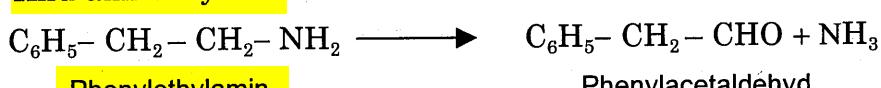
- Oxy hóa carbon mạch vòng.



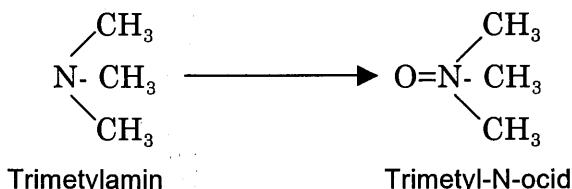
- Oxy hóa các hydrocarbon thơm.



- **Khử amin oxy hóa.**

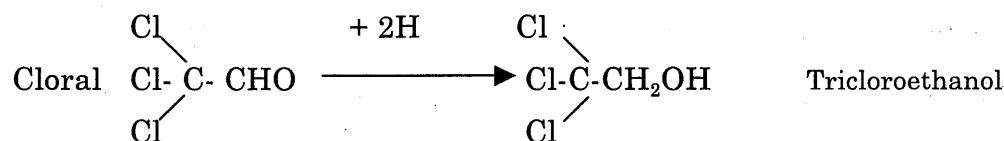


- N-oxihóá.

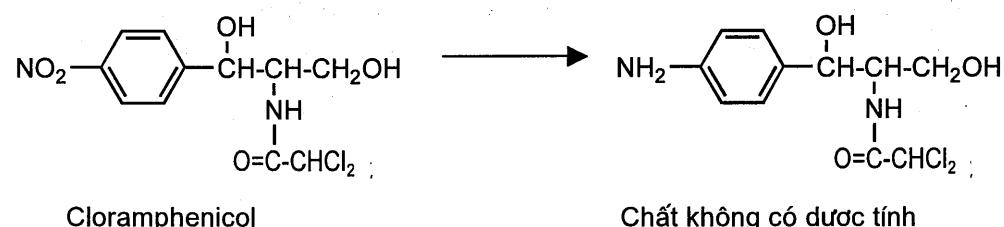


4.2.2. Phản ứng khử

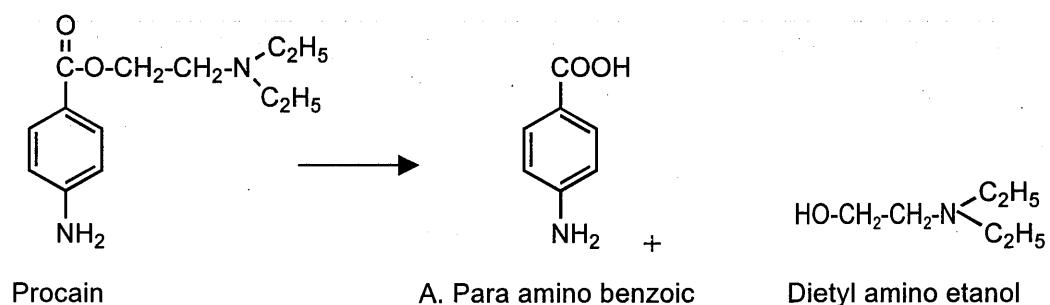
- Khử aldehyd và ceton, ví dụ cloral bị khử oxy thành trichloroethanol.



- Khử nhóm nitro (+ 2H):

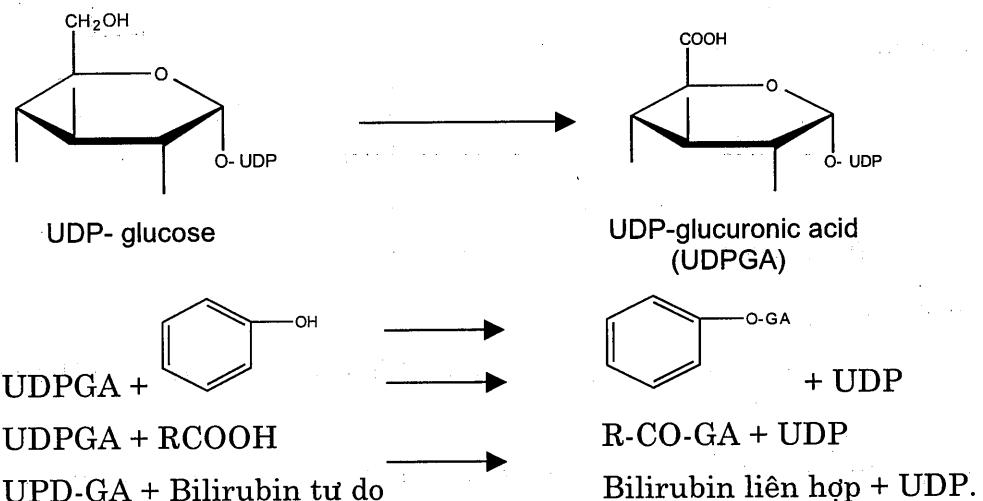


4.2.3. Phản ứng thuỷ phân (+ H₂O)



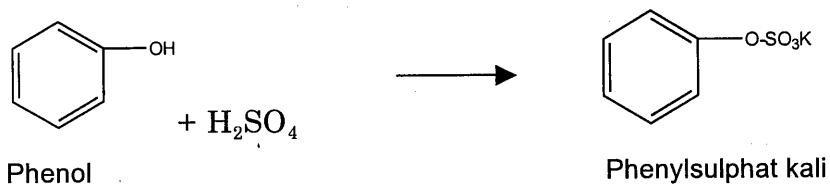
4.2.4. Phản ứng liên hợp

- Liên hợp với acid glucuronic: bilirubin tự do, phenol, các dẫn xuất phenol, alcol thơm, tecpen, acid béo, alcaloit, steroid, ... được đào thải bằng cách liên hợp với acid glucuronic. Sự liên hợp được thực hiện qua các liên kết osid giữa nhóm OH bán acetal của glucuronic với nhóm phenol, alcol hoặc nhóm carboxyl. Các sản phẩm liên hợp thường ở dạng không độc, dễ hòa tan, dễ đào thải theo đường mật hoặc theo nước tiểu.



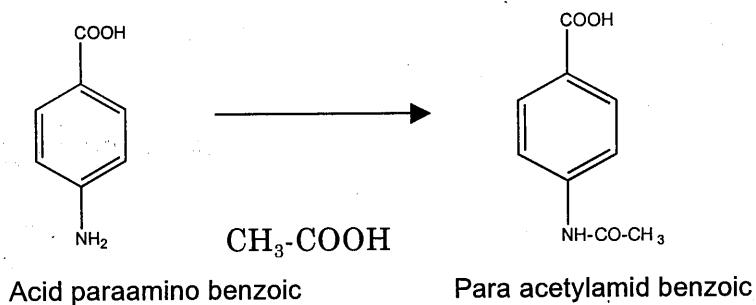
– Liên hợp với acid sulfuric.

Indol, phenol và các dẫn xuất tạo ra trong quá trình thối rữa ở ruột, được hấp thu một phần và được khử độc ở gan bằng cách liên hợp với acid sulfuric. Các hormon steroid và dẫn xuất cũng được thải dưới dạng liên hợp với acid sulfuric.



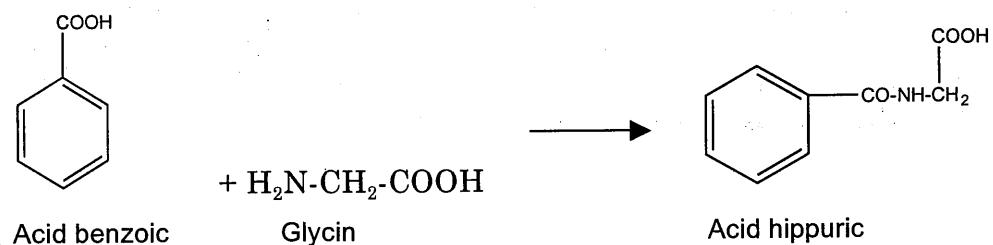
– Liên hợp với acid acetic.

Đây là cách đào thải các acid meta-, paraaminobenzoic, sulfamid,...



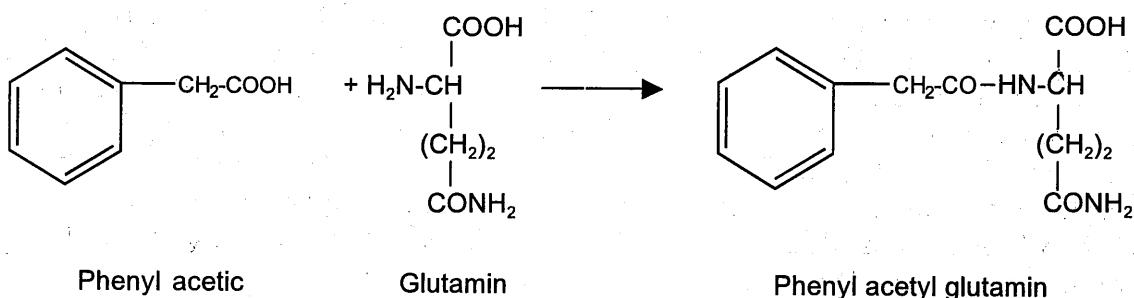
– Phản ứng liên hợp với glycine.

Các acid thơm và các acid dị vòng được liên hợp theo cách này.



- Phản ứng liên hợp với glutamin.

Ví dụ acid phenyl acetic liên hợp với glutamin để đào thải dưới dạng phenyl-acetyl-glutamin.



Các phản ứng khử độc của gan ở trên được thực hiện nhờ hai hệ thống enzym chính.

- Hệ thống enzym oxidase: hệ thống enzym này có chức năng hồn hợp và là hệ thống enzym ở lưỡi nội bào tròn cần có sự tham gia của hệ thống cytocrom P450 (xem phần chuyển hóa các chất xenobiotic)

- Hệ thống các enzym xúc tác phản ứng liên hợp.

Nhiều chất nội sinh và ngoại sinh làm tăng sinh các enzym thuộc hai hệ thống trên (hiện tượng cảm ứng tổng hợp enzym). Người ta đã biết tới hàng trăm chất có tác dụng như vậy và vì vậy chúng làm tăng nhanh phản ứng chuyển hóa của gan đối với nhiều chất hóa học khác. Đây là hiện tượng được chú ý trong công tác điều trị khi có sự sử dụng phối hợp các thuốc.

5. MỘT SỐ XÉT NGHIỆM HÓA SINH VỀ GAN

Bệnh lý về gan có thể gây tổn thương tế bào gan (viêm gan do virus, ung thư gan, ngộ độc thuốc, hóa chất,...), gây tình trạng ứ mật hoặc gây suy giảm chức năng tế bào gan (xơ gan, suy gan, ...), gây tắc mật (viêm gan, sỏi mật,...). Một số bệnh có sự kết hợp cả tổn thương tế bào gan, ứ mật và suy giảm chức năng gan. Tuỳ loại bệnh, giai đoạn bệnh mà mức độ tổn thương, ứ mật hoặc suy giảm chức năng gan sẽ biểu hiện rõ hơn. Phần này trình bày về giá trị một số xét nghiệm hóa sinh thường dùng trong lâm sàng nhằm đánh giá tổn thương hoặc suy giảm chức năng tế bào gan và tuỳ loại bệnh lý gan cụ thể mà người thầy thuốc yêu cầu loại xét nghiệm cần làm để giúp cho chẩn đoán hoặc theo dõi tiến triển điều trị.

5.1. Các xét nghiệm đánh giá tổn thương huỷ hoại tế bào gan

5.1.1. Aminotransferase (Transaminase) huyết thanh

Aspartat-aminotransferase (AST) hay *glutamat oxaloacetat transaminase (GOT)* và *alanin-aminotransferase (ALT)* hay *glutamat pyruvat transaminase (GPT)* là 2 enzym được sử dụng rộng rãi trong đánh giá sự tổn thương của tế

bào gan. AST được phân bố rộng rãi trong các mô của cơ thể, có nhiều ở gan, tim, cơ xương. Hoạt độ AST bình thường trong huyết tương đo ở 37°C, ở nam là 10-50 U/L và ở nữ là 10-35 U/L.

ALT có mặt trước hết ở gan và ít hơn ở thận, cơ xương. Hoạt độ ALT bình thường trong huyết tương ở nam là 10-50 U/L và ở nữ là 10-35 U/L. Trong viêm gan virus cả ALT và AST huyết thanh đều tăng nhưng ALT tăng nhiều hơn có thể cao hơn hàng trăm lần so với bình thường. Theo dõi viêm gan cấp, nếu enzym huyết thanh tăng kéo dài hơn 7 -8 tuần có thể bệnh chuyển thành mạn tính hoặc xơ gan. Các loại tổn thương gan do các nguyên nhân khác (nhiễm độc rượu cấp có mê sảng, halothan, CCl₄, ...). Ngoài ra các tổn thương bệnh lý khác ở gan đều có tăng ALT, AST huyết thanh ở các mức độ khác nhau: tắc mật, ung thư gan, ..

5.1.2. γ glutamyltransferase (GGT) huyết thanh

γ GT là enzym gắn ở màng tế bào có nồng độ cao trong thận, tuy và gan. Hoạt độ γ GT bình thường trong huyết tương đo ở 37°C ở nam là 9-40 U/L và ở nữ là 9-35 U/L. Đo hoạt độ enzym này cung cấp thông tin có ích về bệnh gan mật, mặc dù nó không có giá trị chẩn đoán phân biệt giữa tắc mật và bệnh tế bào gan. Trong tắc mật γ GT có thể tăng trước ALP. Hầu hết bệnh nhân gan-mật có hoạt độ của enzym này trong huyết thanh tăng cao. Khi tổn thương gan do nhiễm độc cấp bởi các nguyên nhân khác nhau, γ GT huyết thanh tăng cao (nhiễm độc rượu, CCL4, halothan...). Hoạt độ enzym tăng cao nhất trong tắc đường mật. Đo lường hoạt độ của enzym cũng được áp dụng trong những trường hợp không vàng da để chẩn đoán ung thư gan và được coi như một xét nghiệm để chẩn đoán bệnh lý gan ở bệnh nhân có tăng hoạt độ phosphatase kiềm. γ GT còn tăng trong các bệnh về tuy, nhiễm trùng cấp.

5.1.3. Lactat dehydrogenase (LDH) huyết thanh

Hoạt độ LDH bình thường trong huyết thanh đo ở 37°C ở nam là 135-225 U/L và ở nữ là 134- 215 U/L. Enzym này có mặt ở bào tương của tất cả các tế bào và được giải phóng vào huyết thanh từ thương tổn của nhiều tổ chức khác nhau, hay nói cách khác enzym này tăng cao trong huyết thanh không phản ánh đặc hiệu cho tổn thương cơ quan nào. Tuy nhiên việc phân tích các isozym LDH huyết thanh có thể cho những thông tin có giá trị hơn về bệnh lý mô sản sinh các isozym. LDH₅ có nhiều nhất ở gan, cơ xương, do vậy sự tăng nhẹ isozym này trong huyết thanh thường gặp trong vàng da, bệnh đường mật. Sự tăng vừa phải hoạt độ enzym gấp phổ biến trong viêm gan cấp do virus và xơ gan. Hoạt độ enzym tăng cao trong huyết thanh, đặc biệt isozym LDH₅ trong ung thư gan nguyên phát hoặc thứ phát.

5.1.4. Glutamat dehydrogenase (GLDH) huyết thanh

Hoạt độ GLDH bình thường trong huyết tương đo ở 37°C ở nam là 9-40 U/L và ở nữ là 9-35 U/L. Là enzym có nhiều ở ty thể tế bào gan, tim, thận. Khi mức độ tổn thương gan nhẹ (viêm gan cấp những tuần đầu) hoặc tổn thương ít

ở giai đoạn viêm gan mạn, xơ gan,... GLDH tăng nhẹ. Khi tổn thương gan nặng, mức độ tổn thương sâu, GLDH tăng cao trong huyết tương.

5.2. Các xét nghiệm đánh giá tình trạng ứ mật

5.2.1. Phosphatase kiềm (ALP = alkaline phosphatase) huyết thanh

Hoạt độ ALP bình thường trong huyết tương ở nam và ở nữ là 30-90 U/L.

Hoạt độ ALP huyết thanh có thể tăng trong một số tình trạng sinh lý bình thường: phụ nữ có thai (3 tháng cuối của thai kỳ), trẻ em đang lớn.

ALP có nguồn gốc chủ yếu ở xương (tạo cốt bào), phần nhỏ hơn ở microsom gan và vì vậy ALP được sử dụng nhiều nhất trong chẩn đoán lâm sàng bệnh gan và bệnh xương.. Hoạt độ ALP tăng nhẹ đến tăng trung bình ở những bệnh nhân bị rối loạn chức năng tế bào gan như viêm gan, xơ gan; tăng nhất thời trong tất cả các loại bệnh gan. Sự tăng mạnh của hoạt độ ALP xảy ra trong tắc mật ngoài gan như sỏi đường dẫn mật chung, tắc mật trong gan như tắc mật do thuốc hoặc xơ đường mật nguyên phát. Enzym này luôn luôn tăng trong bệnh gan di căn.

Ngoài bệnh gan, ALP còn tăng trong các bệnh lý về xương (ví dụ Bệnh Paget – u di căn xương) và các bệnh khác liên quan đến sự tăng hoạt tính của tạo cốt bào đều dẫn đến tăng hoạt độ ALP huyết thanh dù không có bệnh lý gan. Enzym này được tìm thấy trong nhau thai và hoạt tính tăng ở phụ nữ mang thai.

5.2.2. Các xét nghiệm về bilirubin huyết thanh

Nồng độ bilirubin liên hợp và bilirubin tự do huyết thanh là những thông số có giá trị trong chẩn đoán vàng da và bệnh gan có tắc mật. Nồng độ bilirubin huyết tương là kết quả của sự cân bằng giữa quá trình sản sinh bilirubin từ thoái hóa hemoglobin và khả năng thanh lọc của gan đối với bilirubin huyết tương. Nồng độ trung bình của bilirubin toàn phần huyết tương ở người trưởng thành có biểu hiện bên ngoài khỏe mạnh < 1 mg/dL, trong đó bilirubin tự do < 0,8 mg/dL và bilirubin liên hợp < 0,2 mg/dL. Khi nồng độ bilirubin toàn phần tăng trên mức nghi ngờ, điều quan trọng là định rõ nồng độ của bilirubin tự do và bilirubin liên hợp, mỗi kết quả định lượng này rất hữu ích cho việc phân loại sự tăng bilirubin huyết tương. Sự tăng bilirubin liên hợp xảy ra khi trên 50% bilirubin toàn phần là bilirubin liên hợp và sự tăng bilirubin tự do, xảy ra khi trên 80% của bilirubin toàn phần là bilirubin tự do. Khi một dạng của bilirubin nổi trội thì tiền sử của bệnh nhân cùng những phát hiện về sinh lý học và các xét nghiệm khác sẽ giúp tìm ra nguyên nhân đặc trưng của tình trạng bệnh lý này.

Một xét nghiệm khác cũng thường được dùng là *Alpha-foetoprotein* (AFP) không phản ánh tổn thương gan hoặc suy giảm chức năng gan mà thường dùng giúp chẩn đoán ung thư gan nguyên phát. AFP là một glucoprotein có ở bào thai và biến mất sau khi sinh 4 tuần do gan ngừng tổng hợp. Ở người

trưởng thành khỏe mạnh AFP huyết thanh không còn hoặc có rất ít. AFP tăng rất cao hàng trăm lần so với bình thường ở ung thư gan nguyên phát, tăng ít hơn ở ung thư gan thứ phát, viêm gan virus cấp, viêm gan mạn.

5.3. Các xét nghiệm thăm dò, đánh giá chức năng gan

5.3.1. *Nghiệm pháp bài tiết BSP*

Nghiệm pháp căn cứ vào khả năng giữ chất màu huyết tương của gan và thải vào mật. Khi ta tiêm vào cơ thể một lượng chất màu Bromosulfophthalein (BSP) nhất định sau một thời gian lượng BSP sẽ giảm dần trong máu. Thời gian này dài hay ngắn tuỳ theo tình trạng chức năng của gan đối với việc đào thải BSP vào mật. Khi gan bị tổn thương suy giảm chức năng thì khả năng này bị giảm đi.

Tiêm vào tĩnh mạch bệnh nhân chất màu BSP liều 5 mg/kg cân nặng của cơ thể. 45 phút sau khi tiêm sẽ lấy máu và đo lường số lượng chất màu còn lại trong máu, chức năng gan bình thường nếu gan bài tiết được 95% lượng chất màu trong 45 phút. Mức độ còn lại của BSP trong máu sau 45 phút ($> 5\%$) tỷ lệ thuận với mức độ suy giảm chức năng gan.

5.3.2. *Albumin huyết thanh*

Nồng độ albumin huyết thanh bình thường dao động từ 35 g/L- 50 g/L, chiếm 53% - 65% protein toàn phần huyết thanh. Albumin là protein có ý nghĩa nhất để định tính khả năng tổng hợp chất của gan. Trạng thái dinh dưỡng của bệnh nhân có tầm quan trọng lớn, bởi vì sự tổng hợp albumin phụ thuộc vào số lượng acid amin từ thực đơn, đặc biệt là tryptophan. Hoạt động cân bằng của hormon, áp lực thẩm thấu, chức năng thận cũng ảnh hưởng đến nồng độ albumin huyết thanh. Khi gan bị bệnh, nồng độ albumin huyết thanh sẽ giảm và sự giảm này không xảy ra ngay vì thời gian bán huỷ của albumin xấp xỉ 20 ngày, do vậy sự suy giảm tổng hợp albumin sẽ được phát hiện sau khoảng 3 tuần lễ. Ý nghĩa của việc định lượng albumin huyết thanh là đánh giá bệnh gan mạn tính hơn là tình trạng cấp tính. Nếu nồng độ albumin huyết thanh giảm có nghĩa là gan đã bị giảm chức năng trong thời gian dài trước đó. Bởi vậy, khi nồng độ albumin huyết thanh bình thường chưa thể loại bỏ bệnh lý gan và trạng thái bệnh lý gan cấp tính có thể đang tồn tại.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Kể tên các acid mêt, muối mêt và vai trò của mêt trong tiêu hóa lipid ở ruột.
2. Vì sao nói gan là cơ quan duy nhất (không kể các tuyến nội tiết) tham gia vào điều hoà glucose máu.

3. Ý nghĩa của việc tạo thể cetonic máu và vai trò tham gia của gan như thế nào. Gan có vai trò gì trong điều hòa các dạng lipoprotein máu.
4. Vai trò của gan đối với cơ thể trong chuyển hóa protein.
5. Những cách khử độc của gan, cho ví dụ bằng các phản ứng hóa học cụ thể.
6. Phân tích giá trị các xét nghiệm hóa sinh đánh giá tổn thương và suy giảm chức năng gan thường được sử dụng.

Chương 18

HÓA SINH THẬN VÀ NƯỚC TIỂU

MỤC TIÊU

1. Trình bày được chức năng bài tiết của thận.
2. Trình bày được vai trò của thận trong thăng bằng acid-base.
3. Trình bày được các chất bất thường trong nước tiểu.

1. THẬN

Hai thận của người trưởng thành nặng khoảng 300g, chiếm 0,5% khối lượng cơ thể. Hoạt động của thận mạnh, sử dụng 8 - 10% oxy của cơ thể. Hàng ngày khoảng 1.000 - 1.500 lít máu qua thận, 10% số đó làm nhiệm vụ cung cấp chất dinh dưỡng cho thận, 90% làm nhiệm vụ bài tiết. Thận có các chức năng:

- Bài tiết các chất cặn bã bằng cơ chế lọc và tái hấp thu.
- Tham gia điều hoà thăng bằng acid - base nhờ cơ chế bài tiết ion hydro.
- Tham gia chuyển hóa các chất và tổng hợp một số chất như acid hyppuric, urocrom.
- Chức phận nội tiết.

1.1. Chức phận bài tiết

Sự bài tiết nước tiểu xảy ra ở đơn vị chức năng của thận là nephron. Mỗi thận có khoảng 1 triệu nephron. Mỗi nephron gồm một bó bao mạch được bọc bởi bao Bowman, ống thận (bao gồm ống lượn gần, quai Helle, ống lượn xa, ống góp). Sự bài tiết nước tiểu nhờ hai quá trình siêu lọc và tái hấp thu. Siêu lọc là giai đoạn đầu của quá trình tạo thành nước tiểu. Hàng ngày có tới 180 lít nước tiểu ban đầu được hình thành. Sự lọc của cầu thận nhờ áp lực hiệu dụng (Pf).

$$Pf = Pg \cdot (Po + Pc)$$

Pg: áp suất thuỷ tĩnh trong cầu thận (chính là áp suất của mao động mạch có tác dụng đẩy nước vào bao Bowman).

Po: áp suất keo của huyết tương (có tác dụng hút nước từ bao Bowman vào mao mạch).

Pc: áp suất thuỷ tĩnh trong bao Bowman (đối lập với sự hút nước từ bao Bowman vào trong mạch).

Bình thường Pg = 50 mmHg, Po = 25mmHg, Pc = 5 mmHg.

Pf = 20mmHg.

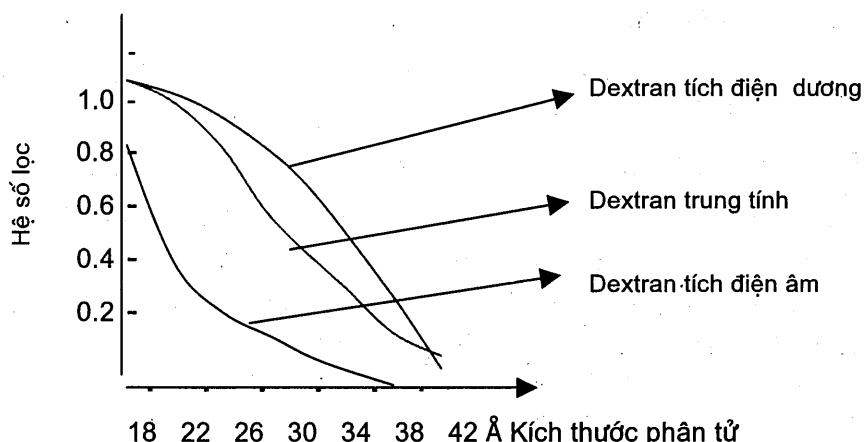
Ở người huyết áp hạ 60 - 70 mmHg, Pg = 1/2 huyết áp = 30 - 35 mmHg sẽ dẫn đến tình trạng vô niệu.

1.1.1. Sự lọc của cầu thận

Mao mạch cầu thận cho nước và các chất có phân tử nhỏ trong máu qua lại dễ dàng và như một màng chắn các phân tử lớn. Các phân tử lớn như các protein TLPT 70.000 không qua được. Vì vậy nước tiểu ban đầu (nước tiểu ở trong bao Bowman, nồng độ các chất như trong huyết tương trừ protein). Bằng việc đo độ thanh thải (clearance), bằng các nghiên cứu siêu cấu trúc với kỹ thuật tự chụp phóng xạ, miễn dịch hóa học, người ta đã nhận biết rõ ràng các yếu tố khác nhau ảnh hưởng tới quá trình siêu lọc của các chất có phân tử lớn như protein.

1.1.1.1. Kích thước của phân tử được lọc

Một bằng chứng rõ ràng và đã xưa cũ là sự lọc khác biệt giữa hemoglobin (Hb có TLPT 70.000) và albumin (TLPT 68000). Khi tiêm tĩnh mạch Hb, Hb nhanh chóng được đào thải ra nước tiểu, trong khi đó Alb nhỏ hơn Hb, không bị đào thải. Một thí nghiệm khác dựa trên hệ số lọc (coefficient de tamisage) của inulin =1, người ta đồng thời xác định hệ số lọc của dextran (đường kính 20 Å) có hệ số lọc =1 và các dextran có kích thước lớn dần (từ 20-42 Å), với ba loại dextran tích điện dương, dextran tích điện âm và dextran trung tính, kết quả thu được như hình 18.1, clearance giảm dần, với dextran đường kính 42 Å có hệ số lọc gần bằng 0.



Hình 18.1. Hệ số lọc của các dextran tích điện dương, âm và trung tính theo kích thước của chúng

1.1.1.2. Tình trạng huyết động cục bộ hay lưu lượng máu

Sự vận chuyển những phân tử lớn qua màng cầu thận liên quan tới sự thẩm thấu, chức năng này không chỉ phụ thuộc vào kích thước của phân tử mà còn phụ thuộc vào quá trình lọc, nghĩa là phụ thuộc vào lưu lượng máu cầu thận, gradient áp suất chuyển màng, nồng độ protein trong máu cũng như hệ số siêu lọc của mạch cầu thận. Lưu lượng máu là thể tích máu qua thận tính theo thời gian. Ở người lớn lượng máu qua thận khoảng 120ml/phút. Lưu lượng máu qua thận lớn gấp 8 lần qua mạch vành tim và gấp 400 lần lưu lượng máu ở cơ xương khi nghỉ. Sự phân bố lưu lượng máu qua thận không đồng đều, vùng vỏ lớn hơn vùng tuỷ. Lưu lượng máu qua thận lớn nghĩa là áp suất của máu trên thành mao mạch lớn. Sự tăng lưu lượng máu của cầu thận cũng làm giảm clearance của các phân tử lớn trung tính và sự giảm của lưu lượng thì có kết quả ngược lại. Khi truyền angiotensin II vào chuột gây sự giảm lưu lượng máu và nhận thấy sự tăng độ thanh thải của albumin, hậu quả gây protein niệu. Điều này cũng giải thích trường hợp protein niệu do tăng huyết áp.

1.1.1.3. Suy tính điện của phân tử protein

Người ta tính được hệ số lọc của albumin là 0,0375 trong khi hệ số lọc của dextran trung tính có cùng kích thước (35 Å) là 0,24. Ở pH sinh học, albumin như một polyanion, người ta cũng nhận thấy hệ số lọc của albumin gần giống với hệ số lọc của dextran sulfat (cũng là anion) có cùng kích thước (dextran tích điện âm). So sánh hệ số lọc của dextran trung tính và hệ số lọc của dextran sulfat, Chang (1975) đã đưa ra các giá trị về hệ số lọc của dextran trung tính và dextran sulfat (hình 18.1). Hệ số lọc giảm dần theo sự tăng của kích thước phân tử, tuy nhiên với cùng kích thước phân tử hệ số lọc của dextran sulfat thấp hơn. Đối với diethylaminoethyl dextran (dextran điện tích dương) hệ số lọc cao hơn cả dextran trung tính có cùng kích thước. Những kết quả trên củng cố cho giả thiết thành mao mạch cầu thận được coi là hàng rào tĩnh điện.

Màng mạch cầu thận được cấu tạo bởi 3 lớp

- Lớp nội mạc (endothelium): lớp tiếp giáp với mao mạch, ở đây có những cửa sổ đường kính 500-1000 Å.
- Màng cơ bản (là lớp giữa, gồm 3 lớp dày khoảng 3200 Å).
- Màng biểu mô (epithelium) tiếp giáp với bao Bowman là những tế bào cao 350 - 500nm, có những khe trống khoảng 250 -500 Å.

Các nghiên cứu siêu cấu trúc đã chỉ ra rằng các phân tử lớn đi qua các cửa sổ của lớp nội mạc (endothelium), qua lớp màng cơ bản, qua các khe của lớp biểu mô (epithelium). Sự lọc cầu thận bị cản trở ở màng cơ bản và khe lọc. Trên bề mặt và trong lớp màng cơ bản có những điện tích âm thuộc hai loại: các glycoprotein chứa nhiều gốc acid sialic và nhất là các proteoglycan có nhiều nhóm sulfat mà cụ thể là heparin sulfat glycosaminoglycan là thành phần mang điện tích âm chính trong màng cơ bản, còn những tế bào nội mô và

biểu mô được phủ đầy những mucoprotein giàu acid sialic. Người ta cũng thấy những cation được gắn trên những polyanion của màng cơ bản cầu thận và tế bào nội mô. Như vậy cùng với những kết quả nghiên cứu ở hình 18.1, chính lớp polyanion là lực cản rất lớn đối với các protein mang điện tích âm.

1.1.1.4. Vai trò của hình dáng phân tử

Những phân tử có hình dáng khác nhau cũng được vận chuyển qua mao mạch cầu thận khác nhau. Những phân tử có cấu trúc mềm dẻo trong dung dịch, sự lọc qua mao mạch cầu thận dễ dàng hơn.

1.1.2. Sự tái hấp thu ở ống thận

Ống thận được cấu tạo bởi một lớp tế bào có cấu tạo như nhung mao. Các chất được tái hấp thu ở ống thận rất khác nhau

1.1.2.1. Chất không được tái hấp thu

Một số chất được đào thải qua cầu thận nhưng không được tái hấp thu ở ống thận như inulin, mannitol, natri hyposulfit. Vì vậy độ thanh thải của các chất này để đánh giá mức độ tổn thương của cầu thận.

1.1.2.2. Tái hấp thu hoàn toàn (glucose)

Trong điều kiện bình thường glucose được lọc qua cầu thận với tốc độ 150g/24h và hầu như được tái hấp thu hoàn toàn nên trong nước tiểu chỉ có 6mg/24h. Quá trình tái hấp thu ở ống lượn là quá trình vận chuyển tích cực cần năng lượng là ATP và nhờ chất đồng vận chuyển (co-transport), sự vận chuyển này kèm theo sự hấp thu natri. Khi vận chuyển, glucose không bị phosphoryl hóa, chuỗi carbon cũng không bị thay đổi khi qua màng. Vị trí đặc hiệu của sự tái hấp thu nhạy cảm với chất ức chế cạnh tranh như D-galactose, D mannose, ploridin.

1.1.2.3. Tái hấp thu 99% (nước)

Nước được tái hấp thu ở ống lượn gần, ống lượn xa, quai Helle và ống福音. Ở ống lượn gần nước được tái hấp thu 80%, sự tái hấp thu nước ở đây được gọi là sự tái hấp thu “bắt buộc”, nước được tái hấp thu cùng với natri. Sự tái hấp thu natri, clo và nước ở đây là tương đương làm cho nước tiểu không bị cô đặc hoặc hoà loãng. Ở quai Helle và ống lượn xa 90% lượng nước còn lại được tái hấp thu, phụ thuộc vào ADH, một hormon chống bài niệu. Hormon này được cố định trên chất nhận đặc biệt của màng ống thận.

1.1.2.4. Tái hấp thu phần lớn (Na^+ , Cl^- , urê)

Sự tái hấp thu natri rất phức tạp, ở ống lược gần 70% muối được tái hấp thu. Sự hấp thu thay đổi ngược chiều với áp lực động mạch thận. Lượng máu đến thận phân bố không đều giữa vùng vỏ nông (nephron mất muối) và vùng vỏ sâu (áp lực động mạch thận thấp hơn) ở đây hấp thu muối nhiều hơn. Yếu tố chính gây sự tái hấp thu là áp suất thẩm thấu và áp lực thuỷ tĩnh trong

mao mạch ống thận. Sự giảm của dòng máu qua thận (hạ huyết áp, giảm thể tích máu) thì sự tái hấp thu ở ống lượn gần lại tăng để hạ thấp lượng natri đào thải ra nước tiểu và ngược lại. Ở ống lượn gần lượng Na^+ được tái hấp thu là 16.800 mEq/ 24h. Ở ống lượn xa khoảng hơn 10% natri được tái hấp thu, chịu ảnh hưởng của renin, angiotensin II và aldosteron.

Sự tái hấp thu natri ở ống lượn là quá trình tích cực đòi hỏi năng lượng lớn tương đương với sự tiêu thụ 24g glucose/ 24h, nghĩa là chiếm 90% sự tiêu thụ oxy của thận.

Cl^- được tái hấp thu thụ động song song với Na^+

Ở quai Helle, sự tái hấp thu Na^+ là thụ động theo gradient điện thế gây ra bởi Cl^- .

Ở ống góp cũng có sự tái hấp thu Na^+ và cũng chịu ảnh hưởng của aldosteron. Cuối cùng thì lượng natri còn lại trong nước tiểu là 100 - 150 mEq/ 24h.

Urê được tái hấp thu đến 40 - 50%, urê tái hấp thu thụ động hoàn toàn phụ thuộc vào nồng độ urê trong máu.

1.1.2.5. Chất được bài tiết ở cầu thận, ống thận và tái hấp thu ở ống thận

Acid uric được cầu thận lọc khoảng 6 mg/ phút, ống thận bài tiết khoảng 6mg/ phút. Ở ống thận 95 - 98% lượng đó được tái hấp thu, lượng acid uric đào thải khoảng 0,33mg/phút tương đương 600 mg/ 24h.

Creatinin được lọc qua cầu thận và cũng được tái hấp thu ở ống thận. Hàm lượng creatinin được coi như một dấu hiệu để theo dõi chức năng thận.

1.1.2.6. Tái hấp thu protein

Thận tái hấp thu phần lớn những protein đã được lọc qua cầu thận. 99% albumin lọc qua cầu thận được tái hấp thu ở ống lượn gần. Đối với các protein có TLPT nhỏ (các chuỗi nhẹ lamda, kappa, lysozym, $\beta 2$ -microglobulin, hormon) cũng được tái hấp thu hầu hết ở ống lượn gần nên đào thải ra nước tiểu một lượng không đáng kể. Các protein được liên kết với diêm bàn chải, được thẩm vào không bào, hòa vào trong lysosom, tại đó protein bị các hydrolase của lysosom thuỷ phân và các sản phẩm thuỷ phân này trở lại máu. Quá trình thuỷ phân diễn ra từ vài phút đến vài giờ. Hậu quả chuyển hóa của sự tái hấp thu thay đổi theo loại protein. Đối với albumin và protein có TLPT lớn sự lọc của cầu thận rất ít, nếu cắt bỏ hoàn toàn hai thận (thí nghiệm trên chuột) thời gian bán huỷ các protein này hầu như không thay đổi. Ngược lại đối với các protein trọng lượng phân tử nhỏ sự lọc qua cầu thận dễ dàng, nếu cắt bỏ hoàn toàn hai thận (cũng thí nghiệm trên chuột) nhận thấy sự tăng rõ rệt thời gian bán huỷ của các protein này.

Nhờ quá trình tái hấp thu ở ống thận mà trong nước tiểu người bình thường khỏe mạnh lượng protein rất thấp. Các xét nghiệm thông thường không phát hiện được và được coi là không có protein.

1.2. Chức phận chuyển hóa

Chuyển hóa chất xảy ra ở thận rất mạnh nhằm cung cấp năng lượng cho thận hoạt động (bằng chứng là thận sử dụng 10% oxy của toàn cơ thể).

– Trong thận chuyển hóa glucid chiếm ưu thế, chu trình pentose xảy ra không mạnh, chủ yếu là con đường đường phân. Các dẫn suất phosphoryl như hexose phosphat, triose phosphat dễ dàng được khử phosphat nhờ các phosphatase ở thận, acid phosphoric được bài xuất.

– Với chuyển hóa lipid, các lecithin được khử phosphat nhờ glycerophosphatase, các chất cetonic được thoái hóa hoàn toàn.

– Với chuyển hóa protein, thận có nhiều hệ thống enzym khử amin, một số enzym khử amino acid dạng D (dạng không có trong tự nhiên) và các enzym khử amino acid dạng L, tạo ra các acid cetonic, giải phóng NH_3 dưới dạng NH_4^+ ở thận. Cũng như gan, thận cũng có quá trình khử nước của creatin tạo thành creatinin và ngưng tụ acid benzoic với glycine để tạo thành acid hyppuric.

1.3. Vai trò của thận trong thăng bằng acid - base

Thận điều hoà thăng bằng acid - base bằng cách tái hấp thu bicarbonat, giữ lại Na^+ bài tiết H^+ và đào thải các acid không bay hơi như acid lactic, thể ceton, acid sulfuric sản phẩm của chuyển hóa protid, acid phosphoric sản phẩm của chuyển hóa các phospholipid. Các acid này kết hợp với các cation mà chủ yếu là Na^+ . Các cation này sẽ tái hấp thu ở tế bào ống thận thế chỗ cho ion H^+ đào thải ra ngoài.

Có 3 cơ chế chính điều hoà thăng bằng acid - base nhằm duy trì lượng bicarbonat có trong khu vực ngoài tế bào.

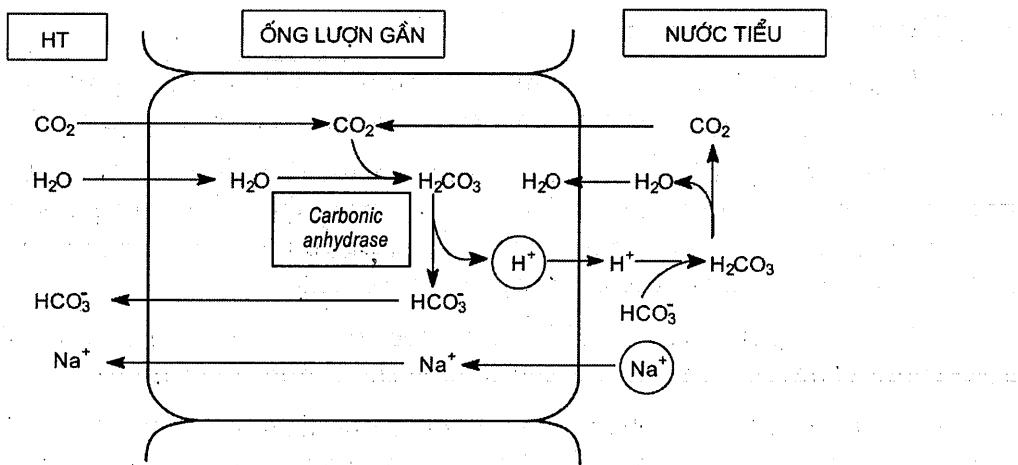
1.3.1. Thận tái hấp thu bicarbonat

Gần 90% bicarbonat được tái hấp thu ở ống lượn gần. Trong tế bào ống thận CO_2 và H_2O được tạo thành trong các quá trình chuyển hóa, được chuyển thành H_2CO_3 dưới tác dụng của carbonic anhydrase. H_2CO_3 phân ly thành H^+ và HCO_3^- . Ion H^+ được bài tiết ra khỏi tế bào ống thận, HCO_3^- cùng với Na^+ được tái hấp thu trở lại máu. (hình 18. 2)

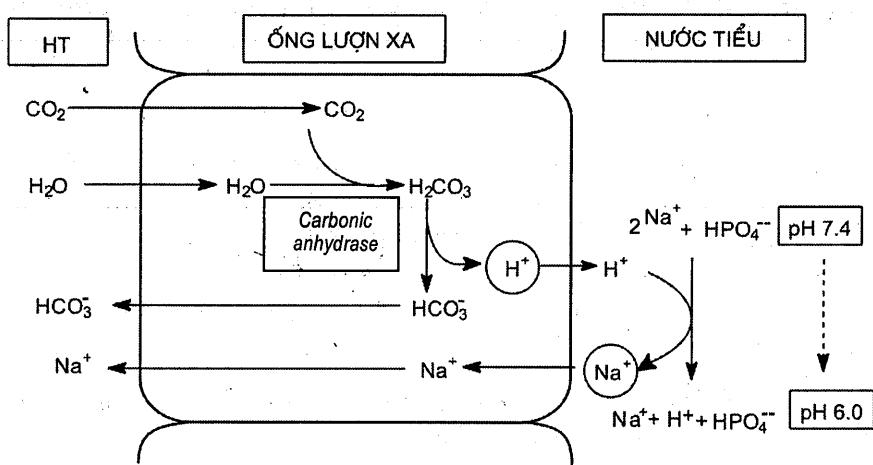
1.3.2. Thận đào thải ion H^+ dưới dạng muối acid và acid không bay hơi

Ở ống lượn xa ion H^+ cũng được đào thải thế chỗ cho Na^+ đã được tái hấp thu cùng với HCO_3^- , Na^+ từ các muối phosphat dinatri chuyển thành muối phosphat mononatri, pH của nước tiểu cũng giảm (hình 18.3).

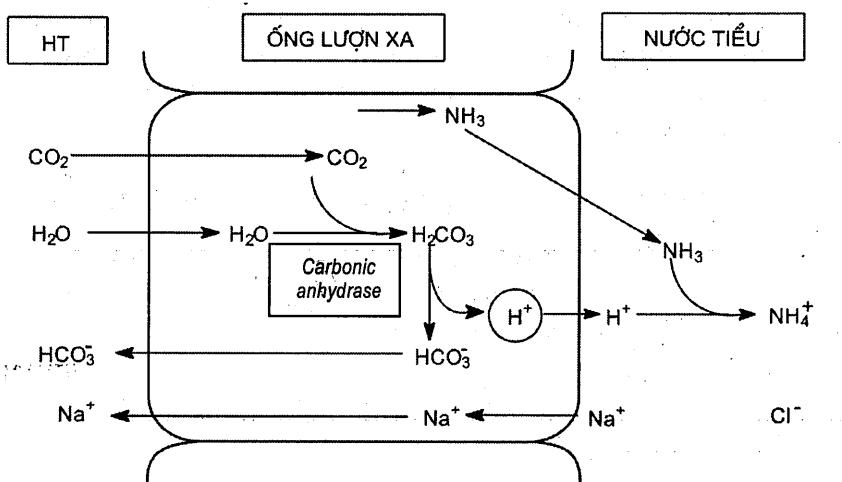
Thận đào thải các acid không bay hơi như acid lactic, thể ceton, acid sulfuric sản phẩm của chuyển hóa protid, acid phosphoric sản phẩm của chuyển hóa các phospholipid.



Hình 18.2. Sự tái hấp thu bicarbonat



Hình 18.3. Sự đào thải ion H^+



Hình 18.4. Sự đào thải H^+ dưới dạng muối amon

1.3.3. Thận đào thải ion H⁺ dưới dạng muối amon

Một cơ chế nữa cũng xảy ra ở ống lượn xa là tế bào ống thận bài tiết ion H⁺ dưới dạng muối amon. Ở tế bào ống lượn xa, amonic được tạo ra chủ yếu do thuỷ phân glutamin dưới tác dụng của *glutaminase*. Amoniac khuếch tán thụ động ra nước tiểu cùng với H⁺ đào thải dưới dạng muối amon (hình 18.4). Hàng ngày có khoảng 30 - 50mEq ion H⁺ được đào thải dưới dạng muối amon và khoảng 10 - 30 mEq dưới dạng các muối acid khác.

1.4. Chức phận nội tiết

Thận còn có vai trò điều hòa hằng định nội môi, thăng bằng nước, điện giải, và huyết áp thông qua hệ thống Renin - angiotensin - aldosteron.

1.4.1. Hệ thống Renin - angiotensin - aldosteron

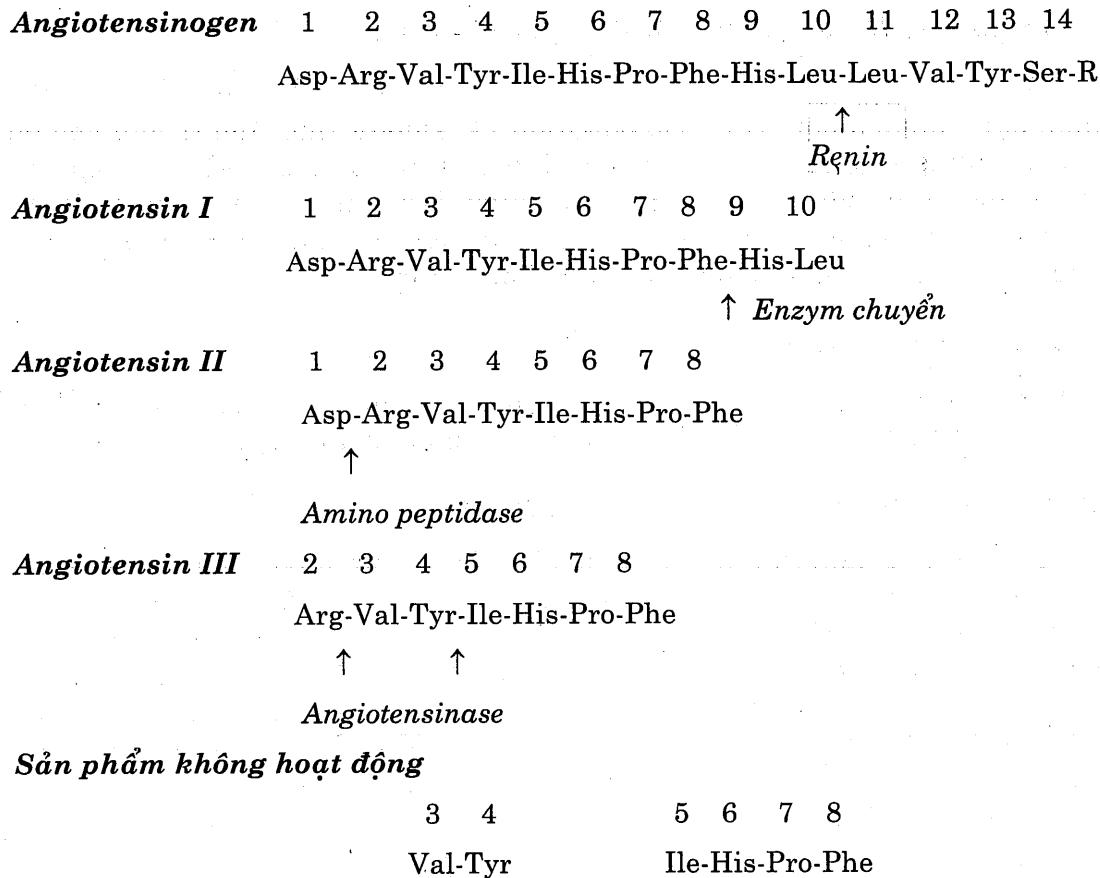
Hệ thống bên cạnh cầu thận tổng hợp bài tiết ra một protein enzym là renin, có tác dụng thuỷ phân protein. Renin có trọng lượng phân tử 40.000. Renin được đổ vào tĩnh mạch thận. Trong máu, renin tác dụng đặc hiệu trên protein là angiotensinogen được tổng hợp từ gan. Angiotensinogen là một polypeptid (alpha globulin). Renin thuỷ phân chặt liên kết peptid giữa acid amin 10 và 11 giải phóng angiotensin I, không có tác dụng sinh học gồm 10 acid amin. Một enzym khác của máu (enzym chuyển) cắt 2 acid amin ở đầu C tận (His và Leu) của angiotensin I tạo thành angiotensin II có các tác dụng sinh học:

- Co mạch và tăng huyết áp mạnh gấp 50 lần so với adrenalin.
- Co cơ trơn.
- Tăng bài tiết aldosteron của vỏ thượng thận.

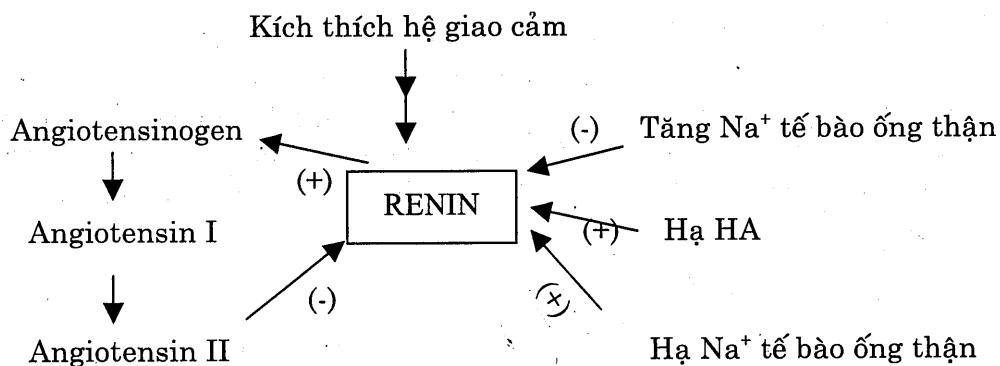
Angiotensin II có đời sống ngắn, sẽ nhanh chóng bị enzym *aminopeptidase* thuỷ phân cắt Asp ở đầu N tận tạo thành angiotensin III. Angiotensin II và III có chất thụ thể ở màng tế bào vùng cầu của vỏ thượng thận. Chính chúng kiểm soát sự tổng hợp và bài tiết aldosteron. Sự tạo thành và thoái hóa angiotensin I, II, III được trình bày ở hình 18.5.

1.4.1.1. Sự điều hoà bài tiết và giải phóng renin

- Hệ thống thần kinh giao cảm và catecholamin điều hoà giải phóng renin qua trung gian của chất cảm thụ beta adrenergic (chất giải phóng adrenalin). Hệ giao cảm bị kích thích gây tăng bài xuất renin.
- Thay đổi áp suất tiểu động mạch: hạ huyết áp, lưu lượng máu đến thận giảm làm tăng sự bài tiết renin.
 - Tăng nồng độ Na⁺ ở tế bào ống thận 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 (hình 18.6).



Hình 18.5. Sự hình thành và thoái hóa Angiotensin I, II và III.



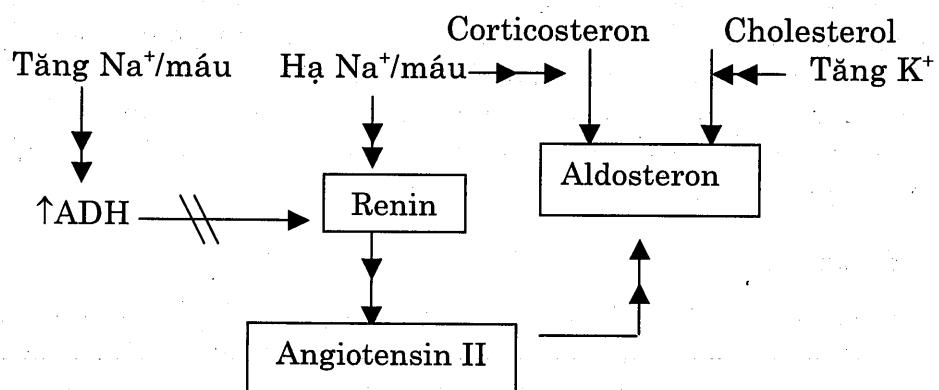
Hình 18.6. Cơ chế điều hòa bài xuất Renin

1.4.1.2. Sự điều hòa tổng hợp và bài tiết aldosteron

– Nồng độ natri máu: sự tổng hợp aldosteron tăng khi nồng độ natri máu hạ. Khi natri máu hạ **hơn 10 mEq/l**, aldosteron tăng bằng cách chuyển corticosteron thành aldosteron.

– Nồng độ kali máu: kali máu tăng kích thích sự chuyển cholesterol thành pregnenolon để thành aldosteron.

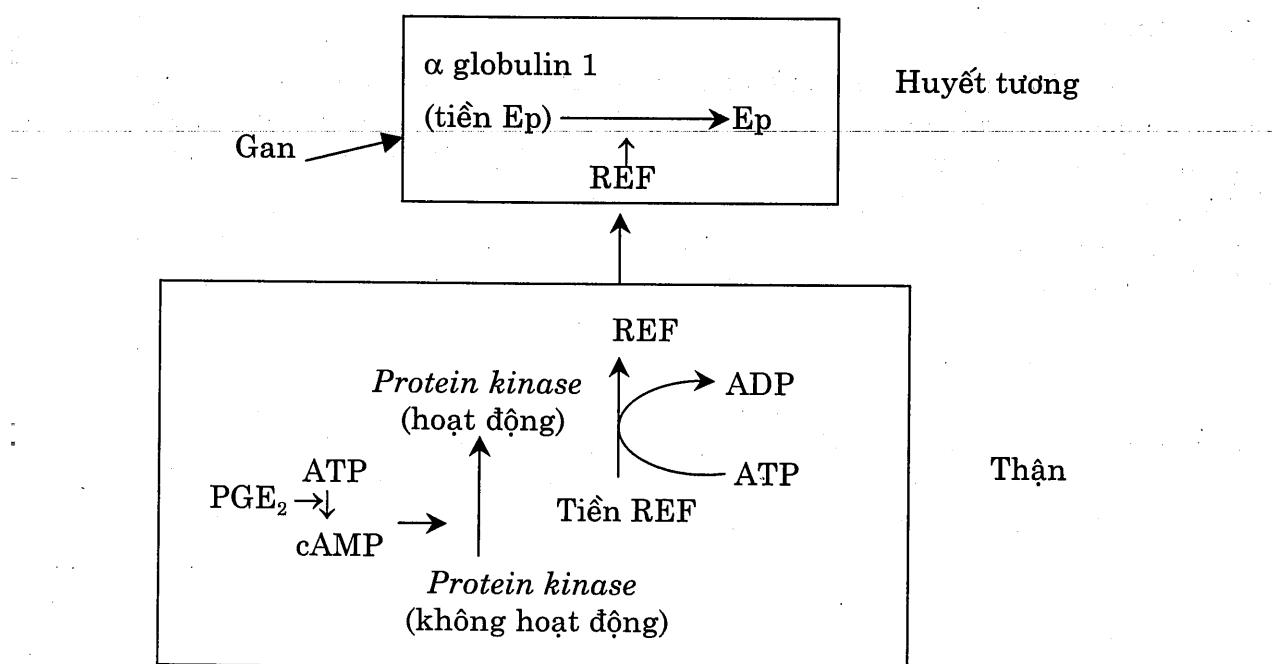
- Nồng độ natri trong máu tăng (áp suất thẩm thấu khu vực ngoài tế bào tăng ảnh hưởng đến tế bào vùng dưới đồi) gây tăng bài suât ADH hậu quả là tăng tái hấp thu nước ở ống thận, tác dụng trở lại với sự bài tiết renin (hình 18.7).



Hình 18.7. Điều hoà bài tiết aldosteron

Tác dụng của hệ thống renin – angiotensin – aldosteron thể hiện ở hình 18.6 và 18.7.

1.4.2. Sự bài tiết yếu tố tạo hồng cầu của thận



Hình 18.8. Hoạt hóa ERF

Từ 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 đó là erythropoietin - Ep (chất tạo hồng cầu) có tác dụng kích thích tế bào hồng cầu

tiền thân phát triển thành hồng cầu trưởng thành. Mối liên quan của erythropoietin (Ep) với thận được phát hiện năm 1957 bởi Jacobson. Ep được tạo ra từ alpha-1-globulin do gan tổng hợp. Ep (không hoạt động) trở thành dạng hoạt động nhờ yếu tố tạo hồng cầu của thận là Renal erythropoietin factor (REF).

ERF là glycoprotein hormon, được tổng hợp tại tế bào kẽ ở gần ống lợn dưới dạng tiền ERF không hoạt động. Tiền ERF được phosphoryl hóa thành dạng hoạt động nhờ một *protein kinase* dạng hoạt động. *Protein kinase* hoạt động lại được tạo ra từ *protein kinase* dạng không hoạt động nhờ cAMP. Gần đây người ta đã sản xuất được erythropoietin dưới dạng thuốc dùng cho bệnh nhân thâm phân phúc mạc.

1.4.3. Prostaglandin

Ba typ prostaglandin được tìm thấy ở thận là PGE₂, PGI₂, TXA₂, chúng được sản xuất ở những đoạn khác nhau của nephron hoặc trong tế bào kẽ. PGE₂, PGI₂ có tác dụng giãn mạch, chống lại tác dụng co mạch của angiotensin II, có tác dụng làm giảm đào thải natri và lợi tiểu nhẹ. PGE₂ còn có tác dụng lên sự tổng hợp REF thông qua tác dụng hoạt hóa *adenylat cyclase* (AC) để tạo AMP vòng (hình 18.8). TXA₂ là yếu tố co mạch. Prostaglandin được tăng cường sản xuất không chỉ do sự tăng hàm lượng angiotensin II mà còn do những kích thích thần kinh thận.

1.4.4. Vitamin D3

Vitamin D3 hay cholecalciferol là tiền hormon phụ thuộc vào tia tử ngoại. Cholecalciferol được tạo thành từ da tới huyết tương nhờ sự vận chuyển của D3-binding protein rồi được oxy hóa ở gan thành 25-OH-D3. Sau đó 25-OH-D3 được chuyển tới thận nhờ protein gắn 5-OH-D3. Tại thận được oxy hóa thành 1, 25-(OH)₂-D3 hay calcitriol. Calcitriol có tác dụng tăng cường hấp thu calci ở ruột và tái hấp thu calci ở thận.

1.4.5. Atrio natrinuretic factor ANF (yếu tố bài niệu natri của tâm nhĩ)

Atrio natrinuretic factor (ANF) là sản phẩm của tế bào trong tâm nhĩ, có thể cả trong tâm thất. ANF gây tăng bài suất natri thông qua tác dụng lọc natri ở cầu thận và tái hấp thu ở ống lợn gần. ANF cũng có tác dụng đối lập với ADH trên ống góp gây sự giảm tái hấp thu nước. Nó cũng có thể làm tăng áp lực thuỷ tĩnh trong mạch và giảm tái hấp thu NaCl ở ống góp.

2. NUỐC TIỂU

Nước tiểu là dịch bài suất quan trọng nhất chứa phần lớn các chất cặn bã của cơ thể. Những thay đổi về các chỉ số hóa lý và đặc biệt là những thay đổi về thành phần hóa học của nước tiểu phản ánh các rối loạn chuyển hóa.

2.1. Tính chất chung của nước tiểu

2.1.1. Thể tích nước tiểu

Thể tích nước tiểu trung bình ở người lớn trong 24h khoảng 1.000-1.400ml, tương đương 18 - 20 ml/kg thân trọng. Thể tích nước tiểu thay đổi theo điều kiện sinh lý, bệnh lý. Lượng nước tiểu tính theo thân trọng ở trẻ em nhiều hơn người lớn. Uống ít nước, làm việc trong điều kiện ẩm, nóng ra nhiều mồ hôi, lượng nước tiểu ít. Một số trường hợp bệnh lý nước tiểu có thể $>2500\text{ml}/24\text{h}$ trong bệnh đái tháo đường, đái nhạt. Lượng nước tiểu cũng có thể dưới $750\text{ml}/24\text{h}$ trong các trường hợp thiểu niệu, vô niệu trong viêm cầu thận cấp, viêm ống thận cấp do ngộ độc, mất máu, bỏng nặng.

2.1.2. Các tính chất vật lý của nước tiểu

2.1.2.1. Màu sắc

Nước tiểu bình thường có màu từ vàng nhạt đến màu hổ phách tuỳ theo lượng nước tiểu và độ đậm đặc. Những sắc tố chính trong nước tiểu là các sản phẩm có nitơ như urobilin (sản phẩm oxy hóa của urobilinogen), các dẫn xuất của indoxylo. Ở bệnh gan mật nước tiểu có màu nâu vàng của bilirubin. Nước tiểu màu hồng do có máu. Nước tiểu đục như nước vo gạo do có dưỡng chất.

Nước tiểu bình thường lấy trong điều kiện đúng quy cách thường trong suốt, để một thời gian ngắn sẽ thành đám mây vẩn đục của những tế bào nội mô và urosomucoid, lơ lửng ở giữa hay đáy ống tuỳ theo tỷ trọng nước tiểu. Nước tiểu sau khi để chỗ mát hay lạnh có thể có cặn acid uric, muối urat hoặc phosphat lắng xuống đáy lọ. Phân biệt bằng cách đun gần sôi, muối urat tan, muối phosphat không tan trong môi trường trung tính hoặc kiềm, tan trong môi trường acid nhẹ.

2.1.2.2. Độ sánh

Độ sánh của nước tiểu bình thường cao hơn nước một chút. Các trường hợp nước tiểu có máu, mủ, protein, dưỡng chất nước tiểu sánh hơn và có nhiều bọt.

2.1.2.3. Mùi

Mùi của nước tiểu đặc biệt, để ngoài không khí có mùi khai do urê biến đổi thành amoniac. Một số bệnh lý nước tiểu có mùi ceton, mùi hôi (trường hợp sốt cao, ung thư thận, ung thư bàng quang).

2.1.2.4. Sức căng bề mặt của nước tiểu

Sức căng bề mặt của nước tiểu thấp hơn nước, khoảng $64 - 69 \text{ dyne/cm}^2$ (của nước là 72). Trong viêm gan, tắc mật, nước tiểu có muối mật gây sức căng bề mặt giảm.

2.1.2.5. Tỷ trọng

Tỷ trọng nước tiểu thay đổi trong ngày. Nước tiểu 24h ở điều kiện 15°C tỷ trọng dao động $1,005 - 1,030$, trung bình là $1,018 \pm 0,022$. Trường hợp đái đường tỷ trọng có thể tới $1,03 - 1,04$, trường hợp đái nhạt tỷ trọng lại thấp.

2.1.2.6. pH

pH của nước tiểu 24h hơi acid khoảng 5 – 6, trung bình 5,8. Nước tiểu acid do sự có mặt của các acid acetoacetic, acid uric, phosphat acid và các muối amoni. pH thay đổi theo chế độ ăn, ăn nhiều rau nước tiểu ít acid, có khi trung tính hoặc hơi kiềm, ăn nhiều thịt pH nước tiểu càng acid, lao động mạnh về cơ bắp, hoạt động thể dục thể thao cũng tăng độ acid trong nước tiểu. Trong đái tháo đường nặng, pH nước tiểu acid do bài xuất các thể ketonic. Các trường hợp viêm bể thận, bàng quang, pH kiềm do phản ứng lên men amoniac, ở bệnh nhân viêm dạ dày đa acid pH nước tiểu sau bữa ăn thường kiềm, ở bệnh nhân ung thư dạ dày, pH nước tiểu hầu như không thay đổi ở các thời điểm trong ngày.

2.1.3. Thành phần hóa học của nước tiểu

Thành phần trung bình của các chất trong nước tiểu 24h được trình bày ở bảng 18. 1.

Bảng 18.1. Thành phần các chất trong nước tiểu 24h

Anion (gam)	Cation (gam)	Chất hữu cơ (gam)
clorua	Na ⁺ 4,0 – 6,0	ure 20 – 30
phosphat	K ⁺ 2,0 – 3,0	creatinin 1,0 – 1,8
sulfat	Ca ⁺⁺ 0,15 – 0,25	acid uric 0,4 – 0,8
	NH ₄ ⁺ 0,3 – 1,2	acid amin 2,0 – 4,0
	Mg ⁺⁺ 0,10 – 0,20	acid hypuric 0,1 – 1,0

2.1.3.1. Các chất vô cơ

– Clorua: nồng độ clo trong nước tiểu phụ thuộc vào chế độ ăn. Trong viêm thận, nhiễm trùng clo giảm trong nước tiểu.

– Phosphat: sự bài suất phosphat tăng ở nước tiểu gấp trong các bệnh nhuyễn xương, ưu năng tuyến giáp và thiểu năng cận giáp trạng.

2.1.3.2. Các chất hữu cơ

– Urê: lượng nitơ từ urê trong nước tiểu chiếm 80 – 85% nitơ toàn phần của nước tiểu. Nồng độ urê trong nước tiểu tỷ lệ thuận với chế độ ăn giàu đạm, sốt cao, đái tháo đường, ưu năng tuyến thượng thận, nhiễm độc arsenic và phospho. Nồng độ urê trong nước tiểu giảm do tổn thương biểu mô ống thận như viêm thận cấp do nhiễm độc.

– Creatinin: sự bài xuất creatinin trung bình ở người trưởng thành nam giới là 20 - 25mg/kg thân trọng. Theo cơ, thoái hóa cơ, ưu năng tuyến cận giáp trạng creatinin trong nước tiểu tăng.

– Acid uric: chế độ ăn nhiều đạm, lượng acid uric tăng. Viêm thận, bệnh chuyển hóa nucleoprotein ở tế bào như bệnh bạch cầu, acid uric nước tiểu tăng.

- Acid amin: nước tiểu chứa tất cả acid amin, mỗi acid amin chiếm khoảng 10 – 30mg trong nước tiểu 24h. Riêng glycin và histidin nhiều hơn, khoảng trên 100mg/ 24h. Ở phụ nữ sự bài xuất His cao nhất vào giữa ngày thứ 15 - 20 của chu kỳ kinh nguyệt.

- Các hormon, vitamin, enzym: trong nước tiểu có amylase, có các vitamin B1, PP, C và các dạng dẫn xuất của chúng, có các hormon sinh dục nam, sinh dục nữ, vỏ thượng thận dưới dạng dẫn xuất gluco liên hợp.

Việc định lượng một số chất trên trong nước tiểu có giá trị chẩn đoán một số bệnh.

2.2. Các chất bất thường trong nước tiểu

Các chất được gọi là bất thường là những chất chỉ xuất hiện trong các trường hợp bệnh lý.

2.2.1. Glucid

Nước tiểu bình thường có một lượng nhỏ các ose như: glucose, fructose, arabinose, galactose, nên nước tiểu có tính khử yếu, khó phát hiện bằng phản ứng khử thuốc thử Fehling. Trong trường hợp bệnh đái tháo đường, nồng độ glucose trong máu tăng quá ngưỡng (1,7g/l) nên bị đào thải ra nước tiểu. Cũng có trường hợp glucose máu không cao nhưng khả năng tái hấp thu ống thận giảm cũng có glucose trong nước tiểu. Một số bệnh rối loạn enzym bẩm sinh trong nước tiểu xuất hiện galactose, fructose.

2.2.2. Protein

Nước tiểu bình thường có một lượng nhỏ protein khoảng 50–100 mg/24h, có 55-60% nguồn gốc huyết thanh (trong đó chỉ có 40% là albumin còn lại là IgG và các mảnh của IgA, chuỗi nhẹ lamda, kappa) khoảng 40% là các glycoprotein có nguồn gốc từ thận và các đường dẫn nước tiểu. Với nồng độ này các xét nghiệm thông thường không phát hiện được nên trong nước tiểu người bình thường được coi là không có protein. Nồng độ protein trong nước tiểu >150 mg/24h được coi là bệnh lý, xuất hiện trong các trường hợp: sốt cao, lượng protein vừa phải, khoảng 0,5 - 1,0g/24h. Bệnh đái tháo đường với tổn thương sớm ở thận thể hiện trong nước tiểu có một lượng albumin rất nhỏ gọi là albumin niệu vi lượng (microalbuminurie). Trong các bệnh hệ thống như viêm đa động mạch, xơ cứng bì, các trường hợp này lượng albumin khoảng 1g/24h. Bệnh paraprotein, nước tiểu có các protein trọng lượng phân tử thấp như protein Bence Jone (chuỗi lamda, kappa, các protein này tủa ở 80 - 85°C và tan ở 100°C). Bệnh suy tim và đặc biệt trong các bệnh về thận (xem trong chẩn đoán bệnh thận).

2.2.3. Các chất cetonic

Nước tiểu bình thường chứa vài miligam acid acetic/1 lít nước tiểu và vài trăm miligam acid beta hydroxybutyric. Các chất này tăng trong trường hợp đói lâu ngày, trong bệnh đái tháo đường và sau một số trường hợp dùng thuốc mê.

2.2.4. Sắc tố mật, muối mật

Sắc tố mật là bilirubin liên hợp, sắc tố mật và muối mật có trong nước tiểu trong các trường hợp tổn thương gan và đường mật, nhất là trong các trường hợp vàng da do viêm gan và tắc mật.

2.2.5. Hồng cầu và hemoglobin

Nước tiểu có hồng cầu trong viêm thận cấp, trong lao thận, ung thư thận. Có hemoglobin trong các trường hợp sốt rét ác tính, hoàng đầm do tiêu huyết, bong nặng.

2.2.6. Porphyrin

Người bình thường hàng ngày bài xuất khoảng 50 - 200 mg porphyrin (coproporphyrin I và II). Có hai loại porphyrin niệu: porphyrin niệu vô căn nguyên nhân di truyền do thiếu một enzym của quá trình tổng hợp Hem ở tuỷ xương hoặc ở gan. Porphyrin niệu thứ phát do nhiễm các chất độc có tác dụng ức chế quá trình tổng hợp Hem.

2.2.7. Dưỡng chấp

Nước tiểu có dưỡng chấp trong các trường hợp bệnh giun chỉ gây tổn thương bạch mạch tại chỗ liên quan tới đường bài xuất nước tiểu.

2.2.8. Nitrit

Nitrit được tạo thành từ nitrat bị khử bởi các enzym reductase do một số vi khuẩn sản xuất ra. Vì vậy sự có mặt nitrit trong nước tiểu biểu hiện có hiện tượng nhiễm trùng đường tiết niệu.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày cơ chế lọc và tái hấp thu protein của thận.
2. Trình bày vai trò của thận trong thăng bằng acid - base.
3. Trình bày các chất bát thường trong nước tiểu.

Chương 19

HÓA SINH MÁU

MỤC TIÊU

1. Nắm được thành phần hóa học cơ bản của máu, vai trò của từng thành phần.
2. Nắm được vai trò và chức năng các loại protein trong huyết thanh.
3. Một số thay đổi bệnh lý điển hình của thành phần protein huyết thanh.

Máu là một tổ chức của cơ thể, lưu thông trong hệ tuần hoàn và thực hiện nhiều chức năng sinh lý quan trọng. Máu đi đến các cơ quan của cơ thể nhằm đảm bảo sự tồn tại và liên kết hoạt động của tất cả các cơ quan với nhau và với môi trường bên ngoài. Chính vì vậy, máu ảnh hưởng đến các chức năng sinh học của tất cả các bộ phận của cơ thể.

1. CÁC CHỨC NĂNG SINH LÝ CỦA MÁU

1.1. Chức năng dinh dưỡng: máu vận chuyển các chất dinh dưỡng (từ hệ thống tiêu hóa) tới các mô.

1.2. Chức năng bài tiết: máu vận chuyển các chất cặn bã (sản phẩm thoái hóa chất) từ các mô tới cơ quan bài tiết (thận, da, phổi, ruột) để đào thải ra ngoài.

1.3. Chức năng hô hấp: máu đóng vai trò quan trọng trong quá trình hô hấp. Máu đưa oxy từ phổi đến các mô của cơ thể đồng thời thu nhận CO_2 từ mô đến phổi và đào thải ra ngoài.

1.4. Chức năng bảo vệ: máu có hệ thống bạch cầu, kháng thể, kháng độc tố... có tác dụng chống lại các tác nhân nhiễm khuẩn. Trong máu cũng có hệ thống đông máu và chống đông. Trong điều kiện sinh lý hai hệ thống này luôn cân bằng nhau.

1.5. Chức năng điều hòa

– Máu tham gia vào cơ chế điều hòa các chức phận của cơ thể bằng cách vận chuyển các hormon từ các tuyến nội tiết đến các tổ chức.

– Máu duy trì thăng bằng acid base của cơ thể.

- Máu điều hòa thăng bằng nước nhờ tác dụng của máu lên sự trao đổi nước giữa dịch lưu thông và dịch mô.

- Máu điều hòa thân nhiệt.

Máu còn được gọi là môi trường nội môi và có thành phần hóa học khá ổn định. Chính vì vậy, việc nghiên cứu về máu có nhiều giá trị trong lâm sàng bởi những thay đổi các chỉ số hóa lý của máu cũng như những thành phần hóa học của máu phản ánh những thay đổi chức năng của nhiều cơ quan trong cơ thể.

Máu người chiếm khoảng 1/13 trọng lượng cơ thể (dao động từ 4-5 lít). Máu tập trung nhiều ở cơ (40%), phổi (6,5%) và thận (7,5%). Sự phân bố máu trong cơ thể thay đổi tùy theo trạng thái sinh lý của cơ thể. Máu gồm có huyết tương chiếm 55-60% thể tích máu và huyết cầu (gồm hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu) chiếm 40-45% thể tích máu.

2. TÍNH CHẤT LÝ HÓA CỦA MÁU

2.1. Tỷ trọng

Bình thường tỷ trọng của máu từ 1,050-1,060 (trung bình 1,056). Trong đó tỷ trọng huyết tương 1,024 và tỷ trọng huyết cầu 1,093.

2.2. Độ nhớt

Bình thường độ nhớt của máu gấp 4-5 lần so với nước ở 38°C. Độ nhớt của máu phụ thuộc vào số lượng huyết cầu và nồng độ protein. Trong trường hợp thiếu máu, độ nhớt của máu giảm có khi chỉ còn 1,7 lần. Trong trường hợp tăng hồng cầu và bạch cầu, độ nhớt của máu có thể tăng lên đến 24 lần so với nước.

2.3. Áp suất thẩm thấu

Yếu tố quyết định áp suất thẩm thấu của máu là các phân tử hữu cơ và các ion có trong máu, chủ yếu là Na^+ , Cl^- , HCO_3^- và các chất khác. Có nhiều cách đo áp suất thẩm thấu:

- Đo trực tiếp: áp suất thẩm thấu của máu bình thường từ 7,2-8,1 atmosphe ở 37°C. Phương pháp này ít được sử dụng vì phức tạp.

- Đo gián tiếp: dựa vào độ hạ điểm đông của huyết thanh hay huyết tương vì áp suất thẩm thấu và độ hạ điểm đông tỷ lệ thuận với nồng độ các chất phân ly. Một phương pháp đo gián tiếp khác là sử dụng áp suất thẩm thấu kế. Phương pháp này đo áp suất thẩm thấu của máu thông qua đo độ dẫn điện của huyết tương (đơn vị là miliosmol/lít viết tắt là mosm/lít). Bình thường áp suất thẩm thấu là 292-308 mosm/lít huyết tương.

2.4. Chỉ số khúc xạ

Chỉ số khúc xạ của huyết tương thay đổi từ 1,3487 đến 1,3517. Chỉ số này phụ thuộc vào nồng độ các muối vô cơ và nồng độ protein (chủ yếu là nồng độ protein). Có thể đo chỉ số khúc xạ của huyết tương để suy ra nồng độ protein.

2.5. pH và hệ đệm của máu

pH máu người và động vật cao cấp hằng định, dao động trong khoảng 7,38-7,42. pH máu luôn được duy trì ổn định nhờ cơ chế điều hòa mạnh mẽ thông qua các hệ thống đệm của máu và sự điều tiết của các cơ quan như phổi và thận (xem chi tiết chương: *thăng bằng acid base*).

3. THÀNH PHẦN CỦA MÁU

Mặc dù có nhiều chất khác nhau không ngừng được đưa vào máu và đào thải ra khỏi máu song thành phần hóa học của máu khá ổn định. Thành phần hóa học của máu phản ánh tình trạng sinh lý của cơ thể. Do vậy các xét nghiệm hóa sinh máu đóng vai trò quan trọng trên lâm sàng giúp cho việc chẩn đoán, theo dõi và tiên lượng bệnh.

Thành phần hóa học của máu toàn phần, huyết tương và huyết cầu rất khác nhau.

Bảng 3. Tỷ lệ nước và chất khô trong máu

	Nước (%)	Chất khô (%)
Máu toàn phần	76-85	15-24
Huyết tương	90-91	9-10
Huyết cầu	57-68	32-43

3.1. Thành phần huyết cầu

+ **Hồng cầu:** số lượng hồng cầu người ở nam giới: 4,5-5 triệu/mm³, nữ: 4-4,5 triệu/mm³. Người sống ở vùng núi cao có số lượng hồng cầu nhiều hơn (7-8 triệu/mm³) để thích ứng với không khí loãng. Hồng cầu trưởng thành không có nhân, đời sống ngắn khoảng 120-130 ngày và bị phá hủy ở lách và hệ vòm nội mô. Chức năng chính của hồng cầu là chức năng hô hấp (vận chuyển O₂ và CO₂). Ngoài ra hồng cầu còn tham gia điều hòa cân bằng acid base, trao đổi muối nước, khử độc H₂O₂ và nhiều quá trình chuyển hóa khác.

Thành phần hóa học của hồng cầu: hồng cầu người có 57-68% là nước, còn lại là chất khô. Hemoglobin chiếm khoảng 95% các chất hữu cơ tương đương với 43-40% khối lượng hồng cầu hay 15 g hemoglobin/dL máu. Lượng hemoglobin thay đổi theo lứa tuổi và có nhiều loại hemoglobin (xem chương *hemoglobin*). Ngoài hemoglobin, hồng cầu còn chứa một số protein khác như các enzym, các protein cấu trúc và các sản phẩm chuyển hóa khác.

Lipid của hồng cầu chủ yếu là lecithin (3,3-3,7 g/l), cholesterol (1,3-1,6 g/l) và các phospholipid khác.

Các chất điện giải: 80% phospho máu ở trong hồng cầu. Nồng độ kali trong hồng cầu cao hơn huyết tương tới 20-30 lần (450-480 mg %). Nồng độ Na: 50-110 mg %, Mg: 5 mg %; Fe: 100 mg % và Cu: 1,5 mg %.

Màng hồng cầu có chứa các chất quyết định nhóm máu mang tính kháng nguyên của hồng cầu. Các chất này là phức hợp của gluco-protein, gluco-lipid trong đó phần glucid đóng vai trò quan trọng và đặc hiệu.

+ **Bạch cầu:** số lượng bạch cầu trong 1 lít máu khoảng $7000/\text{mm}^3$ ở nam và $6.800/\text{mm}^3$ ở nữ. Khác với hồng cầu, bạch cầu có nhân, có ty thể, nồng độ acid nucleic cao và có quá trình phosphoryl oxy hóa. Bạch cầu chứa nhiều glycogen, protein, các enzym chuyển hóa đường... Chức năng của bạch cầu là bảo vệ cơ thể thông qua cơ chế miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể. Acid folic đóng vai trò quan trọng trong quá trình trưởng thành của bạch cầu. Vì vậy trong các bệnh đa bạch cầu người ta dùng kháng acid folic để điều trị.

+ **Tiểu cầu:** là tế bào đặc biệt không có acid nucleic. Thành phần tiểu cầu gồm: protein 57%; lipid 19%; glucid rất ít. Chức năng cơ bản của tiểu cầu là tham gia quá trình đông máu.

3.2. Thành phần huyết tương

Huyết tương gồm 91% là nước và 9% là chất khô.

3.2.1. Thành phần khí

100 ml máu động mạch chứa 18 đến 20 ml oxy trong đó có 0,3 ml ở dạng hòa tan, còn lại kết hợp với hemoglobin của hồng cầu. Trong 100 ml có 45 đến 50 ml CO_2 , trong đó 75% ở huyết tương, 25% ở hồng cầu và tồn tại cả ở 3 dạng: hòa tan, dạng HCO_3^- và dạng kết hợp với hemoglobin.

3.2.2. Các chất vô cơ

Các chất vô cơ trong huyết thanh gồm các cation Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} ... các anion Cl^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} ... các yếu tố vi lượng I_2 , Cu , Fe , Zn ... Các cation và anion này ở dạng ion hóa hoặc ở dạng phức với protein. Nồng độ các chất vô cơ trong máu được biểu thị theo 3 cách:

- Tính theo nồng độ g %, g, mg %, mg, cách này ít dùng:

Na^+	300-340 mg %
K^+	15-20 mg %
Mg^{++}	1,7-2 mg %
Ca^{++}	9-11 mg %
Fe^{++} , Fe^{+++}	Vết
Cu^{++}	Vết
Cl^-	300-380 mg %
Phospho vô cơ	5 mg %
Phospho toàn phần	10-15 mg %

– Tính theo nồng độ mili đương lượng trong 100 ml hay 1000 ml (mEq % hay mEq). Là khối lượng ion tính ra mg chia cho hóa trị của ion đó.

$$1 \text{ mEq của } \text{Na}^+ = \frac{23 \text{ mg}}{1} = 23 \text{ mg}$$

$$1 \text{ mEq của } \text{Cl}^- = \frac{35,5 \text{ mg}}{1} = 35,5 \text{ mg}$$

$$1 \text{ mEq của } \text{Ca}^{++} = \frac{40 \text{ mg}}{2} = 20 \text{ mg}$$

Hoạt động của các chất điện giải trong dung dịch không tỷ lệ thuận với nồng độ các chất biểu thị theo khối lượng. Song nếu tính theo nồng độ đương lượng thì một mili đương lượng chất này tương ứng với một mili đương lượng chất khác. Chính vì vậy, việc biểu thị nồng độ theo mEq chính xác và hợp lý hơn so với nồng độ mg %. Thí dụ: trong huyết tương chứa:

$$\text{Na}^+ 3260 \text{ mg\%} = 142 \text{ mEq/l}$$

$$\text{Cl}^- 3650 \text{ mg\%} = 103 \text{ mEq/l}$$

Như vậy, 103 mEq/l Na⁺ sẽ kết hợp với 103 mEq/l Cl⁻ còn lại 39 mEq/l Na⁺ sẽ kết hợp với anion khác như HCO₃⁻. Nếu biểu thị theo mg% ta thấy lượng Cl⁻ sẽ nhiều hơn Na⁺.

Nồng độ điện giải trong huyết thanh tính ra mEq/l.

Cation	Anion
Na ⁺	Cl ⁻
K ⁺	HCO ₃ ⁻
Ca ⁺⁺	HPO ₄ ²⁻
Mg ⁺⁺	SO ₄ ²⁻
Tổng cộng	Protein
	Acid hữu cơ
	Tổng cộng: 155

Nhờ cách biểu thị nồng độ các chất điện giải theo mEq ta còn thấy được có sự cân bằng anion và cation ở dịch trong và ngoài tế bào. Đó là cân bằng Donnan, trong đó:

$$\frac{\text{Anion trong tế bào}}{\text{Anion ngoài tế bào}} = \frac{\text{Cation ngoài tế bào}}{\text{Cation trong tế bào}}$$

– Nếu đo áp suất thẩm thấu theo đơn vị mili phân tử thẩm thấu (mosm/l) trong đó: 1 osmol chứa 6,02 1023 tiểu phân thì máu toàn phần có áp suất thẩm thấu là 305 mosm/l. Trong đó:

Natri	142 mosm/l
Clo	103 mosm/l
Kali	5 mosm/l
Calci	10 mosm/l
Glucose	5,5 (1 g/l)
Urê	5 (0,3 g/l)

Glucose và urê bình thường có vai trò ít quan trọng trong việc tạo áp suất thẩm thấu. Trong trường hợp bệnh lý khi nồng độ các chất này tăng cao trong máu làm cho áp suất thẩm thấu tăng cao theo.

Thay đổi bệnh lý:

Bình thường các chất điện giải trong máu có nồng độ tương đối ổn định. Trong các điều kiện bệnh lý sẽ dẫn đến sự tăng hoặc giảm nồng độ các chất quá mức bình thường.

- Natri: tăng trong viêm thận, giảm trong thiểu năng vỏ thượng thận (bệnh Addison).
- Clo: tăng trong choáng phản vệ, viêm thận mạn (kèm theo urê huyết cao), thận nhiễm mỡ; giảm trong tắc môn vị, nôn nhiều, ỉa chảy, tắc mật và bệnh Addison.
- Calci: tăng trong cường giáp trạng; giảm trong thiểu năng giáp trạng, còi xương, mềm xương.
- Phospho: tăng trong thiểu năng giáp trạng, viêm thận; giảm trong còi xương, cường giáp trạng.

3.2.3. Thành phần hữu cơ

– Protein toàn phần

Trong huyết thanh protein toàn phần dao động trong khoảng từ 73,10 6,06 g/L. Chức năng của protein là duy trì áp suất keo trong huyết tương. Tác dụng của áp suất keo là ngăn chặn sự mất dịch từ mô. Lượng protein toàn phần trong huyết tương bị ảnh hưởng bởi tình trạng dinh dưỡng, chức năng gan, thận, rối loạn chuyển hóa và một số tình trạng bệnh lý. Trị số protein toàn phần ít có giá trị trên lâm sàng song trị số của các phân đoạn protein đặc hiệu thì dao động nhiều và chính sự thay đổi này mới có giá trị chẩn đoán.

Khi mất nước thì tất cả các phân đoạn protein trong huyết thanh đều tăng gây ra hội chứng tăng protein. Sự mất nước có thể bị gây ra bởi giảm hấp thu hoặc là tăng sự mất nước trong một số bệnh như: Addison, đái tháo đường

hoặc là ỉa chảy nặng. Trong giai đoạn khởi phát của bệnh u tuy xương có sự gia tăng của một phân đoạn protein gây ra sự tăng trị số protein toàn phần trong huyết thanh. Nguyên nhân gây ra giảm protein huyết thanh có thể do tăng sự mất protein hoặc do giảm cung cấp protein do đói hay giảm hấp thu. Trong hội chứng viêm thận, mất protein là do albumin bị thoát ra ngoài các ống thận bị tổn thương. Ngoài ra mất protein còn có thể do mất máu trong chấn thương, trong bong nặng hay do truyền dịch nhanh hơn so với việc bổ sung protein.

- Albumin

Albumin có trọng lượng phân tử khoảng 66.000 và chiếm khoảng hơn một nửa lượng protein toàn phần. Áp suất keo của máu chủ yếu là do albumin tạo nên. Albumin đóng vai trò như phân tử vận chuyển các chất kém hòa tan như acid béo, bilirubin, các hormon, calci, kim loại, thuốc và vitamin. Nồng độ albumin trong huyết thanh bình thường dao động trong khoảng $56,67 \pm 5,28$ g/dL (nam), $53,72 \pm 4,26$ g/dL (nữ). Giảm albumin huyết thanh thường gặp trong bệnh gan (do giảm sản xuất), bệnh về thận (do tăng sự đào thải) và có thể gặp trong hội chứng giảm albumin do di truyền, do albumin không được sản xuất. Tăng albumin gặp trong mất nước hay khi truyền albumin. Nhiều protein trong huyết tương ở dạng đa hình thái (polymorphism) do sự đa dạng về gen trong quá trình tái tổ hợp.

- Prealbumin

Prealbumin còn được gọi là prealbumin-gắn với thyroxin có trọng lượng phân tử vào khoảng 54.000. Chức năng chủ yếu của protein này là vận chuyển thyroxin và triiodothyroxine. Prealbumin là một protein chỉ điểm rất nhạy để đánh giá tình trạng dinh dưỡng vì thời gian bán hủy của nó rất ngắn. Prealbumin giảm nhiều trong bệnh gan do giảm tổng hợp song lại có thể tăng trong bệnh thận khi mà màng cầu thận không lọc được. Prealbumin di chuyển nhanh hơn albumin và thường được định lượng bởi kỹ thuật khuyếch tán miễn dịch.

- Protein-gắn retinol (retinol-binding protein)

Protein-gắn retinol (RBP) là một protein vận chuyển khác. Nó phối hợp với prealbumin để vận chuyển vitamin A (retinol) đến tế bào đích. RBP cũng di chuyển nhanh hơn albumin và được định lượng dựa vào kỹ thuật khuyếch tán miễn dịch.

- Alpha-1-antitrypsin

Alpha-1-antitrypsin (AAT) còn được gọi là alpha-1-anti protease thuộc nhóm chất ức chế serine protease và được tổng hợp ở gan. Chức năng của AAT là bắt hoạt các protease như elastase và collagenase. Chính vì vậy AAT có chức năng ngăn cản sự phá hủy mô liên kết gây ra do elastase giải phóng từ bạch cầu ở vùng viêm. AAT là protein có nhiều dạng phân tử khác nhau. Thiếu hụt AAT dẫn đến các bệnh về gan ở trẻ em và amphysema (rối loạn tổ

chức xơ, mô liên kết) ở tuổi 20-30. Tổn thương này là do AAT không ức chế được các protease gây ra sự rối loạn cấu trúc của các mô. AAT còn là chất phản ứng pha cấp (Acute phase reaction/APR).

APR là nhóm các protein tăng cao trong phản ứng viêm cấp. Nguyên nhân của quá trình này thường do nhiễm khuẩn, bong, ung thư... Nhìn chung APR đóng vai trò trong sự bảo vệ của cơ thể. Do APR có vai trò trong nhiều trạng thái bệnh lý nên việc định lượng APR thường ít có giá trị chẩn đoán mà có giá trị trong theo dõi và điều trị. Khi APR tăng thì albumin, prealbumin và transferin giảm và protein toàn phần không thay đổi hoặc tăng đôi chút.

Việc định lượng AAT có thể bằng điện di bởi khoảng 90% vệt của alpha-1 chính là protein này. AAT còn có thể được định lượng sử dụng kỹ thuật khuếch tán miễn dịch. Các dạng phân tử của AAT được xác định bởi điện di ở điểm đẳng điện.

- Alpha-1-acid glycoprotein

Alpha-1-acid glycoprotein (AAG) có trọng lượng phân tử vào khoảng 44.000 và được tổng hợp tại gan. Chức năng của nó là bất hoạt progesterone và có khả năng gắn với các thuốc kiềm tính do vậy ảnh hưởng đến chuyển hóa thuốc. AAG cũng là một APR, tăng trong phản ứng viêm, đặc biệt trong các phản ứng tự miễn như hen phế quản, bệnh lupus ban đỏ. AAG cũng tăng trong ung thư, bong, chấn thương. Giảm AAG có thể do suy dinh dưỡng, tổn thương gan, viêm thận và liên quan chặt chẽ với việc sử dụng thuốc tránh thai bằng đường uống. AAG được định lượng dựa vào kỹ thuật khuếch tán miễn dịch hoặc đo độ tán xạ.

- Alpha-2-macroglobulin

Alpha-2-macroglobulin (AMG) là một trong những protein có trọng lượng phân tử lớn nhất và là chất ức chế protease. AMG cũng có chức năng trong quá trình đông máu và phân hủy fibrin. Nó ức chế trypsin, chymotrypsin, thrombin, elastase, kallikrein và plasmin. AMG không phải là APR, nó giảm ở những bệnh nhân hen phế quản, viêm cột sống và ở những bệnh nhân điều trị bởi streptokinase. AMG có thể tăng khi mang thai hoặc ở bệnh nhân điều trị bằng estrogen hay bệnh nhân mắc bệnh gan, đái tháo đường viêm ống thận.

AMG được định lượng dựa vào kỹ thuật khuếch tán miễn dịch hay đo độ tán xạ.

- Haptoglobin

Haptoglobin là một glycoprotein, có tính đa dạng phân tử và có chức năng là vận chuyển hemoglobin tự do trong huyết tương đến hệ thống tế bào lười nội mạc nơi mà nó sẽ được thoái hóa. Hemoglobin không gắn với haptoglobin sẽ được lọc qua màng cầu thận, lắng đọng ở ống thận và gây tổn thương thận. Còn hemoglobin gắn với haptoglobin có trọng lượng phân tử quá lớn so với lỗ lọc ở màng cầu thận nên không gây tổn thương thận. Điều này

giải thích tại sao haptoglobin thường bị giảm khi bệnh nhân bị tan máu. Haptoglobin có thể đóng vai trò như APR nên nó tăng trong viêm nhiễm, chấn thương, ung thư...

Haptoglobin di chuyển cùng với vết của alpha-2 và được định lượng bởi kỹ thuật khuếch tán miến dịch hay kỹ thuật đo độ đục.

- *Hemopexin*

Hemopexin beta-1 globulin có chức năng như là protein vận chuyển hem tự do. Phức hợp hem-hemopexin đến gan nơi hem sẽ được giải phóng để tổng hợp bilirubin. Trên lâm sàng hemopexin ít khi được định lượng.

- *Ceruloplasmin*

Đây là alpha-2 globulin có chức năng vận chuyển đồng và được tổng hợp ở gan. Có 6 nguyên tử đồng gắn rất chặt với mỗi phân tử ceruloplasmin tạo ra phức hợp có màu xanh nhạt. Ceruloplasmin vận chuyển khoảng 90% đồng của huyết tương. 10% đồng còn lại thì được gắn với albumin. Thực ra chức năng chính xác của ceruloplasmin hiện nay chưa được biết rõ song đường như nó đóng vai trò như một enzym oxy hóa. Ceruloplasmin cũng là một APR, tăng trong viêm, xơ gan, ung thư bạch cầu cấp ở những bệnh nhân bị Hodgkin và hen phế quản. Nó cũng tăng ở những phụ nữ có thai hay dùng thuốc tránh thai bằng đường uống. Ceruloplasmin giảm ở bệnh Wilson. Đây là một bệnh di truyền mà người bệnh không bài tiết được đồng qua đường mật dẫn đến ứ đồng đồng ở gan, não, thận và hồng cầu. Ceruloplasmin cũng giảm trong những trường hợp suy dinh dưỡng, viêm gan mạn.

Ceruloplasmin được định lượng bởi kỹ thuật khuếch tán miến dịch hay kỹ thuật đo độ đục.

- *Transferin*

Transferin là beta glycoprotein có vai trò trong vận chuyển sắt. Ion sắt có nguồn gốc từ quá trình thoái hóa hem hay hấp thu từ thức ăn được vận chuyển bởi transferin đến nơi mà hồng cầu được tổng hợp ở tuỷ xương. Nồng độ transferin trong khoảng 25-50 $\mu\text{mol/L}$. Nó giảm trong bỗng, nhiễm khuẩn, ung thư, bệnh gan, thận hay bệnh giảm transferin do di truyền. Transferin tăng trong thiếu máu do thiếu sắt. Cơ thể phản ứng bù với việc thiếu sắt bằng việc tăng sản xuất transferin. Transferin cũng tăng trong thai nghén, khi mà nhu cầu sắt tăng cao, hay trong quá trình sử dụng estrogen.

- *C-reactive protein*

C-reactive protein (CRP) phản ứng với C polysaccharid của thành tế bào phế cầu. CRP là APR và được tổng hợp ở gan. ARP là một marker không đặc hiệu, nó tăng trong quá trình viêm, chấn thương, ung thư. Việc định lượng CRP có giá trị trong việc theo dõi quá trình điều trị và tiến triển của bệnh. CRP còn tham gia trong quá trình hoạt hóa bổ thể, thực bào và giải phóng lymphokine.

CRP được định lượng bằng kỹ thuật miễn dịch enzym (EIA) hay kỹ thuật đo độ tán xạ.

- Fibrinogen

Fibrinogen là một glycoprotein hòa tan được tổng hợp bởi gan. Fibrinogen đóng vai trò như một cơ chất cho enzym thrombin trong quá trình đông máu. Fibrinogen cũng là một APR, nó giảm trong bệnh đông máu rải rác trong thành mạch, bệnh gan, hay bệnh di truyền giảm fibrinogen. Fibrinogen thường được định lượng bởi thiết bị đo fibrinogen. Trong điện di huyết tương, fibrinogen di chuyển tới vùng beta.

- Kháng thể (immunoglobulin)

Kháng thể là thành phần chủ yếu của protein huyết thanh mà không được tổng hợp bởi gan mà được tổng hợp bởi dòng tế bào lympho B. Kháng thể được định lượng bởi kỹ thuật đo độ khuếch tán hay khuếch tán miễn dịch. Tất cả các kháng thể có hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau. Cấu trúc tetramer được duy trì bởi các cầu nối disulfide. Có 5 loại kháng thể khác nhau: IgG, IgA, IgM, IgD và IgE. Các kháng thể này tham gia trực tiếp trong các phản ứng kháng nguyên-kháng thể. Sự đáp ứng miễn dịch bao gồm một số quá trình: sản sinh kháng thể, các tế bào trung gian miễn dịch (lympho T), đại thực bào, và bổ thể.

Lượng kháng thể giảm trong các bệnh suy giảm miễn dịch do di truyền. Sự tăng kháng thể được phân thành 2 loại: tăng kháng thể đơn dòng (từ một dòng tế bào) hay kháng thể đa dòng (từ nhiều dòng tế bào). Sự tăng kháng thể có thể phát hiện bằng kỹ thuật điện di.

+ IgG

IgG là loại kháng thể có nồng độ cao nhất ở người trưởng thành. IgG có thể khuếch tán ra ngoài thành mạch hay vượt qua hàng rào rau thai. Nó có chức năng trung hòa chất độc, gắn với kháng nguyên, và hoạt hóa bổ thể. IgG có trọng lượng phân tử vào khoảng 150.000 và ở người trưởng thành nồng độ khoảng $13,68 \pm 0,93$ g/L. Trẻ sơ sinh không có khả năng sản xuất ngay IgG nên lượng IgG ở trẻ là do mẹ truyền sang qua rau thai. Trẻ 3 tháng tuổi có hàm lượng IgG: 350-400 mg/dl. Trẻ 1 tuổi hàm lượng khoảng 700-800 mg/dl và nồng độ này tăng dần đến năm 16 tuổi. IgG đa dòng liên quan đến các bệnh gan, bệnh collagen tự miễn, lao, nhiễm khuẩn...

+ IgA

IgA có trọng lượng phân tử khoảng 160.000, có trong nước bọt, nước mắt, dịch mũi và dịch ruột....Vai trò của IgA là bảo vệ bề mặt cơ thể khỏi sự nhiễm khuẩn. IgA có cấu trúc dimer trong các dịch trên và bền vững với các protease nhờ các thành phần phụ trợ gọi là protein bài tiết. Trong huyết tương, IgA tồn

tại ở dạng monomer. Ở người trưởng thành nồng độ IgA từ $3,26 \pm 0,11$ g/L. Ở trẻ sơ sinh, hàm lượng thường vào khoảng 25% của người lớn và đạt 50% vào tuổi thứ 3 và đạt 100% vào tuổi thứ 16. IgA không vượt qua hàng rào rau thai do vậy máu cuống rốn có hàm lượng IgA ít hơn 1 mg/dl. IgA đa dòng tăng trong xơ gan, viêm gan mạn, hen phế quản và lao phổi.

+ IgM

IgM có trọng lượng phân tử khoảng 900.000 và là kháng thể đầu tiên được sản xuất trong quá trình đáp ứng miễn dịch. Đây cũng là kháng thể đầu tiên được sản xuất ở bào thai trong quá trình phát triển. IgM chỉ có ở trong máu do nó có trọng lượng phân tử quá lớn để có thể vượt ra ngoài thành mạch. Ở người trưởng thành lượng IgM vào khoảng $0,93 \pm 0,17$ g/L. Trẻ em 4 tháng, hàm lượng IgM chỉ vào khoảng 50% so với người lớn và đến 8 tuổi thì hàm lượng IgM bằng người lớn. Ở máu cuống rốn, IgM < 20 mg/dl. Polyclonal IgM tăng cao trong xơ gan, sốt rét, nhiễm khuẩn...

+ IgD và IgE

IgD và IgE chỉ chiếm khoảng dưới 1% tổng số kháng thể trong huyết tương. Chức năng của IgD hiện nay chưa rõ ràng. IgE được gắn với tế bào mast và liên quan chặt chẽ với phản ứng dị ứng (bình thường $0,44 \pm 0,17$ mg/L).

+ Rối loạn tổng hợp kháng thể đơn dòng

Rối loạn tổng hợp kháng thể đơn dòng gặp trong ung thư ác tính hay u lành và thường gặp trong u đa tuy. Bệnh này liên quan đến nhiều loại kháng thể khác nhau với nhiều biểu hiện lâm sàng khác nhau và xuất hiện các dạng kháng thể bất thường (protein Bence Jone). Trong thể bệnh này, protein toàn phần thường tăng (10-12 g/dl) và tăng phân đoạn gamma. Xuất hiện protein Bence Jone trong nước tiểu.

- Beta-2-microglobulin (B₂M)

Đây là protein có trọng lượng phân tử nhỏ vào khoảng 11.800. Nó là chuỗi nhẹ liên kết với kháng nguyên HLA và tìm thấy ở nhân tế bào. Chuỗi nặng của HLA xâm nhập vào màng tế bào và chuỗi nhẹ bám vào chuỗi nặng trên bề mặt của tế bào. B2M được giải phóng vào trong máu trước khi tế bào chết và được lọc qua cầu thận, tái hấp thu và thoái hóa ở ống lượn gần. Nồng độ B2M trong huyết tương phản ánh tỷ lệ sản xuất và chức năng của cầu thận trong việc lọc và tái hấp thu protein. B2M còn được dùng như một tumor marker đặc biệt là trong việc chẩn đoán ung thư bạch cầu và là một test nhạy cho việc đánh giá chức năng thận.

B2M được định lượng nhờ kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (RIA), khuếch tán miễn dịch. Lượng B2M trong huyết thanh dao động trong khoảng 0.7-3.4 mg/dl và trong nước tiểu là 0-300 µg/l.

- Lipid

Lipid toàn phần trong huyết thanh trong khoảng 4-7 g/l bao gồm triclycerid, phospholipid, steroid... lipid được vận chuyển trong huyết thanh dưới dạng các hạt lipoprotein. Các hạt này có cấu tạo theo nguyên tắc phần lõi là phần lipid không phân cực như triglycerid, cholesterol este hóa, dầu không phân cực của phospholipid, cholesterol tự do, protein; phần ngoài hạt là phần phân cực của phospholipid, cholesterol tự do và protein. Tùy theo tỷ trọng của các hạt mà người ta phân ra:

– α -lipoprotein hoặc lipoprotein có tỷ trọng cao (high density lipoprotein viết tắt là HDL) di chuyển cùng α -globulin, giàu phospholipid và protein. Nồng độ HDL trong huyết thanh của nam: 1,25-4,25 g/l; nữ 2,5-6,5 g/l.

– β -lipoprotein hoặc lipoprotein có tỷ trọng thấp (low density lipoprotein : LDL) di chuyển điện di cùng α -globulin. LDL giàu cholesterol, nồng độ huyết thanh khoảng 3-4,5 g/l.

– Pre- β -lipoprotein hoặc lipoprotein có tỷ trọng rất thấp (very low density lipoprotein viết tắt là VLDL) khi điện di nằm giữa α và β lipoprotein. VLDL là dạng vận chuyển chủ yếu của triglycerid nội sinh.

Chylomicron không di chuyển khi điện di. Nó được tổng hợp ở thành ruột khi hấp thụ triglycerid và cholesterol ngoại sinh. Sau đó chylomicron theo bạch mạch vào ống ngực rồi vào máu. Đây là dạng vận chuyển của triglycerid.

Tỷ trọng của các lipoprotein phụ thuộc vào phần protein gọi là apoprotein. Có nhiều loại apoprotein khác nhau.

Cholesterol máu tồn tại dưới hai dạng cholesterol tự do và cholesterol este hóa. Cả hai đều là thành phần cấu tạo của các hạt lipoprotein. Nồng độ cholesterol toàn phần trong huyết thanh từ 1,5-2,0 g/l hay 4,0-6,5 mmol/l (trong đó tự do: 1,1-1,6 g/l; este hóa: 0,35-0,9g/l). Tỷ số giữa cholesterol este hóa và cholesterol toàn phần bình thường dao động trong khoảng 0,6-0,75. Tỷ số này có giá trị trong việc đánh giá chức năng gan.

- Glucid

Glucid trong máu là glucose. Nồng độ glucose bình thường trong khoảng 80-120 mg% hay 4,95-6,63 mmol/L. Nồng độ này được điều hòa bởi hệ thống hormon và gan. Glucose máu tăng nhẹ sau bữa ăn hay sau những stress. Những trường hợp bệnh lý gây tăng glucose máu như đái tháo đường do các nguyên nhân khác nhau như: do tuyến yên, tụy, tuyến giáp, tuyến thượng thận. Glucose máu giảm trong những trường hợp thiếu ăn, đái tháo thận, thiếu năng tuyến yên và tuyến thượng thận...

Ngoài ra trong máu còn có các chất nitơ không phải protid như: urê (3,537 mmol/l); acid uric (190-420 μ mol/l); bilirubin (tự do: 2-8 mg/l ; toàn

phân 10 mg/l) ; creatinin (nam: 83,33 20,50 mol/L ; nữ: 64,95 19,80 mol/L) ; creatin (1-1,5 mg/l) ; NH₃ (bình thường rất ít). Trong máu còn có các enzym và các enzym này được chia thành hai nhóm: *i*) nhóm enzym huyết thanh có chức năng như các enzym trong chu trình đông máu... *ii*) nhóm các enzym không có chức năng như *phosphatase* kiềm, *amylase* LDH, GOT... sự thay đổi nồng độ các enzym này có giá trị trong việc chẩn đoán, theo dõi và tiên lượng nhiều tình trạng bệnh lý của các cơ quan trong cơ thể.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Thành phần chính của máu, vai trò và chức năng.
2. Thành phần vô cơ của máu, vai trò và thay đổi bệnh lý.
3. Protein trong huyết thanh, chức năng và thay đổi bệnh lý.

Chương 20

HÓA SINH CƠ

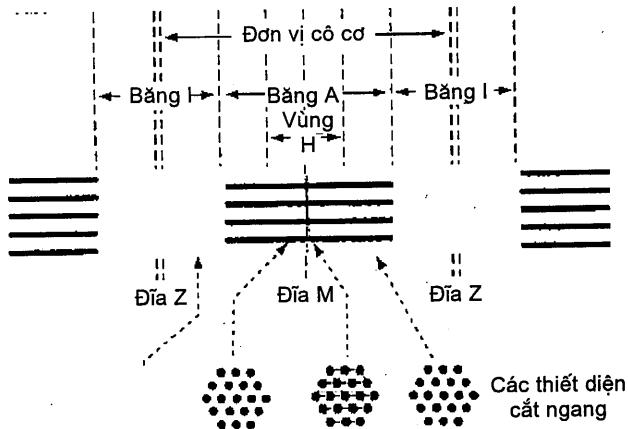
MỤC TIÊU

- Trình bày được cấu trúc của cơ vân và vai trò các protein của cơ vân.
- Trình bày được sự co cơ vân.
- Trình bày được các nguồn năng lượng co cơ vân.

Trong cơ thể, mô cơ được chia làm ba loại: cơ vân (còn được gọi là cơ xương), cơ trơn (cơ không có vân) và cơ tim. Mô cơ chiếm khoảng 40% trọng lượng cơ thể. Cơ có một khả năng đặc biệt là co duỗi. Nhờ khả năng này, cơ có thể thực hiện nhiều chức năng sinh lý quan trọng như vận động, tuần hoàn, hô hấp, bài tiết, thực hiện trạng thái thăng bằng cơ thể,... Trong bài này, chúng ta chủ yếu tìm hiểu cấu trúc và cơ chế co cơ vân.

1. CẤU TRÚC CỦA CƠ VÂN

Cơ vân là loại cơ có vân, được co rút theo ý muốn của con người. Cơ vân gồm các bó cơ có đường kính từ 20 đến 100 μm . Các bó cơ này được tạo thành bởi các sợi cơ là các tế bào đa nhân khổng lồ có thể có chiều dài toàn bộ một cơ và có thể lớn lên trong quá trình phát triển của cơ. Trong phần bào tương của tế bào cơ có nhiều tơ cơ, các tơ cơ này có thể kéo dài toàn bộ chiều dài của một sợi cơ. Dưới kính hiển vi điện tử, hình ảnh tơ cơ của các tế bào cơ vân gồm những vùng sáng tối rõ rệt. Các vùng sẫm hơn là băng A, các vùng nhạt hơn là băng I. Các đơn vị được lắp lại của tơ cơ được gọi là đơn vị co cơ (sarcomere). Đơn vị cơ gồm băng A và 2 nửa băng I, có chiều dài từ 2,5 đến 3 μm khi cơ giãn, nhưng ngắn dần khi cơ co, được giới hạn bởi hai đĩa Z (đĩa Z nằm ở giữa các băng I). Nằm giữa các băng A là đĩa M.



Hình 20.1. Cấu trúc của cơ vân

Cơ vân gồm hai loại sợi, sợi dày và sợi mỏng. Các vùng tối hơn của các băng A được tạo thành do hai loại sợi này đan xen nhau (Hình 20.1).

1.1. Sợi dày

Các sợi dày của cơ của động vật có xương sống được tạo thành bởi một loại protein duy nhất là *myosin*. Myosin là một phân tử rất lớn có khối lượng phân tử 470 kDa, chứa 6 chuỗi polypeptid, gồm: 2 chuỗi nặng (mỗi chuỗi có khối lượng phân tử 230 kDa) và 4 chuỗi nhẹ (có khối lượng phân tử 18 kDa và 20 kDa). Vì ảnh điện tử cho thấy myosin là một protein có hình dạng đặc biệt, gồm phần đầu hình cầu gắn với phần đuôi dài hình gãy. Phần đầu tận N của chuỗi cuộn lại thành một hình cầu có kích thước khoảng 55 × 200 Å, phần đầu C tận lại tạo thành một sợi polypeptid xoắn kép α có chiều dài khoảng 1600 Å.

Myosin có thể bị thuỷ phân bởi enzym trypsin thành các đoạn có hoạt tính sinh học gọi là đoạn meromyosin nhẹ (light meromyosin: LMM) và đoạn meromyosin nặng (heavy meromyosin: HMM). Đoạn meromyosin nhẹ là một chuỗi xoắn kép α hình gãy, dài 850 Å. Đoạn meromyosin nặng gồm một đoạn hình gãy gắn với một đầu hình cầu đôi, đoạn này có thể bị thuỷ phân thêm nữa bởi enzym papain thành 2 phân đoạn nhỏ hình cầu được gọi là phân đoạn meromyosin nặng S-1 (HMM S-1) và một phân đoạn hình gãy được gọi là phân đoạn meromyosin nặng S-2 (HMM S-2). Mỗi phân đoạn HMM S-1 chứa một vị trí có hoạt tính ATPase và một vị trí gắn actin (Hình 20.2).

Myosin chỉ tồn tại dưới dạng các phân tử đơn trong môi trường có lực ion thấp. Tuy nhiên, ở điều kiện sinh lý, các protein này kết hợp với nhau tạo thành các sợi dày. Sợi dày tự nhiên chứa khoảng vài trăm phân tử myosin, với các đuôi được sắp xếp xen kẽ với nhau. Do đó, sợi dày có hai đầu cực là các đầu myosin hình cầu.

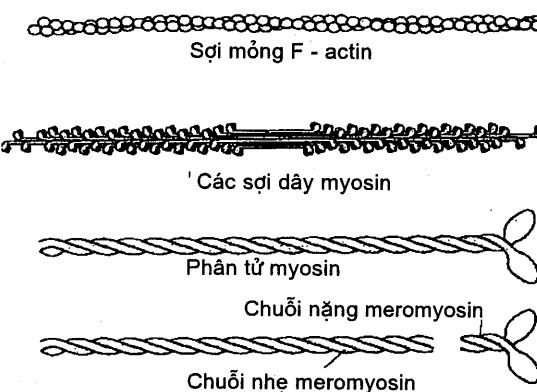
Ngoài vai trò cấu trúc, chuỗi nặng của myosin còn có hoạt tính của ATPase, thuỷ phân ATP thành ADP và Pi để thúc đẩy sự co cơ. Vì vậy, co cơ là một quá trình chuyển năng lượng hóa học từ sự thuỷ phân ATP thành năng lượng cơ học. Các chuỗi nhẹ của myosin nhờ sự phosphoryl hóa có tác dụng điều chỉnh hoạt tính ATPase của chuỗi nặng.

1.2. Sợi mỏng

Sợi mỏng gồm các protein là actin, tropomyosin và troponin.

1.2.1. Actin

Cấu trúc: actin là một protein có phổ biến ở tế bào



Hình 20.2. Cấu trúc sợi mỏng F-actin, sợi dày myosin và sản phẩm thuỷ phân myosin bởi trypsin.

thật (eukaryote) có khối lượng phân tử 4 kDa. Trong môi trường có lực ion thấp, actin tồn tại ở dưới dạng các chuỗi đơn như những hình cầu có hai thuỷ gọi là G-actin, mỗi chuỗi gắn với một phân tử ATP. Dưới các điều kiện sinh lý, G-actin được polymer hóa để tạo thành các sợi được gọi là các sợi F-actin nhờ sự thủy phân ATP thành ADP và Pi, trong đó ADP vẫn còn gắn vào đơn vị F-actin. F-actin tạo nên phần lõi của sợi mỏng. Mỗi đơn vị chuỗi đơn của F-actin có khả năng gắn vào đầu S1 của một phân tử myosin riêng biệt. Do đó, F-actin là một phân tử có cực. Các bó sợi mỏng đều xuất phát từ hai phía của đĩa Z.

Có ít nhất 6 loại actin, có chuỗi polypeptid gần giống nhau, được gọi là các dạng phân tử (isoforms). Các dạng phân tử của actin có chức năng co cơ khác nhau. Actin của cơ vân khác với actin của cơ tim, cũng khác với actin của cơ trơn, cũng khác với actin của các tế bào không phải tế bào cơ.

Chức năng: actin có vai trò chủ yếu trong quá trình di chuyển của nhiều loại tế bào, kể cả sự co cơ.

1.2.2. Tropomyosin

Cấu trúc: tropomyosin được tạo thành từ hai chuỗi polypeptid, mỗi chuỗi có khối lượng phân tử 66 kDa, tạo nên một cuộn xoắn α song song. Các phân tử hình roi dài 400 Å được gắn liên tiếp đầu - đuôi, tạo thành các sợi nằm ở vùng xoắn của F-actin sao cho mỗi phân tử tropomyosin gắn với bảy chuỗi đơn của actin theo cách tương tự như nhau.

Chức năng: tropomyosin đóng vai trò điều chỉnh sự tương tác của actin và myosin trong quá trình co cơ.

1.2.3. Troponin

Cấu trúc: troponin là một phức hợp có khối lượng phân tử 76 kDa, gồm ba chuỗi polypeptid là troponin T (37 kDa), troponin I (23 kDa) và troponin C (18 kDa). Mỗi tropomyosin gắn một phức hợp troponin.

Chức năng: phức hợp troponin gắn với tropomyosin để điều chỉnh sự co cơ thông qua ion Ca^{2+} . Mỗi chuỗi polypeptid của phức hợp troponin thể hiện hoạt tính khác nhau để thực hiện chức năng đầy đủ của phức hợp.

- Troponin T gắn với tropomyosin.
- Troponin I gắn với actin.
- TnC gắn Ca^{2+} .

1.3. Các protein khác của cơ

Ngoài myosin và actin, trong thành phần cấu tạo của cơ còn có các protein khác. Các protein phụ này có vai trò kiểm soát sự lắp ráp sợi cơ. Đĩa Z là nơi neo đậu của hai sợi mỏng đối ngược nhau, cũng là một vị trí chứa một số protein sợi, gồm các protein:

α-actinin: protein này gắn vào đầu tận của sợi F-actin ở phía trong của đĩa Z, nên được cho là có vai trò đối với sự gắn của các sợi mỏng vào đĩa Z.

Desmin và *vimentin*: hai protein này gắn vào bên cạnh đĩa Z, có tác dụng giữ cho các sợi cơ bên cạnh nằm sát nhau.

Tinin, một phân tử protein gồm 33.000 gốc acid amin, có khối lượng phân tử 3.600 kDa, là một phân tử protein lớn nhất được biết cho đến nay (không thể được lọc qua gel acrylamide) kéo dài từ sợi dày đến đĩa Z, tác dụng như một chốt dựa để giữ cho sợi dày tập trung vào đơn vị co cơ. Tinin có thể kiểm soát độ dài của sợi dày.

Nebulin cũng là một phân tử protein rất lớn, gồm khoảng 7.000 gốc acid amin, khối lượng phân tử khoảng 800 kDa, chạy dọc theo 80% chiều dài của sợi actin. Việc gắn của nó vào đĩa Z và chạy dọc theo chiều dài sợi actin của nebulin gợi ý rằng nó có tác dụng kiểm soát độ dài của actin.

C-protein và *M-protein*: có vai trò trong việc tham gia vào sự lắp ráp các sợi dày.

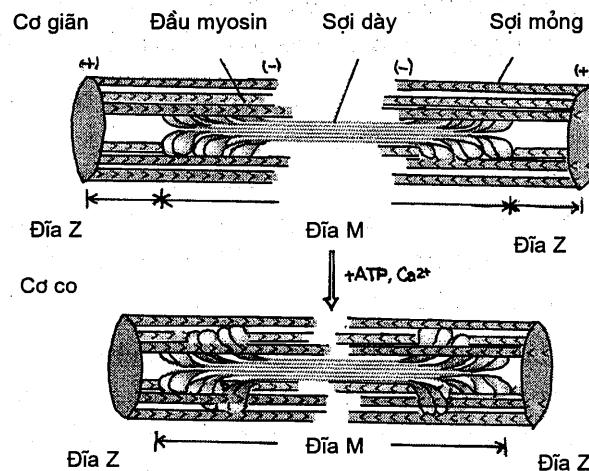
Myoglobin: là một chuỗi polypeptid gồm 153 acid amin, có chức năng dự trữ và vận chuyển oxy cho ty thể của tế bào cơ. Để thực hiện chức năng này, myoglobin phải có khả năng gắn oxy ở áp lực oxy thấp ở mô cơ khi hemoglobin mang oxy tới.

2. SỰ CO CƠ VÂN

Khi cơ co, chiều dài của các đơn vị co cơ giảm đi. Tuy nhiên, trên kính hiển vi điện tử, người ta thấy rằng độ rộng của băng I và của vùng H giảm đi, trong khi chiều dài của các sợi dày và sợi mỏng không thay đổi. Như vậy, để co cơ, các đầu S_1 của sợi dày (myosin) kéo các sợi mỏng (actin) từ 2 phía về đĩa M, làm cho các phần của các sợi dày và sợi mỏng trượt lên nhau và cài vào nhau, làm cho các đĩa Z sát lại gần nhau, chiều dài của cơ sẽ ngắn đi 1/3 so với khi cơ nghỉ (Hình 20. 3).

2.1. Cơ chế co cơ vân

Khi một xung động thần kinh tác động vào điểm nối thần kinh cơ của cơ vân, Ca^{2+} được giải phóng vào vùng đơn vị co. Ion Ca^{2+} gắn vào troponin C, gây nên một sự thay đổi hình dạng của actin



Hình 20. 3. Sự trượt của các sợi dày (myosin) trên các sợi mỏng (actin) trong quá trình co cơ

và làm cho myosin gắn vào actin, tạo thành phức hợp actin-myosin. Quá trình co cơ được thực hiện qua quá trình ghép cặp giữa sự thuỷ phân ATP và sự trượt của đầu myosin dọc theo sợi actin, bắt đầu từ phức hợp actin-myosin (được gọi là phức hợp Rigor), gồm 4 giai đoạn như sau (Hình 20. 5).

1. Một phân tử ATP gắn vào vị trí gắn ATP đang mở tự do ở phần đầu S1 của sợi myosin, làm mở khe hở ở vị trí gắn actin của myosin và làm cho đầu S1 của sợi myosin tách khỏi sợi actin.

2. Enzym ATPase ở đầu S1 của myosin thuỷ phân ATP thành ADP và Pi, năng lượng sinh ra làm “dụng” phân tử myosin dậy, đưa nó vào “trạng thái năng lượng cao”, làm cho đầu S1 hướng gần như vuông góc với sợi actin và chuyển dịch về đĩa Z đến gắn vào một tiểu đơn vị mới trên phân tử actin.

3. Sự tách Pi ở đầu S1 của myosin dẫn đến việc đóng khe hở của đầu myosin, làm đầu S1 của myosin gắn chặt hơn vào actin, tạo nên trạng thái chuyển tiếp trung gian.

Trạng thái chuyển tiếp trung gian này ngay lập tức gây nên “một hoạt động có hiệu quả”, làm cho đầu S1 của myosin di chuyển một bước khoảng 60 Å dọc theo sợi actin về phía đĩa Z, điều này cũng có nghĩa là kéo sợi actin về phía đĩa M.

4. ADP được giải phóng, phức hợp actin-myosin với đầu S1 của myosin đã bước được một bước dọc theo sợi actin, trở lại trạng thái ban đầu, vị trí gắn ATP lại được mở tự do để sẵn sang tiếp nhận phân tử ATP mới để lại bước vào một chu trình co cơ tiếp theo.

Mỗi chuỗi phản ứng này có đến khoảng 500 đầu S1 trên mỗi chuỗi dày được dịch chuyển một cách không đồng thời với tốc độ khoảng 5 lần trong một giây. Sự chuyển dịch các đầu S1 của myosin trên sợi mỏng actin về phía đĩa Z cũng có tác dụng kéo đĩa Z từ 2 phía về phía đĩa M, cơ sẽ bị co lại.

Khi Ca^{2+} tách khỏi đơn vị co cơ, tách khỏi phân tử troponin C và nồng độ của Ca^{2+} giảm xuống trạng thái nghỉ, sự thay đổi hình dạng của troponin C dẫn đến sự thay đổi hình dạng troponin I và tropomyosin, điều này làm các vị trí gắn Ca^{2+} của phức hợp actin-myosin đóng lại. ATP lại gắn vào myosin thay thế ADP nhưng hoạt độ ATPase bị ức chế và phức hợp actin-myosin bị phân ly. Lúc này cơ ở trạng thái nghỉ.

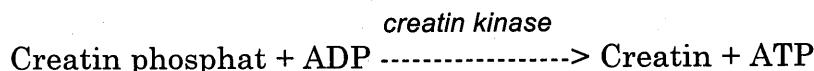
Các chuỗi nhẹ của myosin có chức năng làm tăng tốc độ co cơ: tốc độ trượt của các chuỗi nặng của myosin dọc theo sợi actin bị giảm đi 10 lần khi loại bỏ các chuỗi nhẹ của myosin đi. Các chuỗi nhẹ của myosin có tác dụng như một cánh tay đòn làm khuếch đại sự thay đổi hình dạng để tạo nên “một hoạt động có hiệu quả”, làm cho đầu S1 của myosin bước một bước dọc theo sợi actin về phía đĩa Z.

2.2. Năng lượng co cơ vân

2.2.1. ATP tự do: hợp chất dự trữ năng lượng phổ biến nhất đối với phần lớn các quá trình hóa sinh, đặc biệt là đối với sự co cơ là ATP. Dưới tác dụng của enzym ATPase, ATP bị thuỷ phân, liên kết pyro phosphat tận cùng bị đứt, năng lượng dự trữ trong liên kết này được giải phóng, cung cấp cho sự co cơ:

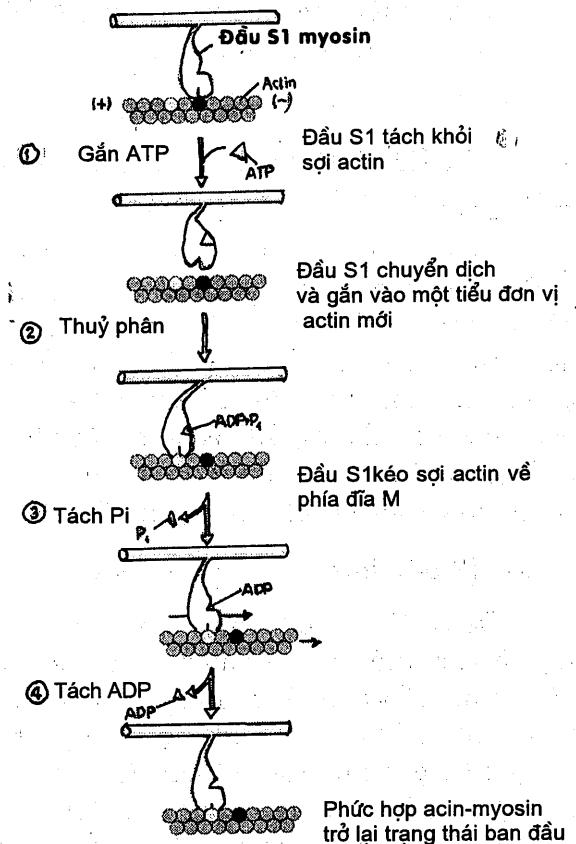
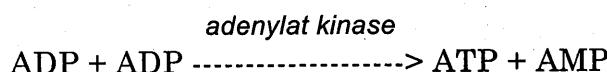


2.2.2. Creatin phosphat: ATP là nguồn năng lượng mà cơ thể có thể sử dụng trực tiếp cho sự co cơ. Tuy nhiên, hàm lượng của ATP tự do trong tế bào cơ rất thấp (chỉ khoảng 5 micromol/g cơ tươi), chỉ đủ cho 2-3 lần co cơ hoặc 1 đến 2 giây hoạt động co cơ bắp nặng. Do đó, cơ thể luôn cố gắng để cung cấp đầy đủ ATP cho cơ hoạt động. Điều này có thể đạt được với một tốc độ rất lớn bằng cách sử dụng một hợp chất giàu năng lượng thứ hai, đó là *creatine phosphat*. Chất này có thể ngay lập tức chuyển nhóm phosphat của nó cho ADP nhờ tác dụng của enzym *creatine kinase* (CK) để tạo ATP theo phản ứng:



Mặc dù hàm lượng creatine phosphat là 15-20 micromol/g cơ tươi, nghĩa là gấp khoảng 3-4 lần nồng độ ATP tự do trong cơ, nhưng nó cũng chỉ cho phép cung cấp ATP cho cơ hoạt động thêm một thời gian rất ngắn, nghĩa là chỉ khoảng 6-7 giây.

2.2.3. ADP: ở thời điểm nồng độ ADP cao nhất do sự thuỷ phân ATP để cung cấp năng lượng cho sự co cơ sinh ra, ADP cũng có thể kết hợp với phân tử ADP thứ hai dưới tác dụng của enzym *adenylat kinase* để tạo thành một phân tử ATP và một phân tử AMP theo phản ứng sau:



Hình 20. 5. Cơ chế co cơ vân

Tuy nhiên, cách hình thành ATP thứ hai này ít thuận lợi bởi vì nó làm giảm hàm lượng ADP trong cơ.

2.2.4. Con đường đường phân yếm khí và ái khí

Như trên đã thấy, khả năng cung cấp năng lượng tức thì của ATP và creatin phosphat chỉ cho phép cơ hoạt động trong khoảng 7 đến 8 giây.

Cơ cũng có thể sử dụng một trong hai con đường chuyển hóa glucuse là con đường hexokinase diphosphat trong điều kiện ái khí và trong điều kiện yếm khí để bổ sung ATP cho cơ. Thực chất, hai con đường này chỉ khác nhau từ chuyển hóa của pyruvat trở đi. Mỗi phân tử glucose thoái hóa theo con đường đường phân yếm khí cung cấp 2 phân tử ATP. Trong khi đó, mỗi phân tử glucose thoái hóa theo con đường đường phân ái khí cung cấp 36 hoặc 38 phân tử ATP. Tuy nhiên, sự thoái hóa của glucose theo cả con đường yếm khí và con đường ái khí cũng chỉ có thể cung cấp lượng ATP để cơ hoạt động vài phút.

2.2.5. Thoái hóa lipid và protein

Để có thể co cơ trong một thời gian dài hơn, cơ phải sử dụng năng lượng lấy từ các quá trình chuyển hóa các chất lipid và protein (acid amin). Nguồn này cung cấp trên 95% năng lượng để co cơ trong một thời gian dài. Trong 3 loại chất cơ bản là glucid, lipid và protein thì lipid là loại chất cung cấp nhiều năng lượng nhất. Các glucid (carbohydrat) và các protein (nghĩa là các acid amin) có giá trị năng lượng là 3 đến 4 kcal/g trong khi lipid (nghĩa là các acid béo chuỗi dài như palmitat hoặc triglycerid như tripalmitin) có giá trị năng lượng cao gấp gần 3 lần (9,30 kcal/g) (Bảng 20-1).

Bảng 20.1. Sự thay đổi năng lượng tự do và giá trị năng lượng của các chất chuyển hóa khác nhau

Cơ chất	Trọng lượng phân tử	ΔG° (kcal/mol)	Năng lượng (kcal/g)
Glucose	180	- 686	3,81
Lactat	90	- 326	3,62
Palmitat	256	- 2380	9,30
Tripalmitin	809	- 7510	9,30
Glycin	75	- 234	3,12

Sở dĩ lipid có giá trị năng lượng cao hơn carbohydrate hoặc protein vì trạng thái oxy hóa trung bình của các nguyên tử C của các phân tử lipid có trị số nhỏ hơn của các phân tử carbohydrate hoặc protein. Trạng thái oxy hóa của nguyên tử C của carbohydrate và lipid như sau:

Carbohydrat: =CH-OH, -CH=O, -CH₂-OH; lipid: -CH₂-

Các nguyên tử C trong carbohydrate dễ bị oxy hóa hơn các C nguyên tử C trong lipid. Vì vậy, trong quá trình thoái hóa, số đương lượng khử (số H⁺ + e⁻) được tách từ lipid nhiều gấp gần 3 lần được tách ra từ carbohydrate hoặc protein. Các đương lượng khử này có thể được sử dụng để tổng hợp ATP trong quá trình vận chuyển H⁺ và điện tử trong chuỗi hô hấp tế bào ở ty thể.

2.3. Điều hoà sự co cơ vân. Phân tử điều hoà chủ yếu của sự co cơ vân là ion Ca^{2+} .

Sự co cơ vân được kích thích bởi các xung động thần kinh vận động. Các xung động thần kinh có tác dụng khởi động sự co cơ theo cơ chế như sau:

– *Khi cơ nghỉ*: troponin gắn dọc theo rãnh của actin làm cho đầu S1 của myosin không gắn được vào actin. Bình thường, màng lưới cơ tương không thấm Ca^{2+} , chứa enzym Ca^{2+} -ATPase có tác dụng bơm Ca^{2+} vào lưới cơ tương để duy trì nồng độ Ca^{2+} trong dịch bào khi cơ nghỉ ở mức độ thấp dưới 10^{-7} M , trong khi nồng độ Ca^{2+} trong lưới cơ tương là trên 10^{-3} M . Khả năng bảo quản Ca^{2+} của lưới cơ tương là do một protein khống lượng phân tử 55 kD có hoạt tính cao (thành phần có tới 37% Asp và Glu) tên là *calsequestin*, có khả năng gắn trên 40 ion Ca^{2+} .

– *Khi cơ co*: sự đến của một xung động thần kinh làm tăng sự thấm của lưới cơ tương đối với Ca^{2+} trong vài phần nghìn giây, làm các Ca^{2+} khuếch tán nhanh qua các kênh Ca^{2+} vào trong dịch bào của sợi cơ, làm tăng nồng độ Ca^{2+} trong sợi cơ lên khoảng 10^{-5} M . Nồng độ Ca^{2+} này đủ kích thích sự thay đổi hình dạng của phức hợp troponin-tropomyosin, cho phép sự co cơ bắt đầu.

Cơ giãn trở lại: khi kích thích co cơ giảm, màng cơ tương trở nên không thấm đối với Ca^{2+} , Ca^{2+} bên trong cơ tương lại được bơm ngược trở vào lưới cơ tương, làm nồng độ Ca^{2+} trong cơ tương giảm mạnh, gây nên sự giãn cơ.

3. SỰ CO CƠ TRƠN

Ngoài cơ vân, các động vật có xương sống còn có hai loại cơ khác là cơ tim (cardiac muscle) và cơ trơn (smooth muscle). Cơ tim có cấu trúc tương tự như cơ vân, nhưng được cấu trúc phù hợp với hoạt động bơm của tim. Cơ tim khác cơ vân chủ yếu về chuyển hóa vì nó phải hoạt động liên tục trong suốt quá trình sống nên nó phụ thuộc vào chuyển hóa ái khí nhiều hơn cơ vân. Sự co cơ tim của động vật có xương sống được khởi động liên tục bởi bản thân cơ tim hơn là do sự kích thích thần kinh từ bên ngoài, mặc dù sự kích thích thần kinh có thể ảnh hưởng đáp ứng của cơ tim. Trái lại, cơ trơn có cấu trúc khác rất nhiều so với cơ vân, thường tự động co rút một cách chậm chạp, kéo dài và không có ý thức. Ví dụ: sự co giãn của các cơ trơn thành ruột, tử cung, các mạch máu lớn, ... Cơ trơn được tạo thành từ các tế bào đơn nhân hình ống nhỏ. Các sợi dày và mỏng của cơ trơn ít nhiều có thể được xếp theo chiều dài của tế bào nhưng không tạo nên các sợi cơ.

Myosin của cơ trơn có sự khác biệt với myosin của cơ vân ở một vài điểm:

– Hoạt độ ATPase tối đa của myosin cơ trơn chỉ bằng khoảng 10% hoạt độ ATPase của myosin của cơ vân.

– Myosin của cơ trơn chỉ tương tác với actin khi một gốc Ser đặc biệt ở một trong các chuỗi nhẹ của nó được phosphoryl hóa.

– Myosin của cơ trơn tạo nên các sợi dày với số liên kết ngang ít hơn so với các sợi dày do myosin tạo nên của cơ vân.

3.1. Sự co cơ trơn được khơi mào bởi Ca^{2+}

Các sợi mỏng của cơ trơn chứa actin và tropomyosin nhưng không chứa troponin. Tuy nhiên, sự co cơ trơn cũng được kích thích bởi Ca^{2+} bởi vì enzym *kinase* của chuỗi nhẹ của myosin—một enzym có tác dụng phosphoryl hóa các chuỗi nhẹ của myosin—kích thích cơ trơn co. Enzym này chỉ được hoạt hóa khi nó được gắn với một protein đặc biệt là Ca^{2+} -calmodulin.

Nồng độ Ca^{2+} trong tế bào thay đổi theo độ thấm của màng bào tương của tế bào cơ trơn đối với Ca^{2+} , được kiểm soát bởi một hệ thống thần kinh đặc biệt. Khi nồng độ Ca^{2+} tăng lên đến khoảng 10^{-5} M, sự co cơ trơn được bắt đầu. Khi nồng độ Ca^{2+} giảm xuống đến khoảng 10^{-7} M, do tác dụng của Ca^{2+} -ATPase của màng bào tương, kinase của chuỗi nhẹ myosin bị bất hoạt, chuỗi nhẹ của myosin bị khử phosphoryl hóa bởi enzym *phosphatase* có ở chuỗi nhẹ của nó, cơ trơn sẽ bị giãn. Thật sự, Ca^{2+} cũng như cAMP, là một thông tin thứ hai, có tác dụng truyền các tín hiệu trong tế bào. Trong nhiều trường hợp, Ca^{2+} là một thông tin thứ hai trong khi calmodulin thường là một chất nhận tín hiệu trong tế bào.

3.2. Sự hoạt động của cơ trơn được điều khiển bởi hormon

Cơ trơn cũng đáp ứng với hormon, ví dụ như epinephrin. Sự gắn của epinephrin vào receptor gắn màng bào tương của cơ trơn có tác dụng hoạt hóa enzym *adenylat cyclase*. Enzym này có tác dụng thuỷ phân ATP thành cAMP và Pi. cAMP được sản sinh trong dịch bào gắn và gây nên sự phân ly của một dimer điều hoà là R_2 của một protein kinase dạng không hoạt động là R_2C_2 , tạo nên sự hoạt hóa các tiểu đơn vị có khả năng xúc tác sự phosphoryl hóa kinase của chuỗi nhẹ. Kinase của chuỗi nhẹ được hoạt hóa chỉ gắn vào Ca^{2+} -calmodulin một cách yếu ớt, làm cho cơ trơn bị giãn. Ví dụ: khi bị hen, do sự co quá mức của phế quản, người ta thường điều trị làm thông khí phế nang bằng khí dung chứa epinephrin có tác dụng làm giãn phế quản.

Sự xuất hiện các sự kiện dẫn đến sự co cơ trơn thường chậm hơn rất nhiều so với sự xuất hiện các sự kiện dẫn đến sự co cơ vân. Thật sự, cấu trúc và hoạt động của cơ trơn làm nó phù hợp với chức năng của nó, đó là duy trì trương lực trong một thời gian dài với một mức độ tiêu thụ ATP thấp hơn nhiều so với cơ vân khi cùng thực hiện một nhiệm vụ. Do đó, sự giống nhau về cấu trúc và chức năng giữa TnC và calmodulin, người ta gợi ý rằng TnC là một biến thể của calmodulin, TnC đã tiến hóa hơn ở cơ vân để tạo nên một đáp ứng nhanh đối với sự có mặt của Ca^{2+} .

4. SỰ CHUYỂN ĐỘNG CỦA CÁC TẾ BÀO KHÁC

Mặc dù actin và myosin chiếm ưu thế nhất ở cơ, chúng vẫn có mặt ở các tế bào khác. Trong thực tế, actin là một protein có ở nhiều nơi và thường gấp ở các tế bào nhân thật, chiếm từ 5 đến 10% protein toàn phần của các tế bào này. Trái lại, số lượng myosin chỉ bằng khoảng 1/10 số lượng của actin. Tỷ lệ

này cũng cho thấy ngoài vai trò co cơ trong hệ thống actin-myosin, actin còn có vai trò trong một số hệ thống chuyển động không phụ thuộc myosin, cũng như vai trò làm thành phần bộ khung của tế bào.

4.1. Actin tạo nên các sợi có khả năng co rút

Trong khi actin trong cơ tạo thành các sợi mỏng thì actin ở các tế bào không phải cơ có một tỷ lệ cân bằng giữa G-actin và F-actin, tạo thành các vi sợi. Trong điều kiện sinh lý, G-actin được polymer hóa nhờ sự có mặt của ATP. Sự tập hợp và phân ly của các vi sợi phụ thuộc vào số lượng của các protein gắn actin. Ví dụ: profilin-một protein có khối lượng phân tử 16 kD-gắn vào G-actin với tỷ lệ 1:1 tạo nên phức hợp profilactin có tác dụng ngăn cản sự polymer hóa actin. Profilactin có nhiều ở đầu tinh trùng. Sự tiếp xúc với vỏ trứng làm tăng pH ở đầu tinh trùng, kích thích làm phân ly profilactin thành G-actin và protein gắn actin. G-actin mới được giải phóng làm bùng nổ một sự polymer hóa, tạo nên một bó các sợi F-actin dựng lên trong vài giây, làm cho đầu tinh trùng lồi ra, đâm xuyên qua lớp vỏ trứng để bắt đầu sự hoà màng giữa tinh trùng và trứng, mở đầu cho sự thụ tinh.

Sự tập hợp và phân tán của các sợi actin cũng đóng vai trò quan trọng trong sự chuyển động của các tế bào không phải cơ như sự chuyển động của amip, sự thực bào, sự thò ra, thụt vào của màng tế bào, sự chuyển động của các vi nhung mao hoặc sự chuyển động của các sợi trực thần kinh.

4.2. Actomyosin cũng có khả năng co rút

Myosin ở các tế bào không phải cơ tạo thành các sợi dày ở các vi bản cũng có tác dụng co rút. Một trong những quá trình co rút do myosin là quá trình phân chia tế bào ở các tế bào động vật và đơn bào. Trong giai đoạn cuối của sự phân bào, một khe nứt được hình thành vòng quanh vùng xích đạo của tế bào được phân chia, nằm vuông góc với trục tế bào. Khe nứt này được tạo thành với sự tham gia của một dải actomyosin. Chính sự co rút của phân tử actomyosin đã tạo nên sự phân chia của tế bào. Các tiểu cầu cũng chứa actomyosin. Sự co rút của tiểu cầu cũng được bắt đầu bởi sự hoạt hóa Ca^{2+} -calmodulin của kinase chuỗi nhẹ của myosin giống như quá trình xảy ra đối với cơ trơn.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày cấu trúc của cơ vân và vai trò của các protein của cơ vân.
2. Trình bày sự co cơ vân.
3. Trình bày năng lượng co cơ vân.

Chương 21

HÓA SINH THẦN KINH

MỤC TIÊU

1. Trình bày được sự chuyển hóa các chất trong mô thần kinh.
2. Trình bày được cơ chế dẫn truyền thần kinh.
3. Trình bày được chuyển hóa của các chất dẫn truyền thần kinh phân tử nhỏ và phân tử lớn.

Mô thần kinh gồm có não và thần kinh ngoại biên, là một trong các mô có các vấn đề phức tạp nhất về sự liên quan giữa cấu trúc và chức năng.

Mặc dù mô thần kinh chỉ chứa một vài loại tế bào, trong đó chủ yếu là các tế bào thần kinh hay còn gọi là neuron, nhưng mô thần kinh, đặc biệt là vỏ đại não lại đóng một vai trò chủ đạo trong việc điều hoà các chức năng của toàn cơ thể.

Mỗi neuron có thể tiếp nối với một hoặc nhiều neuron khác, phần tiếp nối được gọi là synap. Mỗi neuron có thể đáp ứng hoặc không đáp ứng lại những kích thích hoặc ức chế được truyền tới.

Những năm gần đây, nhờ sự phát triển của nhiều ngành khoa học kỹ thuật, đặc biệt là của các kỹ thuật nghiên cứu về sinh y học phân tử, con người đã đạt được nhiều thành tựu nghiên cứu về cấu trúc, chức năng về thần kinh, đặc biệt là về cơ chế dẫn truyền xung động thần kinh, một số cơ chế điều hoà hoạt động thần kinh và vấn đề trí nhớ, bước đầu đi vào việc sử dụng các tế bào gốc trong điều trị có hiệu quả một số bệnh não nan giải như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, ...

Sự khác nhau cơ bản giữa mô thần kinh với các mô khác là khả năng tương tác của phức hợp có tính tổ chức cao của hệ thống thần kinh với các mô và cơ quan khác của cơ thể thông qua đáp ứng của các neuron nhờ sự dẫn truyền xung động thần kinh qua các synap.

1. CHUYỂN HÓA CÁC CHẤT TRONG MÔ THẦN KINH

Chuyển hóa các chất ở mô thần kinh xảy ra mạnh mẽ nhằm cung cấp năng lượng cho các hoạt động phức tạp của não.

Não sử dụng một lượng oxy rất lớn để phục vụ cho sự hô hấp tế bào xảy ra rất mạnh. Khi phân tích máu động mạch đến và tĩnh mạch từ não ra, người ta thấy cứ 100g não tiêu thụ 3,3 ml oxy trong 1 phút, lớn hơn 20 lần lượng oxy cơ tiêu thụ lúc nghỉ ngơi. Não người chỉ chiếm 2% thân trọng nhưng tiêu thụ một lượng oxy từ 20 đến 35% tổng lượng oxy tiêu thụ của cả cơ thể. Não rất nhạy cảm với tình trạng thiếu oxy, não chỉ chịu được tình trạng thiếu oxy trong 5-6 phút, sự thiếu oxy quá 6 phút sẽ gây tổn thương không hồi phục ở não.

Tình trạng thiếu oxy không chỉ ảnh hưởng trực tiếp đến mô thần kinh mà còn làm trở ngại cho quá trình tái tạo ATP, gây rối loạn chuyển hóa chất ở não.

1.1. Chuyển hóa glucid ở mô thần kinh

Hệ thống thần kinh tạo nên một mạng thông tin giữa các giác quan, môi trường và tất cả các phần của cơ thể, trong đó não là trung tâm chỉ huy. Hệ thống này luôn luôn hoạt động và cần một lượng lớn năng lượng để hoạt động.

Trong những điều kiện bình thường, nguồn nhiên liệu duy nhất cho não hoạt động là glucose. Não sử dụng khoảng 103 g glucose mỗi ngày. Lượng glucose này đáp ứng cho tốc độ sử dụng của não là 0,3 micromol/ phút/ g mô.

Số lượng oxy tiêu thụ là 3,4 L/ ngày và tốc độ tiêu thụ oxy là 1,7 $\mu\text{mol}/\text{phút/g mô}$.

Số lượng và tốc độ tiêu thụ ATP tương ứng là 20,4 mol/ngày và 10,2 $\mu\text{mol}/\text{phút/g mô}$. Phần lớn ATP được sử dụng bởi não và các mô thần kinh khác được tạo thành nhờ sự hoạt động của chu trình acid citric mà ở não, chu trình này hoạt động với khả năng gần như tối đa. Con đường đường phân hoạt động với khoảng 20% khả năng của nó. Phần lớn năng lượng được não sử dụng vào việc duy trì gradient ion qua màng bào tương và cho sự tổng hợp các chất dẫn truyền thần kinh và các thành phần tế bào khác.

1.2. Chuyển hóa lipid ở mô thần kinh

Một loại đại phân tử trong não đáng được quan tâm là lipid. Sự chuyển hóa lipid xảy ra ở mô thần kinh cũng tương tự như ở các mô khác. Tuy nhiên, tốc độ đổi mới của các lipid ở mô thần kinh chậm hơn so với tốc độ ở các nơi khác, ví dụ: sử dụng H^3 ghi dấu, người ta thấy acid béo ở gan được đổi mới 50% trong 24 giờ, trong khi acid béo ở não chỉ được thay thế 20% trong 1 tuần. Não cũng tổng hợp được các phospholipid tạp.

Não có các lipid dưới dạng phức hợp và được biệt hóa, nhưng chúng thể hiện chức năng để duy trì tính toàn vẹn của màng hơn là các vai trò chuyển hóa chất.

1.3. Chuyển hóa protein ở mô thần kinh

Các protein của não có tốc độ quay vòng tương đối nhanh so với các protein của các mô khác của cơ thể mặc dù các tế bào não không phân chia sau khi chúng đã được biệt hóa.

Chuyển hóa của các acid amin ở mô thần kinh nói chung cũng giống như chuyển hóa acid amin ở các mô khác. Tuy nhiên, do đặc điểm chức năng của hệ thống thần kinh, chuyển hóa của một số acid amin riêng biệt có những đặc điểm khác biệt, nhất là đối với chuyển hóa của một số acid amin mà dẫn xuất của chúng là các chất dẫn truyền thần kinh và sự sinh tổng hợp một số peptid thần kinh sẽ được trình bày ở phần dưới.

2. SỰ DẪN TRUYỀN XUNG ĐỘNG THẦN KINH QUA SYNAP

Các tế bào của hệ thống thần kinh bao gồm các tế bào não có khả năng tiếp nhận và dẫn truyền các thông tin là các neuron được biệt hóa rất cao. Mỗi neuron gồm một thân tế bào, các sợi nhánh có các đuôi gai giống như các anten có chức năng thu nhận các tín hiệu từ các tế bào khác và một sợi trực kéo dài từ thân tế bào có chức năng chuyển các tín hiệu cho các tế bào khác.

Ngoài các neuron, hệ thống thần kinh trung ương còn có các tế bào khác. Ví dụ, trong não có các tế bào thần kinh đệm với số lượng lớn hơn gấp 10 lần số lượng neuron. Các tế bào thần kinh đệm nằm xen kẽ giữa các neuron và có vai trò làm vật cách điện cho các neuron. Có 5 loại tế bào thần kinh đệm cơ bản là: tế bào sợi thần kinh, tế bào thần kinh đệm ít gai, vi tế bào thần kinh đệm, tế bào màng não thất và các tế bào hình sao. Mỗi loại tế bào thần kinh đệm có một chức năng riêng biệt. Các tế bào hình sao gửi các quá trình ra phía ngoài hệ thống thần kinh trung ương. Các quá trình này được liên kết để tạo thành các phức hợp, hình thành nên các hàng rào để ngăn cách hệ thống thần kinh trung ương với môi trường bên ngoài. Các tế bào sao cũng gửi những quá trình tương tự vào hệ thống tuần hoàn một cách chọn lọc. Các tế bào hình sao cũng cảm ứng các tế bào nội mạc của các mao mạch để hình thành các mạng lưới có tác dụng ngăn cản sự di chuyển thụ động của các phân tử hoà tan trong nước vào não. Mạng lưới này được gọi là hàng rào máu-não. Các chất hoà tan trong nước này chỉ có thể đi vào não khi có các hệ thống vận chuyển qua màng đặc biệt đối với chúng.

Mỗi người bình thường có khoảng từ 10^{11} đến 10^{13} neuron. Liên lạc giữa các neuron của hệ thống thần kinh là nhờ các tín hiệu điện và các tín hiệu hóa học. Các tín hiệu điện chuyển các xung động thần kinh xuống sợi trực thần kinh và các chất hóa học chuyển tín hiệu qua nối thần kinh giữa các tế bào.

2.1. ATP duy trì một thế năng điện qua màng ở neuron

Adenosin triphosphat được tạo thành từ chuyển hóa của glucose được sử dụng để duy trì một điện thế cân bằng qua màng của neuron xấp xỉ -70 mV, bên trong âm hơn bên ngoài. Thế hiệu này được duy trì là nhờ hoạt động của bơm ion Na^+ , K^+ mà năng lượng hoạt động của bơm này là do sự thuỷ phân của ATP thành ADP và Pi. Hệ thống này bơm Na^+ ra ngoài, trong khi K^+ được vận chuyển đi vào tế bào theo cơ chế vận chuyển đối kháng (antiport). Các kênh để Na^+ đi vào tế bào gồm các protein thay đổi hình dạng khi thế năng qua màng giảm (trở nên âm hơn) xuống dưới một giá trị ngưỡng. Khi màng bị khử cực, cả

Na^+ với nồng độ ở ngoài cao hơn ở trong tế bào sẽ đi vào tế bào và K^+ với nồng độ ở trong lớn hơn ở trong tế bào sẽ đi ra ngoài, để đạt được những gradient nồng độ cần thiết. Các kênh được mở nhanh chóng ở một vùng nhất định của tế bào chỉ trong khoảng vài mili giây. Sự khử cực cục bộ gây nên sự thay đổi hình dạng của các protein bên cạnh, tạo nên các kênh ion. Các kênh này mở trong chốc lát cho phép nhiều ion hơn đi qua và thật sự tác động đến các protein liền kề cho phép quá trình tiếp tục diễn ra dọc theo sợi trục thần kinh. Sự truyền xung điện này chỉ đi theo một hướng (Hình 21.1). Đây là quá trình khử cực và tái khử cực dọc theo chiều dài của sợi trục thần kinh, cho phép xung động điện được truyền đi mà không bị giảm về độ lớn. Sự truyền xung động điện là một quá trình xảy ra liên tục trong mô thần kinh và ATP được sinh ra từ chuyển hóa của glucose để duy trì sự hoạt động của hệ thống này.

2.2. Tương tác neuron-neuron xảy ra qua synap thần kinh

Có hai cơ chế chung cho sự tương tác giữa neuron và neuron: các synap điện và synap hóa học.

Các synap điện cho phép truyền nhanh các tín hiệu từ tế bào đến tế bào.

Các synap hóa học cho phép truyền các tín hiệu linh hoạt với các mức độ khác nhau từ tế bào đến tế bào. Các synap hóa học gồm 2 loại:

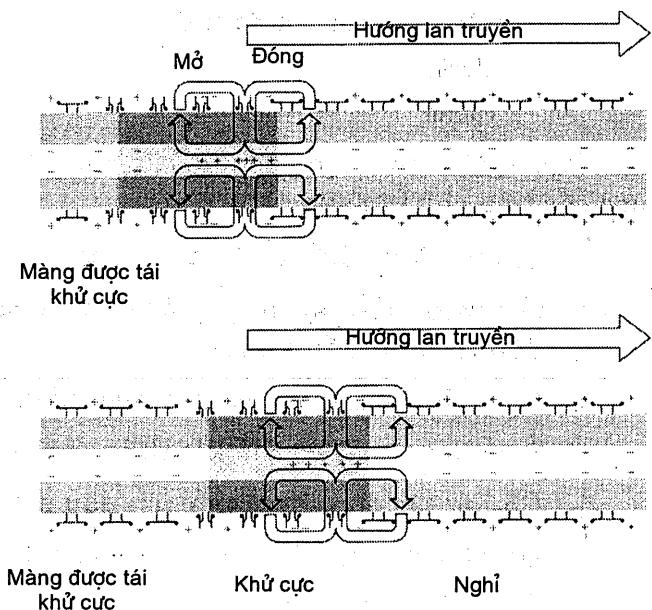
- Một loại gắn trực tiếp vào kênh ion và làm cho nó mở hoặc đóng.

- Một loại gắn vào một receptor từ đó giải phóng ra một thông tin thứ hai để tác động vào kênh ion làm cho nó mở hoặc đóng.

Về các synap hóa học, chúng tôi tập trung trình bày sự tổng hợp và thoái hóa các chất dẫn truyền thần kinh hóa học (chemical neurotransmitters).

Các chất dẫn truyền thần kinh hóa học có thể là chất hoạt hóa hoặc chất ức chế. Một số chất dẫn truyền thần kinh hoạt hóa là các chất như acetylcholin và các catecholamin.

Một số chất dẫn truyền thần kinh ức chế là các chất như γ -aminobutyric acid (GABA), glycin và taurin (Bảng 21.1).



Hình 21.1. Sơ đồ về cơ chế truyền xung động thần kinh

Bảng 21.1. Các chất dẫn truyền thần kinh trong mô thần kinh

Các chất dẫn truyền thần kinh kích thích:

Acetylcholin
Aspartat
Dopamin
Histamin
Noradrenalin (norepinephrin)
Adrenalin (epinephrin)
ATP
Glutamat
Serotonin (5-hydroxytryptamine)

Các chất dẫn truyền thần kinh ức chế:

GABA (γ -aminobutyric acid)
Glycin
Taurin

Các chất trên được xếp vào các chất dẫn truyền thần kinh vì chúng đạt được các tiêu chuẩn sau:

1. Chúng được thấy ở đầu tận cùng sợi trực tiền synap
2. Ở neuron tiền synap có các enzym cần thiết cho sự tổng hợp các chất dẫn truyền thần kinh.
3. Sự kích thích trong những điều kiện sinh lý giải phóng các chất này.
4. Ở synap có các cơ chế kết thúc nhanh chóng tác dụng của chúng.
5. Chúng tác động trực tiếp lên đầu sợi hậu synap.
6. Do hậu quả của 5 tiêu chuẩn trên, thuốc nào làm thay đổi chuyển hóa của chất dẫn truyền thần kinh thì sẽ ảnh hưởng *in vivo* đến dẫn truyền thần kinh.

Tất cả các chất dẫn truyền thần kinh được tổng hợp và dự trữ trong neuron tiền synap. Chúng sẽ được giải phóng khi có sự kích thích tế bào thần kinh. Chúng được chuyển vào khe synap và gắn vào một receptor đặc biệt trên khớp nối của sợi hậu synap để kích thích tế bào tiếp theo, gây nên một sự đáp ứng như đã nói trên. Nếu chất dẫn truyền thần kinh là một chất kích thích, nó sẽ gây nên sự khử cực của màng neuron. Nếu chất dẫn truyền thần kinh là một chất ức chế, nó sẽ gắn vào một receptor liên kết với kênh, gây nên sự thay đổi hình dạng của các protein của receptor, làm cho kênh này mở các lỗ, cho phép các ion tích điện âm nhỏ, đặc biệt là Cl^- đi vào tế bào. Điều này làm tăng khả năng dẫn ion Cl^- của màng hậu synap, làm tế bào khó khử cực hơn và như vậy chất ức chế dẫn truyền thần kinh tăng tạo cực.

Hai chất ức chế dẫn truyền thần kinh trong hệ thống thần kinh trung ương là glycine - chất có tác dụng chủ yếu trên dây thần kinh tuỷ sống và thân não, và γ -aminobutyric acid (GABA) - chất tác động chủ yếu lên tất cả các phân khía của não. Strychnin - một alkaloid có độc tính cao khi vào cơ thể gắn vào các receptor của glycine ở hệ thống thần kinh trung ương, vì vậy có thể được sử dụng với các liều rất nhỏ để kích thích hệ thống thần kinh trung ương. Nhiều chất có tác dụng được lý như các benzodiazepin và các barbiturat cũng có khả năng gắn vào receptor của GABA của hệ thống thần kinh trung ương.

2.3. Sự tổng hợp, dự trữ và giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh

Các chất dẫn truyền thần kinh không phải peptid (nonpeptide) có thể được tổng hợp ở bất kỳ phần nào của tế bào thần kinh, trong bào tương gần nhân tế bào cũng như trong sợi trực thần kinh. Phần lớn các chất dẫn truyền thần kinh không phải peptid là các acid amin, các dẫn xuất của các acid amin hoặc các chất chuyển hóa trung gian khác.

Các chất dẫn truyền thần kinh được bảo quản trong các túi nhỏ ở đầu tận của sợi tiền synap. Khi xung điện được truyền đến đầu tận của sợi tiền synap, các ion Ca^{2+} đi vào tế bào làm cho nồng độ Ca^{2+} trong tế bào tăng lên. Ca^{2+} gắn vào các túi nhỏ của synap và khởi đầu cho một loạt các sự kiện, làm cho xung điện chuyển thành các sự kiện hóa học. Người ta cho rằng Ca^{2+} cũng hoạt hóa một protein kinase phụ thuộc Ca^{2+} - calmodulin để phosphoryl hóa một protein có tên là synapsin I – protein này được gắn vào bề mặt của màng sợi tiền synap. Sau khi được phosphoryl hóa, protein này tách khỏi màng và các túi nhỏ của synap gắn vào màng sợi tiền synap và giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh vào khe synap nhờ quá trình ngoại xuất bào (exocytosis). Synapsin I được khử phosphoryl và tách khỏi các túi nhỏ để các túi này có thể tiếp nhận thêm các chất dẫn truyền thần kinh và lại bắt đầu một chu trình hoạt động mới.

Các chất dẫn truyền thần kinh được giải phóng nhanh chóng đi qua khớp synap (rộng khoảng 20 nm), đến gắn vào các receptor trên bề mặt sợi hậu synap, làm sự thay đổi hình dạng của màng và bắt đầu một quá trình truyền bá xung điện ở tế bào hậu synap.

2.4. Sự kết thúc tín hiệu ở khớp synap

Sự kết thúc tín hiệu ở khớp synap được thực hiện bằng 3 cách sau: *chuyển hóa, tái hấp thu và khuếch tán*. Các chất hóa học có thể đáp ứng đối với các đáp ứng nhanh thường được thực hiện bởi một hoặc cả hai cơ chế đầu tiên.

3. CÁC CHẤT DẪN TRUYỀN THẦN KINH

Cho đến nay người ta đã phát hiện được khoảng 40 chất dẫn truyền thần kinh, có tác dụng dẫn truyền xung động qua synap. Các chất này được chia thành 2 nhóm: nhóm các chất phân tử nhỏ (thường là các dẫn xuất acid amin) và nhóm các phân tử lớn (các peptid thần kinh).

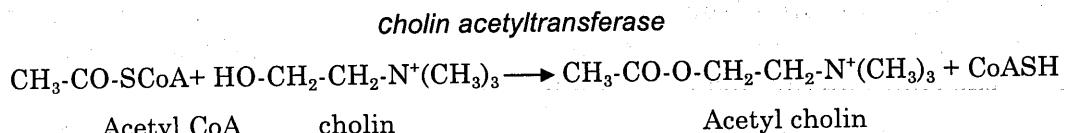
3.1. Các chất dẫn truyền thần kinh phân tử nhỏ

Nhóm các chất dẫn truyền thần kinh phân tử nhỏ gồm những chất có tác dụng nhanh và gây ra phản ứng cấp của hệ thống thần kinh như sự truyền tín hiệu cảm giác tới não và sự truyền tín hiệu vận động từ não đến các cơ.

Phần dưới đây sẽ phác thảo một số con đường hóa sinh như tổng hợp và thoái hóa các chất dẫn truyền thần kinh từ nhóm tác động nhanh, đặc biệt là acetylcholin, các catecholamin, serotonin và GABA.

3.1.1. Acetylcholin

Acetylcholin được tổng hợp tại synap bằng phản ứng ngưng tụ giữa acetyl CoA và cholin dưới tác dụng của enzym *cholin acetyltransferase*:

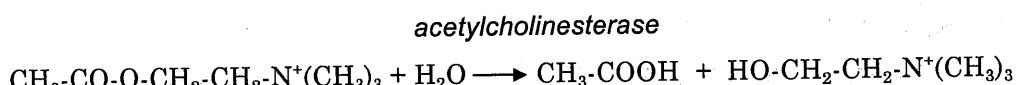


Cholin được lấy chủ yếu từ thức ăn, một phần từ sự tái hấp thu từ khớp thần kinh hoặc từ các nguồn chuyển hóa khác.

Nguồn chủ yếu của acetyl CoA là từ sự khử carboxyl oxy hóa của pyruvat nhờ phức hợp đa enzym *pyruvate dehydrogenase*.

Nhiên liệu chuyển hóa chủ yếu của tế bào thần kinh là glucose con đường chủ yếu để sản xuất năng lượng là chu trình acid tricarboxylic. Acetyl CoA sử dụng cho sự tổng hợp acetylcholin. Tế bào thần kinh không tổng hợp acetyl CoA từ acetat và CoA vì các tế bào này không có enzym *acetyl CoA synthetase*.

Acetyl CoA được tổng hợp bên trong các ty thể và enzym *cholin acetyltransferase* có mặt trong bào tương của tế bào thần kinh. Cơ chế vận chuyển acetyl CoA qua màng ty thể trong tế bào tiền synap tương tự như cơ chế vận chuyển acetyl CoA qua màng ty thể ở các loại tế bào khác. Acetyl CoA được giải phóng và tương tác với receptor nicotinic-acetylcholin khu trú trong màng tế bào hậu synap. Sau khi phát huy tác dụng truyền thông tin, acetylcholin ở màng hậu synap bị thuỷ phân bởi enzym *acetylcholinesterase* thành acetat và cholin:



Cholin được thu nhận bởi màng tiền synap và được sử dụng lại để tổng hợp acetylcholin; còn acetat được tái hấp thu vào máu và được chuyển hóa bởi các mô khác hơn là được chuyển hóa tại mô thần kinh.

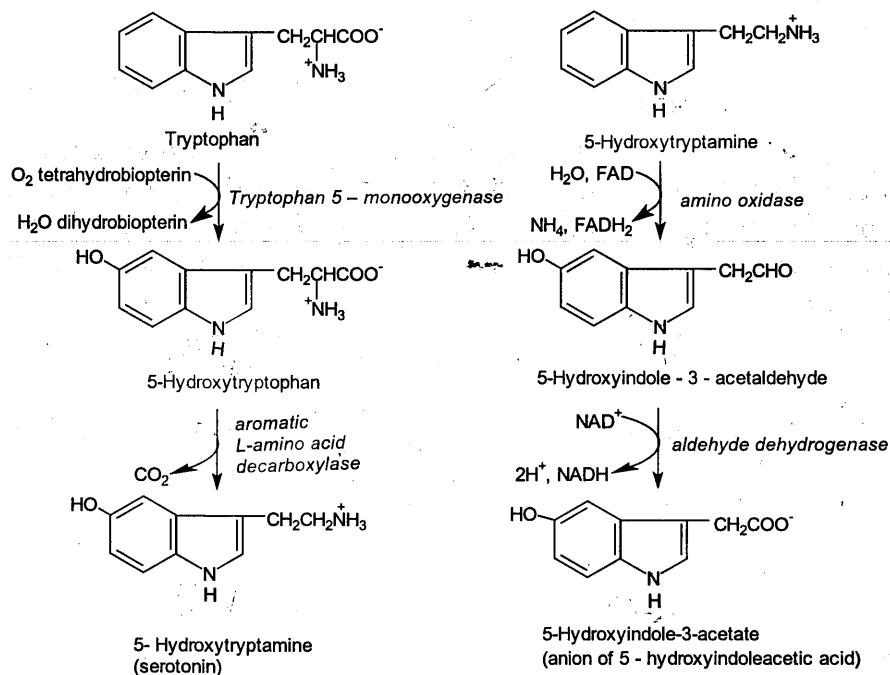
3.1.2. Các catecholamin

Các catecholamin như epinephrin, norepinephrin và dopamin (3,4-dihydroxyphenylethylamin) được tổng hợp từ phenylalanin và thoái hóa như đã được trình bày ở chương hormone.

Có 3 cách chủ yếu để kết thúc tác động của các chất dẫn truyền thần kinh loại catecholamin: methyl hóa một trong các nhóm OH của catechol, khử amin oxy hóa nhánh chuỗi bên và tái hấp thu vào neuron tiền synap (các phản ứng này được chỉ ra ở chương hormon). Enzym *catechol-O-methyltransferase* được tìm thấy trong bào tương của tế bào, có tác dụng xúc tác sự vận chuyển một nhóm methyl từ S-adenosylmethionin đến một trong số các nhóm OH. *Monoamin oxidase* (MAO) xúc tác cho phản ứng khử amin oxy hóa của các amin thành các aldehyd và anion amoni. Enzym này có thể tác dụng lên các amin đã bị hoặc không bị thay đổi bởi phản ứng của enzym *methyltransferase*.

Một điều đáng chú ý là các enzym thoái hóa khu trú trong bào tương của tế bào thần kinh nên các amin phải được hấp thu từ synap vào bào tương tế bào trước khi thoái hóa. Ví dụ, đối với dopamin, có một protein vận chuyển chịu trách nhiệm tái hấp thu nó vào neuron tiền synap. Một trong các tác động của *cocain* là gắn vào protein vận chuyển dopamin và cản trở sự tái hấp thu của dopamin, làm cho dopamin nằm lại trong synap trong một thời gian dài và tiếp tục kích thích các receptor của neuron hậu synap.

3.1.3. Serotonin (5-hydroxytryptamin)

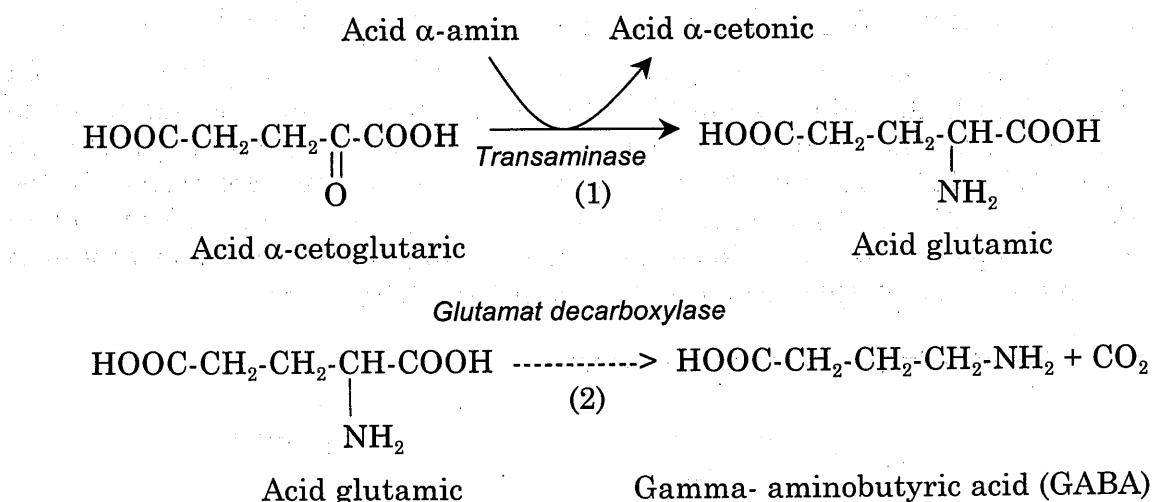


Hình 21.2. Sự tổng hợp và thoái hóa của serotonin (5-hydroxytryptamin)

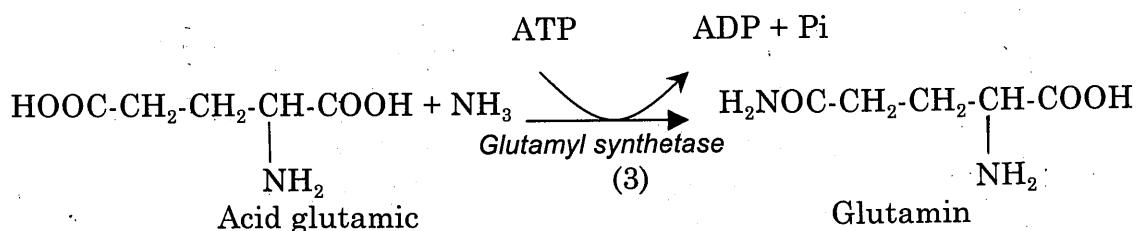
Sự sinh tổng hợp serotonin từ tryptophan cũng gồm các bước tương tự như sự tổng hợp các catecholamin. Khác với các catecholamin, con đường thoái hóa chủ yếu là khử amin oxy hóa bởi enzym *monoamin oxidase* (MAO). Aldehyd được oxy hóa thêm nữa nhờ enzym *aldehyde dehydrogenase* để thành 5-hydroxyindol-3-acetat (Hình 21.2).

3.1.4. γ -aminobutyric acid (GABA)

γ -aminobutyric acid (GABA) được tổng hợp và thoái hóa qua một loạt các phản ứng thường được gọi là nhánh chuyển hóa của GABA (GABA shunt). Trong các phản ứng này, α -cetoglutarat của chu trình acid citric được trao đổi amin nhờ enzym *transaminase* để tạo thành glutamat theo phản ứng 1. Glutamat được khử carboxyl nhờ enzym *glutamat decarboxylase* để tạo thành GABA (theo phản ứng 2):

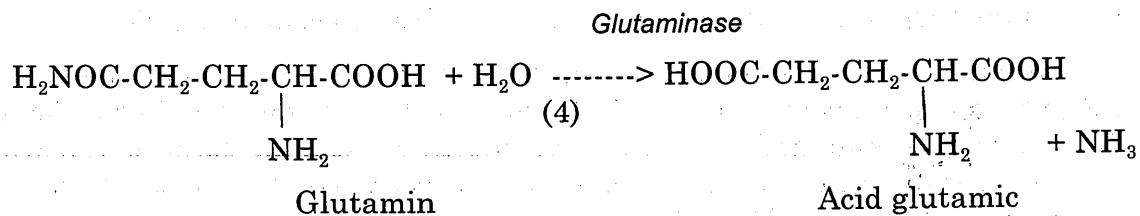


GABA là một chất dẫn truyền thần kinh loại úc chế và glutamat là một chất dẫn truyền thần kinh loại kích thích, có thể tham gia vào các con đường chuyển hóa chung ở tế bào hình sao. Glutamat cũng có thể được biến đổi thành glutamin nhờ enzym *glutamyl synthetase*, được cung cấp năng lượng bởi ATP theo phản ứng 3:



Sau đó, glutamin được vận chuyển đến các túi tiên synap.

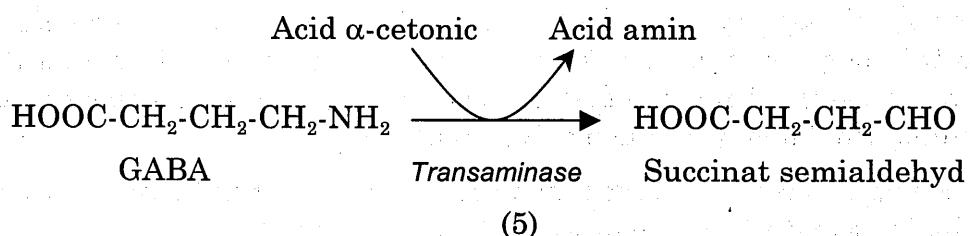
Trong quá trình úc chế thần kinh, glutamin lại được thuỷ phân bởi enzym *glutaminase* thành glutamat và NH₃ theo phản ứng 4:



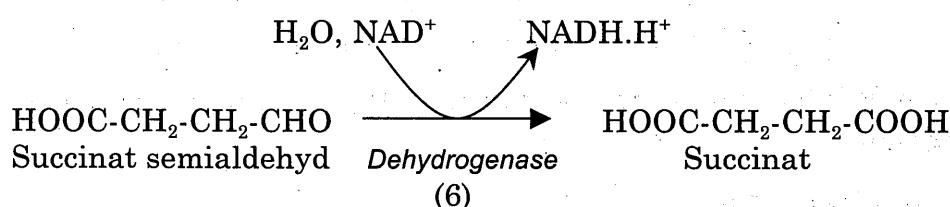
Sau đó, glutamat lại được biến đổi theo phản ứng 2 thành GABA ở túi tiền synap để tham gia quá trình úc chế thần kinh. Như vậy, glutamat được coi như một chất trung gian trong quá trình chuyển hóa của GABA.

Trong quá trình kích thích thần kinh ở túi tiền synap, glutamin biến thành glutamat theo phản ứng 4.

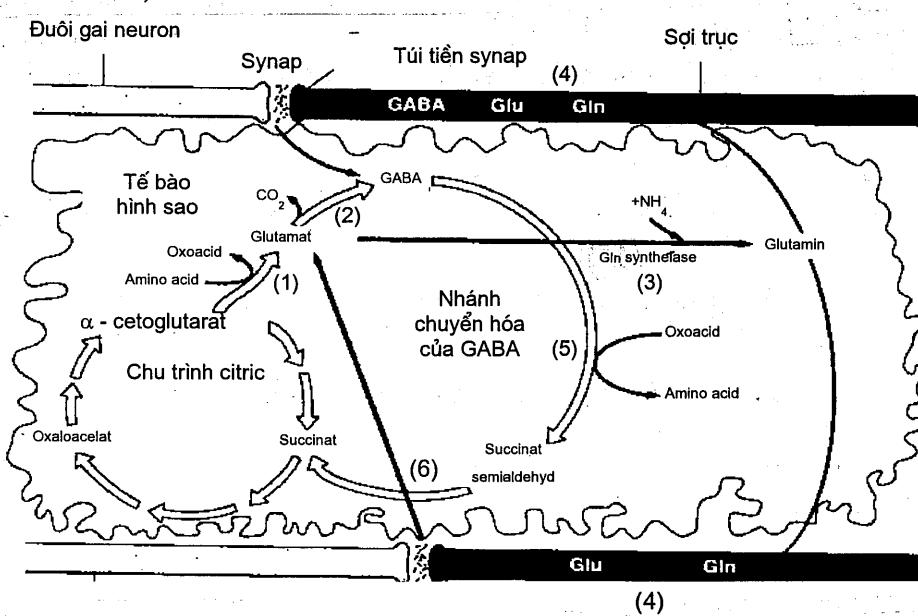
Sau khi phát huy tác dụng, GABA được thoái hóa thành succinat semialdehyd nhờ sự trao đổi amin với acid α -ketonic, giải phóng acid amin theo phản ứng 5:



Succinat semialdehyd được tạo thành sẽ bị oxy hóa thành acid succinic (succinat) theo phản ứng 6:



Succinat được tạo thành sẽ được tiếp tục thoái hóa trong chu trình acid citric (Hình 21.3).



Hình 21.3. Sự chuyển hóa của GABA và glutamat trong tế bào thần kinh

3.2. Các chất dẫn truyền thần kinh phân tử lớn (các peptid thần kinh)

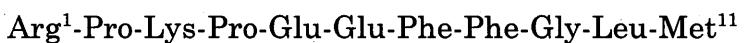
Các chất dẫn truyền thần kinh phân tử lớn có bản chất peptid, còn gọi là peptid thần kinh (neuropeptid) thường được tổng hợp từ các phân tử protein lớn hơn, sau đó được thuỷ phân cắt đứt bớt chuỗi peptid để tạo thành các peptid có phân tử nhỏ hơn. Do đó, sự tổng hợp chúng đòi hỏi cần có một bộ máy sinh tổng hợp protein như sự sinh tổng hợp bất kỳ một protein nào khác, và như vậy phải xảy ra trong phần thân tế bào thần kinh, chứ không xảy ra trong sợi trực thần kinh.

Khác với sự tổng hợp các chất dẫn truyền thần kinh phân tử nhỏ, mỗi loại neuron có thể tổng hợp được một hoặc vài peptid thần kinh. Các peptid thần kinh thường có vai trò làm trung gian cho các đáp ứng về các cảm giác như đói, khát, tính dục, vui, buồn, yêu thương, đau, đau khổ, ...

Một số peptid thần kinh được thấy trong mô não là: chất P, các endorphin, các enkephalin, somatostatin, angiotensin I, angiotensin II, ...

3.2.1. Chất P

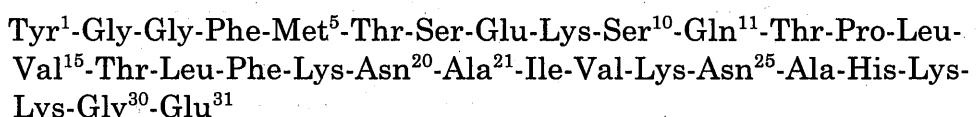
Chất P (substance P) là một peptid có 11 acidamin, có công thức cấu tạo là:



Chất P là chất dẫn truyền thần kinh loại kích thích, có vai trò truyền cảm giác đau.

3.2.2. Các endorphin

Trong số các peptid thần kinh đáng chú ý nhất được bài tiết bởi thuỷ tuyến yên là các opioid peptid, sở dĩ chúng có tên như vậy bởi vì chúng có tác dụng giống như opiat trên hệ thống thần kinh trung ương. Các chất này bao gồm một số endorphin, trong đó β-endorphin với 31 acid amin, có tác dụng giảm đau mạnh nhất. Công thức cấu tạo của β-endorphin là:



β-endorphin có nghĩa là morphin nội sinh (endo = endogenous = nội sinh, orphin = morphin), có tác dụng giảm đau gấp hàng trăm lần morphin.

β-endorphin là dẫn xuất của hormon β-lipotropin (β-LPH) của thuỷ tuyến yên. β-LPH có 91 acid amin và là tiền chất của β-endorphin, khi bị thuỷ phân bởi enzym *protease* sẽ giải phóng ra β-endorphin (đoạn peptid từ acid amin 61 đến acid amin 91).

Các chất này gắn vào các opiat receptor trong não và thể hiện tác dụng giảm đau rất mạnh mỗi khi có kích thích đau.

3.2.3. Các enkephalin

Enkephalin là các pentapeptid, gồm hai chất. Một enkephalin có đầu tận N là Met được gọi là methionin-enkephalin và enkephalin có đầu tận N là Leu được gọi là Leu-enkephalin. Công thức hai enkaphalin này là:



Methionin-enkephalin (Met-enkephalin)

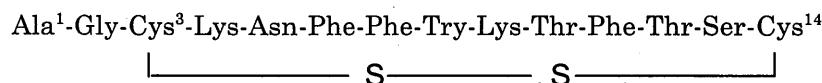


Leucin-enkephalin (leu-enkephalin)

Enkephalin cũng có tác dụng giảm đau kiểu opioid.

3.2.4. Somatostatin

Somatostatin là một peptid được bài tiết ở vùng hypothalamus, có 14 gốc acid amin với 1 cầu nối disulfur giữa 2 Cys ở vị trí số 3 và 14. Công thức cấu tạo của somatostatin là:

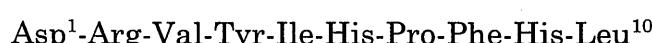


Chức năng của somatostatin là úc chế sự bài tiết hormon tăng trưởng (GH).

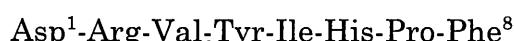
3.2.5. Angiotensin I và angiotensin II

Angiotensin I và II là các oligopeptid có công thức cấu tạo là:

– Angiotensin I gồm 10 gốc acid amin:



– Angiotensin II là sản phẩm thuỷ phân của angiotensin I bởi enzym chuyển angiotensin, gồm 8 gốc acid amin:



Chức năng của angiotensin là co mạch, tăng huyết áp và giải phóng aldosterone từ vỏ thượng thận.

Sau khi được tổng hợp, các peptid thần kinh sẽ theo sợi trực thần kinh đi xuống vùng sợi tiền synap.

Có hai cơ chế vận chuyển các peptid thần kinh xuống sợi trực: vận chuyển chất dẫn truyền thần kinh peptid với tốc độ nhanh khoảng 400 mm/ ngày và vận chuyển với tốc độ chậm khoảng từ 1 đến 5 mm/ ngày. Vì các loại sợi trực có độ dài rất khác nhau: từ 1 mm đến 1 m nên thời gian vận chuyển một chất dẫn truyền thần kinh peptid có thể kéo dài từ 150 miligiây đến 200 ngày.

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày sự chuyển hóa các chất trong mô thần kinh.
2. Trình bày cơ chế dẫn truyền xung động thần kinh.
3. Trình bày các chất dẫn truyền thần kinh hoạt hóa và úc chế.
4. Trình bày chuyển hóa của các chất dẫn truyền thần kinh phân tử nhỏ.
5. Trình bày cấu tạo và chức năng của một số chất dẫn truyền thần kinh phân tử lớn.

Chương 22

HÓA SINH CÁC DỊCH SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. Trình bày được thành phần hóa học của dịch não tủy.
2. Trình bày được thành phần hóa học của sữa mẹ.
3. Trình bày được thành phần của dịch vị.

1. DỊCH NÃO TỦY

Dịch não tủy được hình thành như một quá trình siêu lọc của huyết tương nhờ đâm rối mạch mạc (hàng rào máu não). Dịch não tủy có trong não thất, ống tủy và khoang dưới nhện. Dịch não tủy thường xuyên được tạo ra và tự tiêu đi do sự hấp thu dịch của vili màng nhện (arachnoid vili) nối liền với xoang tĩnh mạch não ở não và tủy sống do đâm rối tĩnh mạch quanh sống. Lượng dịch não tủy được tạo thành là 500ml/ ngày. Dịch não tủy có tác dụng bảo vệ trung ương thần kinh trước các biến đổi áp lực và sang chấn.

1.1. Tính chất của dịch não tủy

Ở người trưởng thành bình thường, lượng dịch não tủy khoảng 150ml. Trẻ em lượng dịch não tủy ít hơn, khoảng 30 - 60 ml ở trẻ mới sinh, khoảng 100ml ở trẻ trước 1 tuổi.

Dịch não tủy ở vùng não thất và tủy sống lưng có khác nhau.

Dịch não tủy của người bình thường trong suốt và không màu, tỷ trọng 1,003 - 1,008.

Áp lực dịch não tủy sống lưng khoảng 80 - 180 mmH₂O ở tư thế nằm. Không được phép rút nước não tủy quá 10 - 12 ml ở người lớn và 3 - 5 ml ở trẻ em.

1.2. Thành phần hóa học

1.2.1. Protein

Khoảng 80% protein trong dịch não tủy có nguồn gốc huyết tương, chúng được khuếch tán qua hàng rào máu não. Phần còn lại được tổng hợp trong não

tủy. Sự thâm thấu của protein qua hàng rào máu não phụ thuộc theo tuổi. Ở người trưởng thành, nồng độ protein toàn phần trong dịch não tủy khoảng 1/250 của huyết tương. Nồng độ protein toàn phần, albumin và IgG trong dịch não tủy được trình bày ở bảng 22.1.

Nồng độ protein toàn phần trong dịch não tủy tăng trong một số trường hợp bệnh lý (bảng 22.2).

Trong dịch não tủy có một số protein quan trọng mà sự thay đổi nồng độ các protein này trong dịch não tủy có ý nghĩa trong chẩn đoán bệnh. Nồng độ các protein này trong dịch não tủy được trình bày ở bảng 22.3.

**Bảng 22.1. Nồng độ protein toàn phần, albumin, IgG trong dịch não tủy theo tuổi
(theo Thompson & Keir 1990)**

Tuổi	Protein toàn phần mg/l		Albumin mg/l		IgG mg/l	
	X	SD	X	SD	X	SD
Trước sinh						
27 – 30 tuần	1390	770				
32 – 36	1200	490				
36 – 40	930	290				
Sau sinh						
0 – 1 tuần	770	160				
1 – 4	660	160				
1 – 3 tháng	450	130				
3 – 6	290	40				
6 – 12	270	70				
1 – 16 tuổi	220	50	105	29		
17 – 30	367	63	170	46	17	4
31 – 40	363	61	179	50	21	7
41 – 50	433	79	204	57	24	8
51 – 60	479	94	242	56	27	9
61 – 77	526	132	238	73	26	9

Nồng độ protein trong dịch não tủy tăng vì bốn nguyên nhân sau đây:

- Tăng tính thâm thấu của hàng rào máu não, thường gặp trong các trường hợp viêm.
- Giảm dòng chảy của nước não tủy xảy ra trong trường hợp tắc do khối u hoặc áp xe tủy.
- Phản ứng của cơ thể, hậu quả của sự tăng tổng hợp globulin miễn dịch.
- Sự phá hủy của hệ thống trung ương thần kinh, tách rời các protein của tế bào não vào nước não tủy.

Bảng 22.2. Nguyên nhân tăng protein toàn phần nước não tủy

Nhiễm trùng
Viêm màng não nhiễm khuẩn
Viêm màng não do lao
Viêm màng não do nấm
Viêm màng não do virus
Viêm não do virus
Nhiễm trùng Ký sinh trùng
Áp xe não.
Bệnh ác tính
U hệ thống thần kinh trung ương
Thâm nhiễm màng não.
Giảm dòng chảy của nước não tủy
U tủy
Não úng thủy
Các nguyên nhân khác:
Hội chứng Guillain – Barré.
Neurosarcoidosis..

Bảng 22.3. Một số protein quan trọng trong nước não tủy

Protein	Nồng độ
Protein toàn phần	Liên quan với tuổi xem bảng 22.1
Albumin	Liên quan với tuổi xem bảng 22.1
Immunoglobulin G	Liên quan với tuổi xem bảng 22.1
C reactive protein	1,5 – 37 µg/L
β2 - microglobulin	0,6 – 2,1 mg/L
α2 - microglobulin	1,0 – 6,4 mg/L
Immunoglobulin A	0,4 – 4,2 mg/L
Immunoglobulin M	0,6 mg/L
D- neopterin	< 3 nmol/L
Prealbumin (transthyretin)	4 – 31 mg/L

Protein phản ứng C (C reactive protein : CRP) là protein được tổng hợp ở tế bào gan. Sự tổng hợp tăng bởi cytokine, được tách rời từ đại thực bào trong quá trình viêm nhiễm. CRP không được tổng hợp bởi tế bào bị viêm nhiễm. Nồng độ CRP có thể tăng tới 600mg trong trường hợp viêm não nhiễm trùng.

Neopterin và β₂- microglobulin

Neopterin là sản phẩm oxy hóa của D 7,8-dihydronoopterin bởi đại thực bào. Nồng độ neopterin tăng trong não tủy thường gấp trong các bệnh nhiễm trùng, nhiễm virus, nhiễm nấm kết hợp với đáp ứng miễn dịch tế bào.

β_2 microglobulin tăng thường kết hợp với sự có mặt bạch cầu lympho đã được hoạt hóa trong hệ thần kinh trung ương, hoặc do tăng sự tạo thành chúng. Xác định nồng độ β_2 microglobulin có thể phát hiện sớm di căn lymphoma và sự tiến triển leukemia đến hệ thống thần kinh.

Enzym trong dịch não tủy đều có nguồn gốc từ huyết thanh, những tế bào cấu tạo hệ thống thần kinh hoặc tế bào khối u và viêm. *Enolase* đặc trưng của neuron, *isoenzym creatin kinase BB*, *isoenzym lactatdehydrogenase (LDH)* là những chỉ thị không đặc trưng cho mức độ tổn thương tế bào não. Hoạt độ các enzym trên có thể tăng trong nước não tủy của bệnh nhân viêm màng não nhiễm khuẩn và cả trong các khối u ác tính của phổi và vú.

1.1.2. Glucose

Nồng độ glucose trong dịch não tủy thắt lồng của người bình thường chỉ bằng 60 – 80% của huyết thanh. Dịch não tủy gần não thắt nồng độ glucose gần bằng huyết thanh hơn.

Nồng độ glucose trong dịch não tủy tăng trong các trường hợp: đái tháo đường, đặc biệt trong hôn mê do đái tháo đường, trong viêm não, động kinh, múa vòn, các u não, xuất huyết não, tăng huyết áp.

Nồng độ glucose trong dịch não tủy giảm gấp trong các trường hợp viêm màng não. Do nhiễm khuẩn: não mô cầu, phế cầu, liên cầu, do lao. Có trường hợp viêm màng não nhiễm khuẩn nồng độ glucose giảm tới 1mmol/l, trong khi viêm màng não do virus nồng độ glucose trong dịch não tủy gần như bình thường.

1.1.3. Lactat

Nồng độ lactate trong dịch não tủy thắt lồng người bình thường là 1,1 – 2,4 mmol/l. Nồng độ lactate > 3,5 mmol/l trong các trường hợp viêm màng não nhiễm khuẩn, < 3mmol/l thường gặp trong viêm màng não do virus.

1.1.4. Lactatdehydrogenase (LDH)

Việc xác định hoạt độ LDH trong dịch não tủy có ý nghĩa và nhạy hơn đối với xác định nồng độ lactate. Tuy nhiên việc xác định hoạt độ LDH không được phổ cập rộng rãi.

1.1.5. Các chất vô cơ

Clo (Cl^-) trong dịch não tủy bình thường cao hơn trong huyết thanh. Khoảng 120 – 130 mEq/l. Nồng độ Cl^- giảm trong viêm màng não, viêm não, viêm tủy xám và các bệnh khác trong hệ thần kinh trung ương. Nồng độ Cl^- giảm mạnh trong viêm màng não do lao.

Calci (Ca^{2+}) trong dịch não tủy người bình thường tương đối ổn định là $2,43 \pm 0,05$ mEq/l, Nồng độ Ca^{2+} tăng trong viêm màng não mủ hoặc do lao, trong chấn thương sọ não, xuất huyết não. Nồng độ Ca^{2+} giảm trong co giật, còi xương.

Magne (Mg^{2+}) trong dịch não tủy là $2,4 \pm 0,14$ mEq/l cao hơn trong huyết thanh.

Nồng độ bicarbonat (HCO_3^-) trong dịch não tủy tương đương với huyết thanh, là $24 - 30$ mEq/l.

2. SỮA

Sữa là chất dinh dưỡng hoàn hảo nhất, có giá trị dinh dưỡng cao. 100ml sữa cung cấp 63 kcal. Các tuyến sữa chuẩn bị tiết sữa từ khi có thai và bắt đầu tiết sữa vào những ngày gần sinh. Quá trình tạo thành và bài tiết sữa phụ thuộc vào sự kiểm soát của tuyến yên và tuyến sinh dục. Thành phần của sữa thay đổi theo thời gian kể từ khi bắt đầu đến khi thôi tiết sữa.

2.1. Tính chất

Sữa là dịch có màu trắng đục, có mùi, vị đặc biệt. Tỷ trọng của sữa khoảng $1,026 - 1,028$ (ở 15°C), pH của sữa hơi acid ($6,56 - 6,95$).

2.2. Thành phần hóa học

Trong sữa có các thành phần protein, lipid, glucid, các chất khoáng và các vitamin.

2.2.1. Protein. Nồng độ protein trong sữa mẹ khoảng $1 - 1,5\text{g}/100\text{ml}$. Protein của sữa có thể chia thành 3 nhóm: casein, lactoalbumin và lactoglobulin.

Casein là thành phần protein quan trọng nhất trong sữa, là protein chứa nhiều nhóm phosphat, chính các nhóm phosphate này có tác dụng cố định ion calci, casein dễ hòa tan. Bằng kỹ thuật điện di có thể phân tích được α , β , γ casein. Các casein đều là các polymer và giữa các monomer nối với nhau bằng cầu disulfur. Trong thành phần casein có nhiều acid amin cần thiết.

Lactoalbumin và lactoglobulin khác casein là không chứa nhiều phosphat, nhưng lại chứa nhiều lưu huỳnh. Có hai loại α , β -lactoalbumin, trong thành phần cấu tạo của chúng có nhiều tryptophan. Trong sữa còn có nhiều peptid và các acid amin tự do.

Bảng 22.4. Thành phần acid amin, vitamin, chất khoáng, acid béo trong 100ml sữa mẹ (sữa ổn định)

Acid amin		Vitamin		Chất khoáng	
Lys	110 mg	Vit A	254 IU ⁽¹⁾	Natri	15mg
Met	40	Retinol	40µg	Kali	41 –
Trp	30	β carotene	30 µg	Calci	34 –
Phe	90	Vit D	2,2 IU ⁽¹⁾	Phospho	15 –
Thr	70	Vit E	0,18IU ⁽¹⁾	Magnesium	2 –
Val	130	Vit K	1,5IU ⁽¹⁾	Sắt	0,1 –
Leu	150	Vit B ₁	0,01 mg	Kẽm	0,4 –
Ile	110	Vit B ₂	0,04 mg	Đồng	0,014 –
Arg	60	Vit B ₆	0,01 mg	Mangan	0,01 –
His	59	Vit PP (B ₃)	0,1 mg	Fluor	25 µg
Cys	26	a.Folic (B ₉)	0,2 µg	Iod	5,9µg
Tyr	82	Pantothenic	210µg	Acid béo	
Ala	58	Vit B ₁₂	0,03µg	a. palmitic	1,1g
Asp	130	Vit C	4µg ⁽¹⁾	a. stearic	0,2 –
Glu	264			a. linoleic	0,3 –
Gly	34			a. linolenic	
Pro	137				Vết
Ser	60				

Các số liệu của Viện dinh dưỡng (Thành phần dinh dưỡng thức ăn, Nhà xuất bản Y học 1995), (1) Jean Hamburger.

2.2.2. Lipid

Lipid trong sữa là một hỗn hợp phức tạp, chủ yếu là triglycerid, các lipid trong sữa có tỷ trọng thấp. Ở trạng thái nhũ tương hóa, các hạt nhũ tương có kích thước khoảng 0,5 – 10 µ, trung bình 2 – 3 µ. Trong 1 lít sữa có tới 2 tỷ hạt nhũ tương.

Trong sữa có nhiều acid béo chưa no cần thiết, có tới 20 loại acid béo (bảng 22.4)

Cholesterol khoảng 0,20g/100ml.

Phospholipid, đặc biệt là lecithin (19%), cephalin (0,02 – 0,05%).

2.2.3. Glucid

Glucid chính của sữa là lactose được tổng hợp ở tuyến sữa từ glucose của máu. Nồng độ lactose khoảng 7g/100ml. Độ ngọt của lactose kém hơn 6 lần so với saccarose. Nồng độ glucose khoảng 1g/100ml. Trong sữa còn có một số các oligosaccharid đặc biệt cần cho sự phát triển của một số vi khuẩn sinh acid lactic (L- bifidus). Các oligosaccharid này chứa N-acetyl-glucosamin, L-fucose, glucose và galactose. Vi khuẩn L – bifidus là vi khuẩn ruột đặc trưng ở trẻ em còn bú, nó sẽ mất đi khi trẻ thôi bú.

2.2.4. Các chất khoáng

Các chất khoáng của sữa có ý nghĩa rất lớn đối với sự phát triển của trẻ. Sữa chứa nhiều calci, phospho, kali. Các chất khoáng này trong sữa dễ tiêu hóa và hấp thu, chủ yếu chúng ở dạng kết hợp trong casein và phospholipid. Lượng sắt trong sữa thấp khoảng 1 – 2mg/l, nhưng ở dạng các hợp chất hữu cơ dễ chuyển hóa. Trong sữa còn có các yếu tố vi lượng như coban, đồng, kẽm, chì, iod, crom, arsen, titan, ...

2.2.5. Các enzym

Trong sữa mẹ có các enzym *amylase, lipase, protease, galactase, catalase, peroxidase, phosphatase, xanthinoxidase*.

2.3. Sữa non

Sữa non được tiết ra ít ngày sau sinh. Sữa non khác sữa ổn định về nồng độ và thành phần protein. Sữa non có nồng độ protein cao, tới 28%, trong đó chủ yếu là các IgG kháng thể, chúng chiếm tới 40 – 50% protein toàn phần.

3. DỊCH VỊ

Dịch vị là hỗn hợp chất tiết của các tế bào tuyến bài tiết của dạ dày. Quá trình bài tiết dịch vị phụ thuộc vào các hormon; gastrin, secretin, cholecystokinin. Cafein, histamin cũng có tác dụng kích thích sự bài tiết dịch vị. Ngoài ra số lượng và tính chất của thức ăn cũng có tác dụng đến sự bài tiết dịch vị.

Trong các tế bào tuyến dạ dày, tế bào chính bài tiết pepsinogen, tế bào viền vùng thân và đáy dạ dày bài tiết HCl, tế bào biểu mô và các tuyến vùng tâm vị bài tiết dịch vị kiềm, clorua bicarbonat, mucin.

3.1. Tính chất của dịch vị

Trong 24 giờ dạ dày tiết khoảng 2 – 3 lít dịch vị.

Màu sắc: bình thường dịch vị trong suốt, có màu sáng, vàng nhạt.

pH của dịch vị là từ 1 đến 2.

3.2. Thành phần của dịch vị

Dịch vị chứa 97 – 99% là nước, còn lại là muxin, các enzym tiêu hóa và các muối vô cơ.

3.2.1. HCl

HCl do tế bào viền tiết ra, quyết định pH của dịch vị. HCl tồn tại ở dạng tự do và dạng kết hợp với protein mà chủ yếu là với muxin. HCl được tổng hợp từ nguồn H^+ của phản ứng phân ly của H_2CO_3 , Cl từ NaCl của máu. H^+ được vận chuyển ra lòng dạ dày bằng cơ chế vận chuyển tích cực. Sự bài tiết HCl của dạ dày chịu ảnh hưởng của các hormon dạ dày – ruột, gastrin có tác dụng

kích thích, secretin, cholecystokinin và pancreozymin có tác dụng ức chế sự bài tiết HCl. Nồng độ HCl của dịch vị thay đổi theo tình trạng bệnh lý của dạ dày: viêm loét dạ dày, hành tá tràng, đa toan, cường toan, cường dây thần kinh X,... Độ acid trong dạ dày được định lượng theo phương pháp chuẩn độ là kết quả của tổng lượng HCl tự do, HCl kết hợp và các acid yếu khác. Nồng độ HCl = 40 mEq/l.

3.2.2. Các enzym thủy phân protein

- Pepsin

Pepsin là enzym thủy phân protein được tế bào chính của tuyến dạ dày tiết ra dưới dạng tiền chất là pepsinogen, có M= 40.000 Da. Pepsinogen được hoạt hóa thành pepsin nhờ HCl hoặc tự hoạt hóa bằng cách cắt đi 42 acid amin. Pepsin có M= 33.000 Da. Trung bình 1 lít dịch vị có khoảng 1g pepsin. Pepsin thủy phân protein thành peptid.

- Cathepsin

Cathepsin là enzym thủy phân protein, hoạt động thích hợp ở pH 3,9, nên enzym này quan trọng trong các trường hợp độ acid của dịch vị yếu (trẻ em khi còn bú mẹ).

- Rennin

Rennin là enzym làm đông vón sữa. Dưới tác dụng của Rennin, casein chuyển thành paracasein không hòa tan, vì vậy có tác dụng không để sữa qua dạ dày nhanh, tạo điều kiện cho pepsin tác dụng.

Rennin có chủ yếu ở trẻ em, người lớn không có rennin, tác nhân làm đông vón sữa ở người lớn là pepsin.

3.2.3. Lipase

Dịch vị cũng có một ít lipase có tác dụng thủy phân lipid nhưng không phải là vai trò chính.

3.2.4. Mucin

Mucin – mucoprotein được các tế bào nhầy vùng tâm vị và môn vị tiết ra. Thành phần chủ yếu của mucin là các glucoprotein, chúng có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày, bảo vệ các vitamin tan trong nước như vitamin B1, B12, C, tránh sự tác động của HCl và pepsin, giúp hấp thu sắt và vitamin B12.

Trong dịch vị còn chứa các muối vô cơ, các ion Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , ure, một số acid amin, creatin và acid uric.

Trong các trường hợp bệnh lý có thể xuất hiện acid lactic, acid butyric do hép môn vị, sắc tố mật do dịch ruột trào lên, máu tươi hoặc máu đen do chảy máu dạ dày.

4. BẠCH HUYẾT

Bạch huyết được tạo ra từ huyết tương nhờ quá trình lọc qua thành mạch.

Dịch bạch huyết bao gồm dịch của hệ bạch mạch, dịch khe, dịch ngoại bào. Vì vậy thành phần của dịch bạch huyết có khác nhau chút ít theo nguồn gốc của nó.

Thành phần hóa học của dịch bạch huyết

- Nồng độ glucose và ure trong dịch bạch huyết tương tự như trong huyết tương.
- Các chất điện ly: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , khác huyết tương chút ít.
- Nồng độ protein trong dịch bạch huyết thấp hơn trong huyết tương và khác nhau theo nguồn gốc của dịch bạch huyết. Thí dụ nồng độ protein trong dịch bạch huyết lấy ở chân là 2 – 3g%, ở ruột là 4 – 6g%, và ở gan là 6 – 8g%.
- Thành phần lipid trong dịch bạch huyết chủ yếu là các lipid trung tính. Nồng độ thay đổi theo nguồn gốc của dịch. Sau khi ăn nồng độ lipid trong dịch bạch huyết của ruột và ống ngực tăng rất cao, làm cho dịch bạch huyết ở đây có màu đục như sữa. Đó là các lipid của thức ăn.

Bảng 22.5. Nồng độ một số chất trong dịch bạch huyết so với huyết tương (trong 100ml)

Các chất	Dịch bạch huyết ở vùng cổ	Dịch bạch huyết ở ống ngực	Huyết tương
Nước	95g	94 g	90 g
Protein	2 g	4g	7,5 g
Fibrinogen		40 mg	300 mg
Glucose	100 mg	110 mg	100 mg
Na^+	330 mg	330 mg	320 mg
K^+	23 mg	24 mg	20 mg
Ca^{++}	10 mg	11 mg	10 mg
Mg^{++}	3 mg	3 mg	1,8 mg
Cl^-	420 mg	410 mg	370 mg
Phospho vô cơ	3mg	4 mg	307 mg

CÂU HỎI ÔN TẬP

1. Trình bày thành phần hóa học của dịch não tủy.
2. Trình bày thành phần hóa học của sữa mẹ.
3. Trình bày thành phần của dịch vị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Ân, Đái Duy Ban, Nguyễn Hữu Chấn, Đỗ Đình Hồ (1980). **Hóa sinh học**, tập I, Nhà xuất bản Y học.
2. Trần Thị Ân, Đái Duy Ban, Nguyễn Hữu Chấn, Đỗ Đình Hồ (1981). **Hóa sinh học**, tập II, Nhà xuất bản Y học.
3. Trần Thị Ân, Nguyễn Hữu Chấn, Lê Đức Trình, Nguyễn Bàng, Nguyễn Hồng Quế, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Hà (1985). **Bài giảng Hóa sinh học**, Nhà xuất bản Y học.
4. Trần Thị Ân, Nguyễn Hữu Chấn, Phan An, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Nghiêm Luật, Hoàng Thị Bích Ngọc (1994) **Một số chuyên đề Hóa sinh học**, tập III, Nhà xuất bản Y học.
5. Nguyễn Hữu Chấn, Bạch Vong Hải, Hoàng Tích Huyền, Nguyễn Nghiêm Luật, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Hồng Quế, Lê Đức Trình (1992). **Một số chuyên đề Hóa sinh học**, tập I, Nhà xuất bản Y học.
6. Nguyễn Hữu Chấn, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Nghiêm Luật, Trần Xuân Trường (1993). **Một số chuyên đề Hóa sinh học**, tập II, Nhà xuất bản Y học.
7. Nguyễn Hữu Chấn (1996). **Enzym và xúc tác sinh học**, Nhà xuất bản Y học.
8. Nguyễn Hữu Chấn, Trần Thị Ân, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Nghiêm Luật, Hoàng Thị Bích Ngọc, Vũ Thị Phương (1999). **Những vấn đề Hóa sinh học hiện đại**, tập I, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ Thuật.
9. Nguyễn Hữu Chấn, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Nghiêm Luật, Hoàng Thị Bích Ngọc và Vũ Thị Phương (2001). **Hóa sinh**. Nhà xuất bản Y học.
10. Phạm Văn Phùng, Lê Đức Trình, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Nghiêm Luật, Vũ Thị Phương, Nguyễn Thị Kim Tuyến (1995). **Một số chuyên đề Hóa sinh học**, tập IV, Nhà xuất bản Y học.
11. Lê Đức Trình, Nguyễn Hữu Chấn, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Nghiêm Luật, Hoàng Thị Bích Ngọc, Nguyễn Hồng Quế, Nguyễn Kim Xuyến (1991). **Hóa sinh**, Nhà xuất bản Y học.
12. Anderson SC and Cockayne S (1993). **Clinical Chemistry concepts and applications**, WB Saunders company, Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo.

13. Devlin TM (1993). **Textbook of biochemistry with clinical correlations**, 3nd edition, Wiley-Liss, a John Wiley & sons.
14. Donald Voet and Judith G Voet (1995). **Biochemistry**. John Wiley & sons.
15. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (2005). **Principles of Biochemistry**, 4nd edition, W H Freeman and company.
16. Lodish H, Berk A, Zipursky S L, Matsudaira P, Baltimore D and Darnell J (2001). **Molecular cell biology**. W H Freeman and company, 4th edition.
17. Stryer, L (1995). **Biochemistry**, 4th edition, WH Freeman and company.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

HÓA SINH

Chịu trách nhiệm xuất bản
HOÀNG TRỌNG QUANG

Biên tập:

ThS. LÊ THỊ KIM TRANG

Sửa bản in:

LÊ THỊ KIM TRANG

Trình bày bìa:

NGUYỄT THU

Kt vi tính:

NGUYỄN THỊ ÂN - TRẦN THANH TÚ

GIÁ: 88.000 Đ

In 1000 cuốn, khổ 19 x 27 cm tại Công ty in Y học. Số đăng ký kế hoạch xuất bản:
20 - 2012/CXB/163 - 208/YH. In xong và nộp lưu chiểu quý IV năm 2012.