

FISIOLOGIA ANIMALE

- TRASPORTI ATTRAVERSO EPITELI -

EPITELI→

- tessuti
- superfici limite tra organismo e ambiente esterno (comprese le cavità in comunicazione con l'esterno: gli organi cavi)

EPITELIO PAVIMENTOSO STRATIFICATO: epidermide→

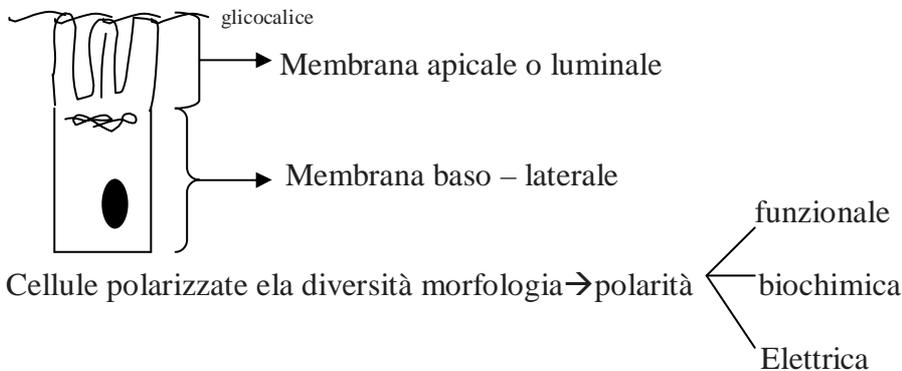
- protettivo
- trasporto (solo anfibi)
- permeabile a gas e vapore acqueo

EPITELIO PSEUDOSTRATIFICATO: polmoni→

EPITELIO BATIPRISMATICO:

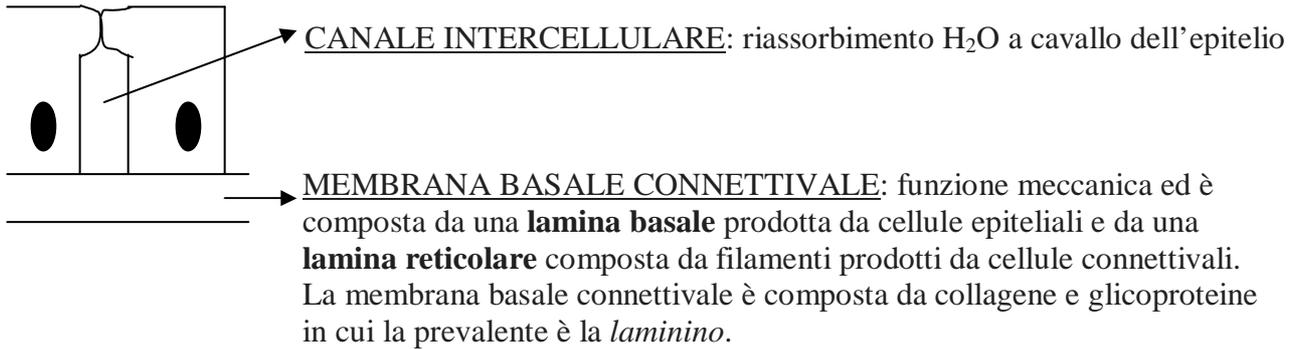
- cellule cilindriche
- trasporto
- assorbente (intestinale, prevalentemente)
- secernente (mucosa gastrica)
- mista (cistifellea)

Gli epitelii si comportano come una membrana plasmatica dove viene selezionato il materiale.



MICROVILLI→

- altezza tra 0.1 e 3 μm
- il diametro basale è $\frac{1}{10}$ dell'altezza
- aumentano la superficie di assorbimento
- filamenti contrattili di **actina** che prendono contatto tra di loro (*vinculina*) e un polipeptide (110.000 D) x il contatto tra actina e pareti + la *calmodulina*. Alla base vi sono filamenti contrattili di **miosina** e prende il nome di **terminal web**
- actina e miosina interagiscono tra di loro→contrazione isometrica (> tensione, = lunghezza)
- GLICOCALICE→all'esterno dei microvilli ed ha funzione meccanica, di protezione, di supporto di enzimi



GIUNZIONI→

Impediscono la migrazione di proteine da una membrana all'altra della stessa cellula

5 tipi:

1) **Tight junctions**→

- punti di contatto tra cellule adiacenti
- ponti proteici
- sporgono da una membrana per congiungersi al ponte della membrana adiacente
- spazi di 10 Å°
- altezza tra 100 – 200 nm
- proteine integrali: *occludina*
- proteine interne alla membrana: P130; ZO-1; ZO-2
- contatto con filamenti citoplasmatici per distribuire i punti di tensione

2) **Giunzioni aderenti (banda desmosomica)**→

- altezza tra 200 – 500 nm
- distanza: 20 nm (tra le 2 membrane)
- placche che prendono contatto con filamenti citoplasmatici distribuiti radialmente; sono filamenti contrattili.
- Gli epitelii possono chiudere i varchi a seguito della morte di alcune cellule

3) **Desmosomi**→

- bottoni desmosomici
- filamenti intrecciati
- distanza 30 nm
- prendono contatto con filamenti non contrattili e + grandi: TONOFILAMENTI per distribuire le tensioni

4) **Emidesmosomi**→

- contatto con filamenti di collagene e laminina
- tra la cellula e la membrana basale

Tutte queste giunzioni hanno solo funzione meccanica!

5) **GAP Junction**→

- giunzioni facilitanti intervallate
- proteine carrier
- 2 proteine provenienti da entrambe le membrane e ciascuna di queste ha 6 subunità
- le subunità possono ruotare→apertura e chiusura canale
- passaggio da una cellula all'altra di sostanze a basso PM <800 D (ioni: Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺; aa; glucosio; cAMP→mediatore intercellulare)
- dipendono da [Ca] e pH; il Ca⁺⁺ [10⁻³]M fuori dalla cellula e [10⁻⁷]M nella cellula

Per dimostrare se vi sono GAP – Junction→

- tecniche di fluorescenza
- tecniche elettrofisiologiche

Queste ultime si basano sull'utilizzo di microelettrodi

Sono elettrodi, cioè conduttori metallici (1° tipo) in cui il movimento di cariche elettriche è consentito in relazione al movimento di elettroni, che sono collegati ai conduttori di 2° tipo (soluzioni).

Costituiti da una micropipetta in vetro con punta di diametro $1\mu\text{m}$, riempito di 3M di KCl e un filo di Ag/AgCl dentro l'ago di vetro. Il filo è molto corto in modo da non uscire dalla cellula altrimenti il potenziale interferirebbe con l'ambiente extracellulare invece io ho bisogno di conoscere solo il potenziale che c'è a cavallo della membrana.

Il microelettrodo all'inizio è fuori, quindi lo **AZZERO** e quando entro nella cellula quello che misuro è la variazione rispetto allo stato iniziale.

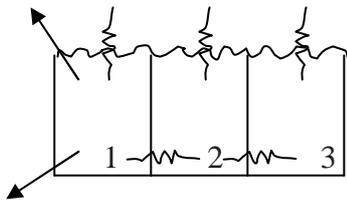
Per misurare il potenziale \rightarrow Voltmetro

Per generare il potenziale \rightarrow Generatore

Ohm: $V = I \cdot R$

$R \rightarrow R_{\text{tot}} = R_i$ (citoplasma) + R_m (membrana) + R_o (soluzione extracellulare)

R_i e R_o sono trascurabili per cui tengo conto solo del **R_m**

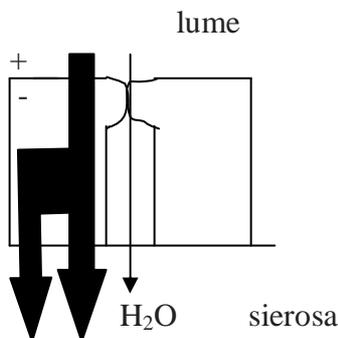


Se la cellula 1 possiede GAP non funzionanti è come se fosse isolata quindi la corrente viene persa sopra e sotto la cellula, si dissipa.

Se le cellule hanno GAP funzionanti, la R (resistenza) è piccola (R_{g1} ; R_{g2}) la corrente passa per i pori e giunge a R_{m3} e quando misuro noto una certa differenza di potenziale elettrico anche nella cellula 3.

La via **CELLULARE** \rightarrow + importante e prevalente ma molto selettiva

La via **PERICELLULARE** \rightarrow attraverso le giunzioni e la sua selettività si basa sul P.M. ($\sim 150\text{-}200$ D). Le giunzioni strette hanno carica elettrica - \rightarrow gruppi carbossilici \rightarrow passano più facilmente i cationi.



ESISTENZA VIA PARACELLULARE:

- 1) esperimento col Lantano (opaco agli elettroni e alto PM); dal lume passa nel canale intercellulare ma non in cellula → via paracellulare
- 2) selettività delle membrane citoplasmatiche > di quella di tutto l'epitelio; se la selettività complessiva è < di quella della membrana apicale → via paracellulare
- 3) la resistenza dell'epitelio è condizionata dalla resistenza della cellula e della via paracellulare che è + bassa di quella cellulare. Siccome sono resistenze in parallelo → resistenza globale è = alla resistenza + bassa nell'ambito delle 2 vie considerate → via paracellulare
- 4) comportamento *ohmico* dell'epitelio: dalla legge di ohm il passaggio della corrente sulla resistenza crea un comportamento ohmico costante ma le membrane non hanno un comportamento ohmico perché si polarizzano al passaggio di corrente e i canali voltaggio – dipendenti subiscono modificazioni strutturali
- 5) prova elettrofisiologia che la via paracellulare coincide con quella giunzionale (vedere schema quaderno o libro) → si ha > caduta di potenziale nel punto delle giunzioni che nella membrana.

La > parte degli epitelii hanno resistenze transepiteliali tra $10-80 \text{ ohm/cm}^2$:

- **epitelii LEAKI**: bassa resistenza (3 ponti proteici → via paracellulare permeabile: bassa R)
- **epitelii medi**: media resistenza (~200)
- **epitelii alti**: quelli di pelle e vescica di anfibi (fila di ponti proteici e poca permeabilità)

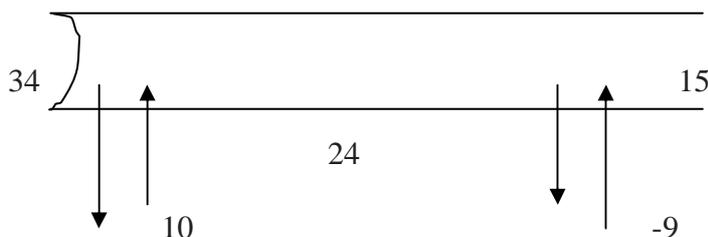
FLUSSO NEI CAPILLARI:

Nei capillari si ha lo scambio tra sangue e soluti.

Il cuore spinge il sangue con una pressione IDROSTATICA costante ma la P che il capillare ha all'estremità arteriosa è diversa da quella venosa.

La pressione viene esercitata lungo l'asse del capillare ma anche intorno per il principio di Pascal.

L'endotelio dei vasi è fenestrato e presenta pori con spessore di circa 30 \AA e può passare sia l'acqua che i soluti (a basso PM e ioni e aa, gluc ecc), non passano però le proteine perché hanno PM alto.



Alle 2 estremità uscirebbero entrambe le cose ma avviene un ricircolo: siccome esce dall'estremità arteriosa acqua e soluto, in quella venosa dovrà entrare qualcosa per cui è importante il 24 mmHg → pressione osmotica. (19 mmHg proteine plasmatiche – 15 del connettivo + 9 ioni)

Il σ x le proteine è circa 1 mentre quello dei piccoli ioni è circa 0 → se considero le concentrazioni di tutti gli ioni ho una pressione di 300 mOsmolare .

La pressione osmotica teorica del sangue è $\sim 8 \text{ atm}$ pari a circa 6000 mmHg

Edema → prevale l'uscita di acqua sull'entrata e questo trascina anche il soluto.

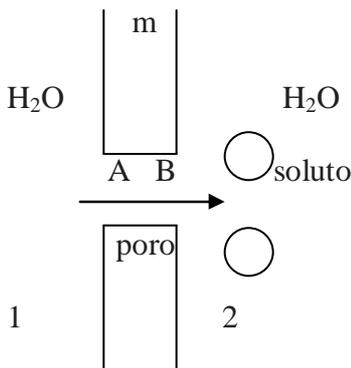
Siccome c'è una differenza di ancora 1 mmHg , è presente per ovviare a ciò un'altra via di uscita → sistema LINFATICO.

Posm → flusso diffusionale in membrana non porosa

Lp → flusso in massa in membrana porosa

Se ho una membrana porosa con differenza di $[H_2O]$ o soluto, ho sempre un flusso in massa perché vicino al poro si crea una differenza di PRESSIONE IDROSTATICA.

Conoscendo il Posm trovo il J_v (flusso volumetrico di H_2O) prevedibile sulla base di una diffusione, quindi confronto il flusso diffusionale teorico ($J_v = L_p \Delta \pi$) con il flusso reale ($J_v = L_p (\Delta \pi_R \pm \Delta P)$) → il flusso misurato non corrisponde però a quello teorico **QUINDI** presumo che non si debba parlare di diffusione, bensì di flusso **IN MASSA**. In questo caso posso calcolare solo **Lp** (coefficiente del flusso in massa):



In questo caso ho solo una differenza di $[]$, l'acqua si muove all'esterno del poro x differenza di $[H_2O]$. Questo non accade se ho pori in cui il soluto non passa (quindi $\sigma=1$).

L'acqua passa dentro il poro perché si crea una PRESSIONE IDROSTATICA nel poro dove l'acqua viene "fluita" per differenza di $[]$, all'estremità 2 ho soluto e nella 1 no. Se tolgo il soluto e metto H_2O il flusso netto allora sarà = 0 in quanto non ho un flusso unidirezionale.

Se marco con un isotopo radioattivo l'acqua noto che: $J_{v1-2} = V P_{H_2O} C_{H_2O(1)}$.

Se misuro poi il coefficiente di P_{H_2O} che è correlabile al Posm, trovo il Posm quindi calcolo il flusso diffusionale teorico che confronto con quello reale (se ho però una ΔC_s).

Infine considero i 2 ambienti e misuro il flusso dell'acqua notando che il teorico e il reale sono diversi → **FLUSSO IN MASSA**.

Tutto ciò è stato fatto supponendo che il soluto in 2 non possa entrare nel poro; nell'interfaccia A non c'è differenza di $[]$ tra 1 e poro mentre in B è presente tale differenza tra poro e 2 e perciò nel poro presso B si crea una depressione perché diminuisce il numero di molecole d'acqua localmente (senza che la $[H_2O]$ cambi. Si crea così una ΔP → flusso massivo di H_2O tra A e B dentro il poro. **Il poro traduce i gradienti di pressione osmotica in gradienti di pressione idrostatica.**

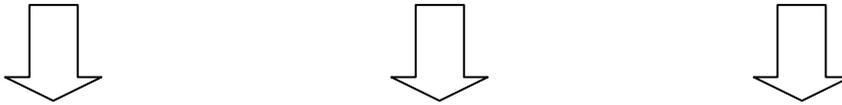
Il $\Delta \pi$ tra interno ed esterno dei capillari è: $(\sigma \Delta \pi_i)$ mentre per quanto riguarda i piccoli soluti $(\sigma RT \Delta C)$; questi ultimi sono in grado di generare una $\Delta \pi$ tra interno ed esterno vuol dire che il σ dei piccoli soluti non è esattamente 0 pur essendo piccolo, ma occorre anche un ΔC tra interno ed esterno → la $[]$ dei piccoli soluti nel capillare e nel connettivo è diversa, è + alta nel capillare di poco, perché al suo interno ci sono le proteine che sono impermeabili attraverso la membrana e quindi si crea un EQUILIBRIO di DONAN.

MOVIMENTO dell' ACQUA nel GLOMERULO RENALE:

Nei capillari arteriosi la pressione idrostatica all'ingresso del glomerulo è + alta rispetto a quella degli altri capillari perché questi sono capillari di arterie e + vicini al cuore, la P_i è quindi di 70mmHg.

L'arteria presenta una parete impermeabile e proteine con PM >70.000 D e la parete ha delle fenestrature che corrispondono a pori con diametro di ~80Å → la parete dei capillari glomerulari è + permeabile rispetto a quella di altri distretti. La Pi, andando verso l'estremità efferente. Tende a diminuire: 70 → 45 mmHg; la Pressione Osmotica tende invece ad aumentare: -24 → -35 mmHg perché c'è una forte perdita di acqua.

All'interno della capsula → Pi dovuta al fatto che la capsula tende a gonfiarsi → -10 mmHg



I flussi di acqua sono sempre in USCITA anche se tendono ad azzerarsi verso l'estremità efferente.

La pressione utile di filtrazione passa da 36 mmHg → 0 mmHg

Il flusso è anche + alto rispetto a quello che c'è in altri capillari:

$$J_v = L_p (\Delta\pi_R + \Delta P_i)$$

\downarrow 36 \longleftrightarrow 0

$L_p \gg L_p$ capillari perchè la fenestratura è circa il doppio

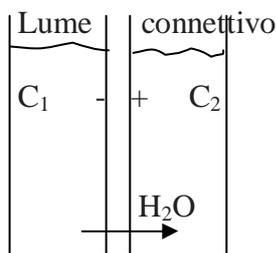
Ultrafiltrato:

- 180 litri al giorno di acqua
- piccoli soluti e proteine a basso PM
- l'Hb può passare ma non lo fa perché è dentro i globuli rossi
- riassorbimento del 99% dell'acqua ultrafiltrata
- saliva, succhi secreti → 6-7 l/gg → a livello dell'intestino si assorbono ~9l/gg di acqua di cui il 90% è assorbito a livello del tenue.

$$J_v = P_{osm}(\Delta\pi_R \pm \Delta P)$$

$$J_v = L_p(\Delta\pi_R \pm \Delta P)$$

} → Dipendono entrambe da $\Delta\pi$ e ΔP quindi se sono 0 il $J_v = 0$



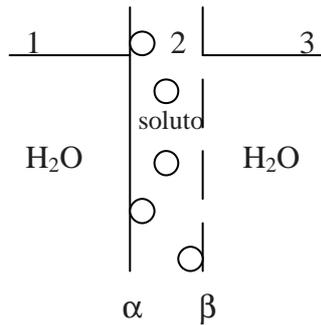
$C_1 = C_2$; $P_1 = P_2$; mi aspetto $J_v = 0$ → invece noto un flusso di acqua dall'ambiente lumale al connettivo. Però non è né flusso diffusionale né in massa in quanto non sono stati trovati trasportatori o cotrasportatori. Non è dovuto nemmeno a meccanismi di pinocitosi o a cotrasporto di glucosio. Inserendo il mannitolo in 1 si è visto che non viene trasportato in 2. Inoltre non è dovuto nemmeno alla differenza di potenziale della membrana.

Se nell'ambiente 1 abbasso la [Na] → blocco trasporto transepiteliale e quindi non ho + trasporto dell'H₂O ma se blocco il trasporto dell'acqua (ipertonico l'ambiente 1 con soluto inerte) il trasporto di Na continua: *il trasporto dell'acqua dipende dal trasporto di Na ma non viceversa.*

Questo è dipendente dal metabolismo cellulare x cui serve ATP: si parla in questo caso di **trasporto attivo secondario** perché non c'è nessuna pompa per l'acqua e non c'è alcun controtrasportatore specifico per essa.

Nel ridurre la [Na] non devo mai bloccare la pompa Na⁺K⁺.

MODELLO di CURRAN & MacINTOSH →



α - β → 2 membrane con caratteristiche diverse
 1-3 → uguali: $C_1=C_3$ e $P_{i1}=P_{i3}$
 α → σ per il Na = 1; $L_p \ll L_{p\beta}$; trasporto attivo per Na
 β → σ per il Na ~ 0; $L_p \gg L_{p\alpha}$

Il Na va da 1 → 2 e l'ambiente 2 ha > [Na] e avrà un richiamo di H₂O dall'ambiente 1 a 2 ma anche da 3 a 2:

$$\begin{aligned}
 J_{V_{1-2}} &= L_p(\Delta\pi_R)_{2-1} = L_p\sigma_\alpha RT\Delta C_S \\
 J_{V_{3-2}} &= L_p(\Delta\pi_R)_{2-3} = L_p\sigma_\beta RT\Delta C_S
 \end{aligned}
 \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{I } \sigma \text{ sono diversi e se } \sigma_\beta = 0 \text{ tutto il termine } \text{è } 0 \text{ e l'unico} \\ \text{termine è: } J_{V_{1-2}} = L_p(\Delta\pi_R)_{2-1} = L_p\sigma_\alpha RT\Delta C_S \end{array}$$

Si innalza di conseguenza il livello di acqua in 2 ed è + facile tanto + è piccolo l'ambiente 2. Nell'ambiente 2: $P_{i2} > P_{i1}=P_{i3}$. In virtù del rigonfiamento dell'ambiente 2 ho che:

$$\begin{aligned}
 J_{V_{1-2}} &= L_{p\alpha}(P_{i2} - P_{i1}) \\
 J_{V_{2-3}} &= L_{p\beta}(P_{i2} - P_{i3})
 \end{aligned}
 \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \rightarrow \Delta P_{2-1} = \Delta P_{2-3} \text{ e siccome } L_{p\beta} \gg L_{p\alpha} \rightarrow J_{V_{2-1}} \text{ è trascurabile.}$$

L'acqua va da 1 a 2 per differenza di pressione osmotica e da 2 a 3 per differenza di pressione idrostatica → si ha quindi un flusso di acqua da 1 a 3 pur essendo l'ambiente 1 = 3

RIEPILOGO del TRASPORTO di Na⁺ e H₂O:

- l'acqua è trasportata come soluzione di sali di Na
- le soluzioni bagnanti i 2 lati sono isotoniche tra loro, anche la soluzione trasportata
- *quasi tutti gli epitelii assorbono o secernano soluzioni di sali di Na, lievemente ipertoniche o isotoniche al sangue e ciò avviene anche in assenza di gradienti osmotici o di Pi favorevoli*
- i trasporti di sali di Na e acqua sono selettivamente legati
- i sali di Na trascinano l'acqua → *il trasporto attivo di acqua è di tipo SECONDARIO legato al trasporto primario di Na.*
- L'ipotesi è che i gradienti osmotici (e idrostatici) utili siano creati direttamente dall'accumulo locale dei sali di Na trasportati (osmosi locale)
- Per verificare l'accoppiamento tra acqua e Na → modello della doppia membrana o di Curran e Mac Intosh →
- Il Na viene pompato attivamente da A a B
- B è un microambiente e il deflusso di Na verso C è lento e la [Na] aumenta
- Osmolarità diventa maggiore in B rispetto ad A e C e di conseguenza l'attività dell'acqua è minore in B rispetto ad A e C → flusso di acqua da A verso B e da C verso B per differenza di pressione osmotica:
- $J_v = L_p\sigma\Delta\pi_t$ → il flusso netto osmotico preponderante è quello che va da A a B poiché la $\Delta\pi$ reale tra B e C è ~0 essendo $\sigma_{NaCl} \sim 0$
- Questo ingresso di acqua da A a B provoca un rigonfiamento di B creando una differenza di pressione idrostatica tra B e A e tra B e C → flussi netti di acqua da B a A e da B a C in relazione alla ΔP :
- $J_v = L_p\Delta P$ → il flusso che va da B a C è preponderante su quello di ritorno da B a A in quanto L_p della membrana α è < L_p di quella β

- *Si ha un flusso netto osmotico da A a B e un flusso netto dipendente da differenze di pressione idrostatica da B a C col risultato totale che si verifica un flusso di soluzione da A a C anche se tra questi 2 ambienti non sono presenti differenze di pressione osmotica e P_i .*
- *In base a tale modello è prevedibile anche l'osmolarità del liquido trasportato:*
- *La soluzione in B è ipertonica rispetto a quella sia di A sia di C*
- *La soluzione di B è spinta in C dalla differenza di pressione idrostatica*
- *Il movimento di soluto da B a C è espressa dall'equazione: $J_s = P\Delta C_s \pm J_v(1-\sigma)C^- s$*
- *Secondo il modello teorico l'osmolarità del liquido trasportato è sempre ipertonica.*