

Obecná patofyziologie hospodaření s vodou a elektrolyty.

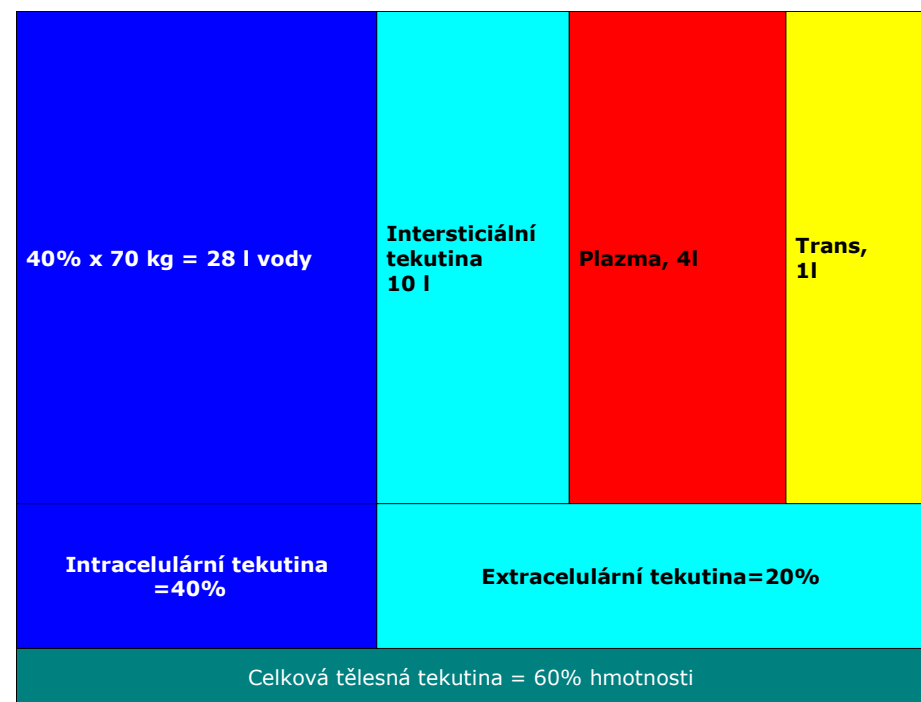
2. 4. 2008

Tělesné kompartmenty tekutin

- Voda je v organismu kompartmentalizovaná do několika oddílů.
- **Intracelulární tekutina (ICF)** zahrnuje 2/3 celkové vody. Primárně se jedná o roztok K^+ a organických aniontů, proteinů etc.
- Regulace: buněčné membrány + buněčný metabolismus.

Tělesné kompartmenty tekutin

- **Extracelulární tekutina (ECF)** zahrnuje zbývající 1/3 tělesné vody.
- ECF je primárně roztok $NaCl$ a $NaHCO_3$.
- ECF se dále dělí na 3 subkompartmenty:
 - **Intersticiální tekutina (ISF)** obklopuje buňky, ale necirkuluje. Zahrnuje asi 3/4 ECF.
 - **Plasma** cirkuluje jako extracelulární komponenta krve. Je to 1/4 ECF.
 - **Transcelulární tekutina** je tekutina mimo tyto kompartmenty (1-2 litry- cerebrospinální tekutina, trávicí šťávy, hlen etc.).



Speciální poznámky:

- Všechny kompartmenty jsou v osmotické rovnováze (s výjimkou přechodných změn).
- Ionty a malé molekuly roztoků, které tvoří ECF, jsou v rovnováze, při podobných koncentracích v každém subkompartmentu.
- **Objem ECF je proporcionální celkovému obsahu Na⁺.**

Pravidlo 60-40-20 :

60 % tělesné hmotnosti je voda

40% tělesné hmotnosti jsou intracelulární tekutiny

20% tělesné hmotnosti je extracelulární tekutina

Iontové složení tělesných tekutin:

- Plasma obsahuje cca 7 volumových % proteinů a lipidů.
- Aktivita iontů je limitovaná obsahem vody v roztoku.
- Některé ionty se vážou na proteiny nebo jiné ionty.

Elektrolyty	Plasma, (mEq/L) [molarita]	Plasmatická voda (mEq/L) [molalita]	Intersticiální tekutina (mEq/L)	Intracelulární tekutina (mEq/L)
Kationty:				
Na ⁺	142	153	145	10
K ⁺	4	4.3	4	160
Ca ⁺⁺	5	5.4	5	2
Mg ⁺⁺	2	2.2	2	26
Kationty celkově:	153	165	156	198
Anionty^o				
Chloridy	101	108.5	114	3
Bikarbonáty	27	29	31	10
Fosfáty	2	2.2	2	100
Sulfáty	1	1	1	20
Organické kyseliny	6	6.5	7	
Proteiny	16	17	1	65
Anionty celkově:	153	165	156	198

Výměna mezi intracelulárními a extracelulárními kompartmenty:

- ❑ ICF a ECF jsou odděleny membránami buněk.
- ❑ Bílkovinné komponenty buněčných membrán zaručují podstatnou část permeability membrán pro vodu při pozorném řízení selektivní permeability pro ionty.
- ❑ Buněčné membrány jsou flexibilní. Jestliže voda teče dovnitř (ven) do (z) buněk, roztahují se (kontrahují). Hydrostatické tlaky proto nehrají významnou roli a osmóza vede spíše k tokům než ke změnám tlaku.
- ❑ Osmóza se objevuje, pokud vzniká gradient nepropustného solutu přes membránu permeabilní pro vodu.

Výměna mezi intracelulárními a extracelulárními kompartmenty:

- ❑ V buňkách se objevují osmotické toky, pokud vzniká osmotický gradient mezi intracelulárními a extracelulárními tekutinami.
- ❑ **V celém těle jsou tyto kompartmenty vždy v osmotické rovnováze přesto, že složení tekutin v těchto kompartmentech může být velmi odlišné.**
- ❑ Přidání nebo odebrání vody nebo solutů jednomu nebo několika tělesným kompartmentům povede k výměně vody mezi ICF a ECF, pokud došlo k narušení osmotické rovnováhy.

Výměna tekutin mezi plasmou a intersticiální tekutinou

- ❑ Vodné roztoky plasmy a intersticiální tekutiny se vyměňují přes stěny kapilár.
- ❑ Primární síly, které řídí tuto výměnu, jsou:
 - ❑ Hydrostatický tlak
 - ❑ Osmóza

Membránové transportní mechanismy

- ❑ Póry v buněčné membráně dané strukturou **transmembránových bílkovin** umožňují pasáž malých iontů (H^+ , K^+ , Na^+) přes membránu pasivní difuzí přes tuto bílkovinu (= **iontový kanál**).
- ❑ Nebo transmembránový protein může investovat energii obvykle z ATP do aktivace přesunu iontů přes buněčnou membránu. V tom případě se chová jako **iontová pumpa**.

Membránové transporty jsou řízeny silami, které působí na úrovni membrány

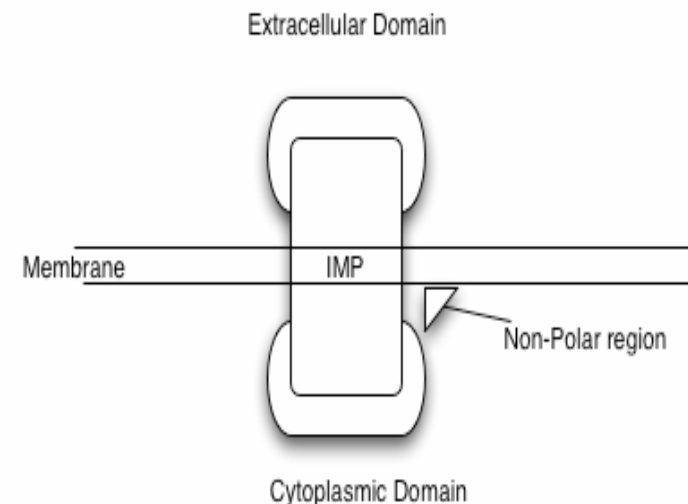
- Na molekulu může působit více sil najednou (např. koncentrační a napěťový gradient).
- Pohyb vody je řízen obvykle jak tlakovým, tak osmotických gradientem.
- Množství vody, které se přesune během osmózy je veliké, což vede ke změnám objemu buňky.

Transmembránový protein

- Transmembránový protein je integrální membránový protein.
- *Hydrofobní doména* zasahuje do lipidového vnitřku membrány, zatímco hydrofobní domény zasahují do vodního prostředí uvnitř nebo vně buňky nebo kompartmentu.
- *N-terminální část* bílkoviny je obvykle orientována extracelulárně a *C-terminální část* do cytoplasmatické oblasti.
- Mnohé transmembránové proteiny mají *alfa helix*, který mnohokrát prochází membránou, čímž bílkovinu kotví v membráně.
- Většina má vnitřní *topogenní sekvenci*.

Typy transmembránových proteinů

- Dva základní typy:
- Prochází jen jednou
- Prochází mnohokrát a má k tomu mnohočetné topogenní sekvence



Integrální membránový protein transmembránového typu

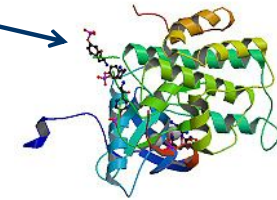
Funkce integrálních membránových proteinů (IMP)

- ❑ Transportér různých molekul
- ❑ Identifikace buňky pro rozpoznání jinými buňkami nebo okolím buňky
- ❑ Iniciace intracelulární odpovědi na vnější molekuly

- ❑ Integrální membránové proteiny mohou být
 - ❑ receptory
 - ❑ kanály
 - ❑ enzymy

Typy IMP

- ❑ Integrin
- ❑ Cadherin
- ❑ Insulinový receptor
- ❑ NCAM (neural cell adhesion molecule)
- ❑ Selektin
- ❑ Buněčné adhezivní proteiny
- ❑ Receptorové proteiny
- ❑ Glykoforin



Buněčné adhezivní molekuly

- ❑ Jsou často *transmembránovými receptory*. Extracelulární doménou se často váže na jiný protein
- ❑ Na povrchu sousedních buněk (*adheze buňka-buňka*)
- ❑ Na složku extracelulární matrix (*adheze buňka-extracelulární matrix*).
- ❑ Molekula, na kterou se váže adhezivní protein, se nazývá *ligand*.

Transport makromolekul přes buněčné membrány

- ❑ Se děje pomocí endocytózy: buněčná membrána invaginuje do buňky a tvoří vezikulu (endosom), který obsahuje extracelulární tekutinu a další látky
- ❑ Umožňuje transport makromolekul, které se jinak nedostanou přes buněčnou membránu
- ❑ Některé endosomy jsou pokryty receptory, které selektivně vážou molekuly (LDL receptor)
- ❑ Makromolekuly jsou obvykle zlikvidovány lysozomy

Transportní mechanismy

- *Pohyb tekutin* je umožněn primárně působením *tlaku*.
- Hydrostatický tlak způsobuje pohyb tekutin a látek v nich rozpuštěných přes póry v plasmatické membráně.
- Tento pohyb je úměrný tlakovému gradientu, ploše a propustnosti této bariéry.

Membránové transporty jsou řízeny silami, které působí na úrovni membrány

Typ transportu	Rozdíly v	Síla
Difúze	koncentraci	Koncentrační gradient
Elektrický proud	napětí (voltage)	"Voltage" gradient
Objem (objemový tok)	tlaku	Tlakový gradient
Osmóza (objemový tok)	osmotickém tlaku	Osmotický gradient

Difúze

- *Náhodný pohyb molekul z místa s vyšší koncentrací do místa s nižší koncentrací.*
- Difúze různých látek spolu **neinterferují**.
- Látky mohou překročit membrány difúzí, pouze pokud jsou hydrofobní nebo přestupují přes tight junctions.
- Difúze vody podle koncentračního gradientu se nazývá osmóza.

Difúze

- Prostá difúze přes membrány se označuje jako *permeabilita*
- Nevyžaduje speciální dodávku ATP
- Je úměrná koncentračnímu gradientu
- Nedochozí k saturaci
- **Tok = (konstanta permeability) × (koncentrační rozdíl)**
- *Konstanta permeability* je poměr difúzní konstanty a tloušťky membrány; rychle pronikající látky mají vysokou permeabilitní konstantu (hydrofobní látky mají vyšší permeabilitu přes lipidovou dvojvrstvu membrán)
- Tok (flux) se děje vždy z místa vyšší koncentrace do místa s nižší koncentrací.

Usnadněná difúze

- Proteiny fungují jako nosiče nebo póry, které dovolují průnik látek, které nemohou projít přímo, bez pomoci.
- Tento pohyb je ještě pasivní, z místa vyšší koncentrace do místa nižší koncentrace difundující látky
- Funguje jen přes buněčné membrány.
- Příbuzné látky mohou soutěžit o stejného nosiče nebo póry.
- Maximální transport je charakterizován jako T_m (transportní maximum).

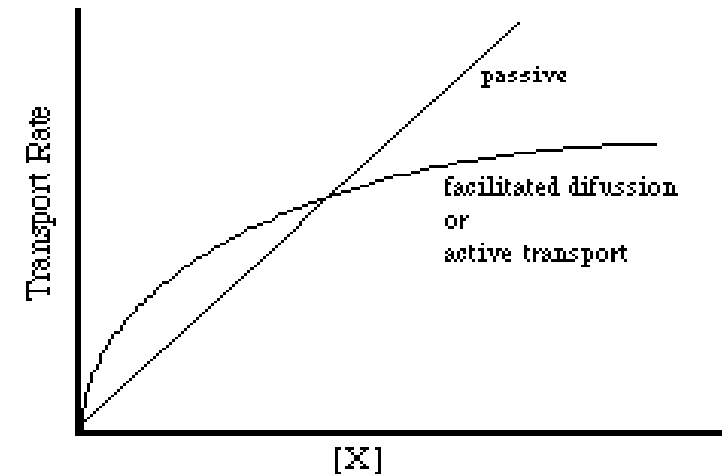
Usnadněná difúze

- Některé transportní proteiny tvoří kanály s vrátky ("gates,"); vrátka jsou normálně uzavřena a otevírají se na elektrické nebo chemické stimuly
- Některé transportéry přenášejí více než jeden typ molekuly (spřažený transport)

Usnadněná difúze

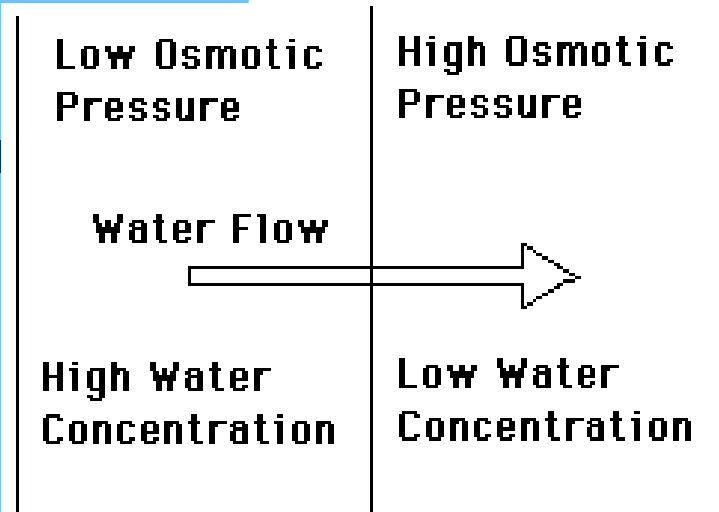
- **Usnadněná difúze** využívá membránových proteinových kanálů k tomu, aby molekuly s nábojem (které jinak nemohou proniknout přes membránu) volně difundovaly dovnitř a ven z buňky. Časté jsou zejména kanály pro transport K^+ , Na^+ a Cl^- .
- Rychlost usnadněné difúze je limitována počtem dostupných molekul kanálů na rozdíl od difúze, jejíž rychlost je závislá pouze na koncentračním gradientu.

Rozdíly v transportní rychlosti mezi pasivním transportem, usnadněnou difúzí a aktivním transportem



Osmóza:

Osmóza je difúze vody podél jejího koncentračního gradientu.
Čistá voda má molekulární váhu 18 g/M, takže její koncentrace je asi 55 M!



Osmóza

- Roztoky zabírají místo, které by za jiných okolností vyplňovala voda v roztoku, a jsou často doprovázeny molekulami vody, což snižuje jejich aktivitu (efektivní koncentrace).
- Buněčné membrány jsou pro vodu propustné, ale nepropouštějí všechny nebo žádné rozpuštěné látky.
- Za těchto podmínek znamená gradient této látky také gradient v koncentraci volné vody.

Osmóza

- Hydrostatický tlak může také způsobovat pohyb vody.
- Pokud působí proti osmotickému gradientu, může být osmotický tok zpomalen nebo dokonce zastaven.
- Pokud je hydrostatický tlak tak velký, že je schopen zastavit osmózu, dochází k rovnováze.

Osmolarita versus tonicita:

- **Osmolarita** měří efektivní gradient pro vodu za předpokladu, že osmoticky účinné látky nikam neprostupují. Je to jednoduše počet rozpuštěných částic. Proto 300 mM roztok glukózy, 300 mM roztok urey a 150 mM roztok NaCl mají stejnou osmolaritu.

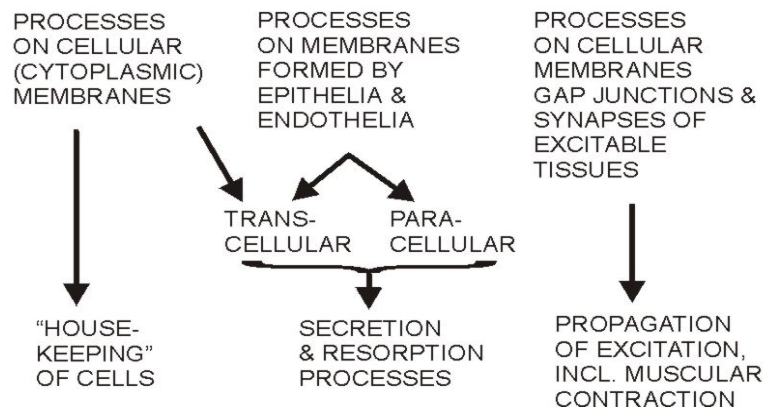
Osmolarita versus tonicita:

- **Tonicita** je funkční termín, který popisuje tendenci roztoku odolat expanzi extracelulárního objemu.
- Dva roztoky jsou **izoosmotické**, pokud obsahují stejný počet rozpuštěných částic bez ohledu na to, jak mnoho vody proteče přes danou membránu.
- Dva roztoky jsou **izotonické**, pokud nedojde k žádnému pohybu vody přes membránovou bariéru bez ohledu na to, jak mnoho částic je v nich rozpuštěných.
- 150 mM roztok NaCl bude *izoosmotický* a zároveň i *izotonický* - buňka v něm nebude otékat ani se nebude svrašťovat. V *izoosmotickém* roztoku 300 mM urey dojde k otoku buňky až k jejímu prasknutí, protože tento roztok urey se bude chovat jako *hypotonický*.

Fyziologie membránového transportu

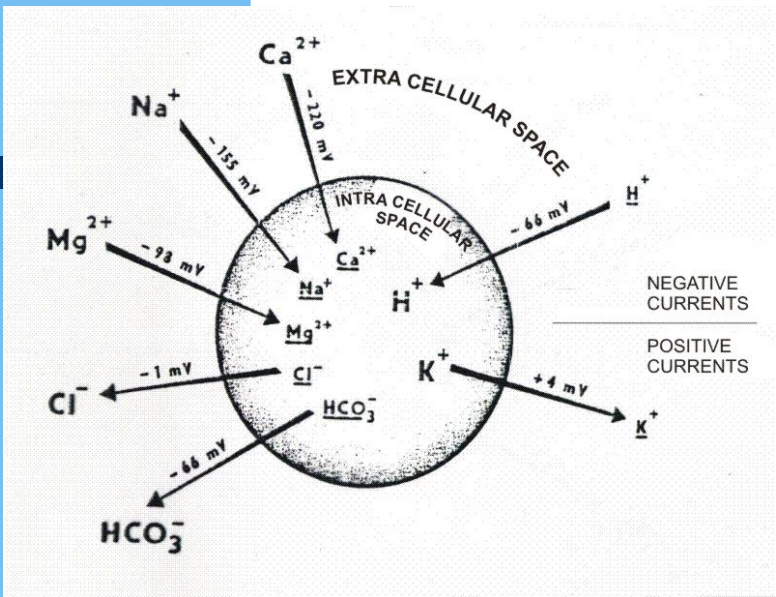
Typy transportu

TRANSPORT PROCESSES AT THE CELLULAR LEVEL - BASAL ROLE



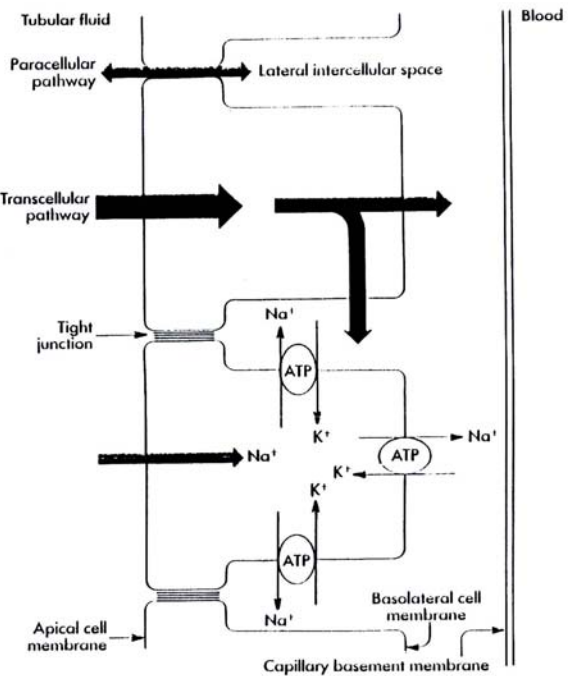
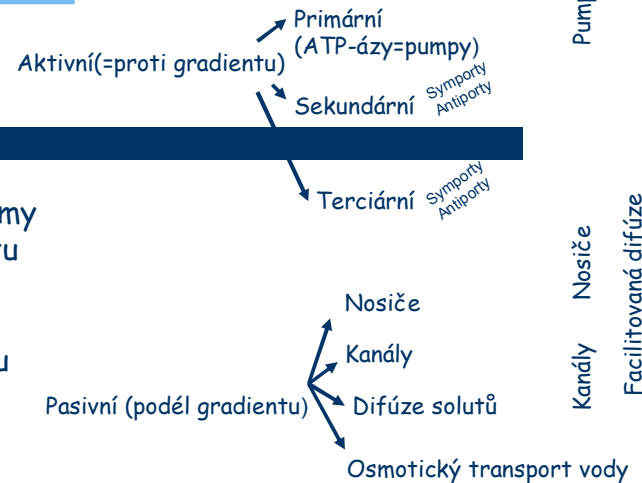
Iontové koncentrace, gradienty a rovnovážné potenciály

Ion	Concentrations		Blood: Cytoplasma Gradient	Equilibrium voltage E_{ion}
	Blood	Cytoplasma		
Na ⁺	145 mmol	12 mmol	12:1	+66 mV
K ⁺	4 mmol	140 mmol	1:35	-94 mV
H ⁺	40 nmol	100 nmol	1:2,5	-24 mV
Cl ⁻	115 mmol	4 mmol	29:1	-89 mV
HCO ₃ ⁻	25 mmol	10 mmol	2.5:1	-24 mV
Mg ²⁺	1.5 mmol ²	0.8 mmol ²	1.9:1	+8 mV
Ca ²⁺	1.8 mmol ²	100 nmol ²	18000:1	+130 mV
HPO ₄ ²⁻	1 mmol	60 mmol ³		



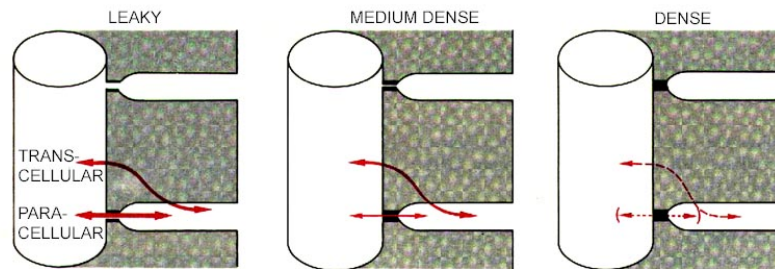
Transporty

Mechanismy transportu přes buněčnou membránu



„Leaky“ a „tight“ epitely

Rozdělení podle poměru para- a transcelulárních toků
Leaky epitely: podstatné objemy transportu vody a solutů, většina resorbčních epitelů.



$P_{trans}/P_{para} < 1$
 EXAMPLES:
 Proximal renal tubulus
 small intestine acini and proximal segments of ducts of salivary glands, sweating glands and pancreas

$1 < P_{trans}/P_{para} < 100$
 EXAMPLES:
 Distal renal tubulus
 collecting duct
 colon
 distal segments of ducts of salivary glands, sweating glands and pancreas

$P_{trans}/P_{para} > 100$
 EXAMPLES:
 Urinary bladder
 epidermis

Leaky a tight epitely a sekreční a resorbční funkce

Types of epithelia according to the transport direction
and according to the trans, and paracellular components

EPITHELIA		
	SECRETING	RESORBING
"LEAKY"	ACINI & PROXIMAL SEGMENTS OF THE DUCTI OF SWEAT & SALIVARY GLANDS & PANCREAS	RENAL PROXIMAL TUBULUS SMALL INTESTINE GALL BLADDER
SEMI- LEAKY		HENLE'S LOOP DIST. & COLLECTING TUBULI COLON, RECTUM DISTAL SEGMENTS OF THE DUCTI OF SWEAT & SALIVARY GLANDS & PANCREAS
TIGHT	BARRIERS: URINARY BLADDER EPIDERMIS	

20

Rozložení typů transportu

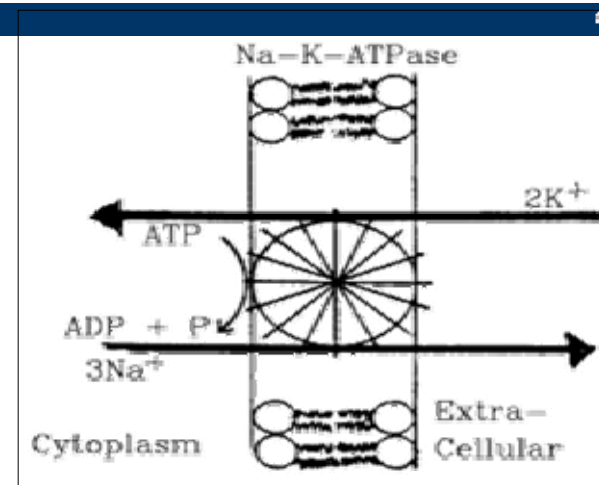
- Aktivní transport se uskutečňuje pouze přes buněčné membrány (pumpy a symporty).
- Paracelulárně se realizují pouze pasivní transporty (cestou tight junctions v epitelech)
- Protože v leaky epitelech je paracelulární tok snadno dosažitelný, může docházet snadno k paralyzaci aktivních toků. V tomto případě není možno dosáhnout vysokého koncentračního gradientu (částice se mohou paracelulárně vracet) ani vysokého elektrického gradientu

Aktivní transport

- Aktivní transport jako jediný umožňuje přesun po i proti koncentračnímu gradientu.
- Je limitován počtem přítomných molekul transportérů.
- **Primární**-membránový protein sám spotřebovává energii (obvykle získanou hydrolýzou ATP) ke konformační změně, která umožňuje transport molekuly přes tento protein (Na⁺-K⁺ pumpu).

- **Sekundární**

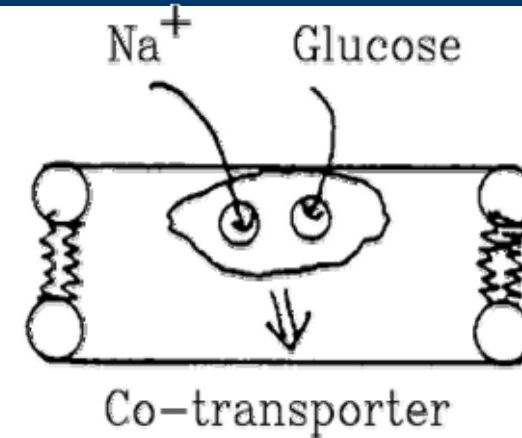
Primární aktivní transport



Na/K pumpa

- Nalezena ve všech typech buněk
- U člověka zahrnuje 30% bazálního metabolismu
- Pumpuje 3 ionty Na^+ z buňky a 2 K^+ ionty do buňky
 - 3 Na^+ se vážou na místa uvnitř buňky
 - ATP se po vazbě hydrolyzuje na ADP a uvolňuje fosfát, který se váže na pumpu
 - Pumpa změní konformaci a exponuje místa na povrchu buňky
 - 3 Na^+ opouští buňku a 2 K^+ se vážou na různá místa v buňce
 - Fosfát se uvolňuje z pumpy
 - Dojde opět ke změně konformace, což vede k expozici vazných míst uvnitř buňky
 - 2 K^+ se uvolní dovnitř buňky

Sekundární aktivní transport



Iontové kanály

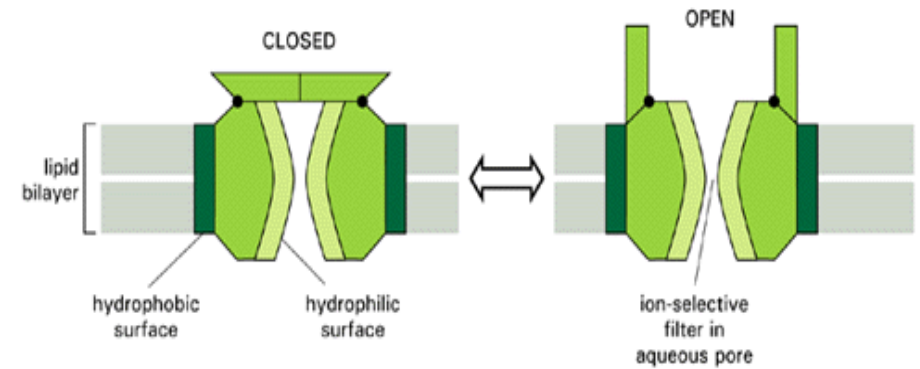
- dosud popsáno více než 100 typů kanálů.
- Funkce:
 - Elektrická excitability svalových buněk
 - Elektrická signalizace v nervovém systému (jednotlivý neuron obsahuje 10 a více iontových kanálů, umístěných v různých doménách plasmatické membrány).
- Přítomné také v buňkách rostlin a v mikroorganismech.

Iontové kanály

- **Iontová selektivita.** Póry musí být dostatečně úzké v místě působení sil tak, aby prošly pouze ionty vybrané velikosti a náboje. Má se za to, že pronikající ionty se musí zbavit většiny doprovázející vody, aby prošly přes nejužší část kanálu: to limituje rychlost jejich průchodu.

Iontové kanály

- Iontové kanály nejsou stále otevřené, nýbrž jsou vrátkované.
- Otevírají se na specifické podněty, zejména na
- změnu **napětí na membráně** (*voltage-gated channels*),
- **mechanický stres** (*mechanically gated channels*)
- **vazbu ligandu** (*ligand-gated channels*). Ligandem může být
 - *extracelulární mediátor*, např. neurotransmitter (*transmitter-gated channels*)
 - *intracelulární mediátor*, např. iont (*ion-gated channels*), nebo nukleotid (*nucleotide-gated channels*).
- Aktivita mnohých iontových kanálů je dále modulována jejich fosforylací nebo defosforylací.

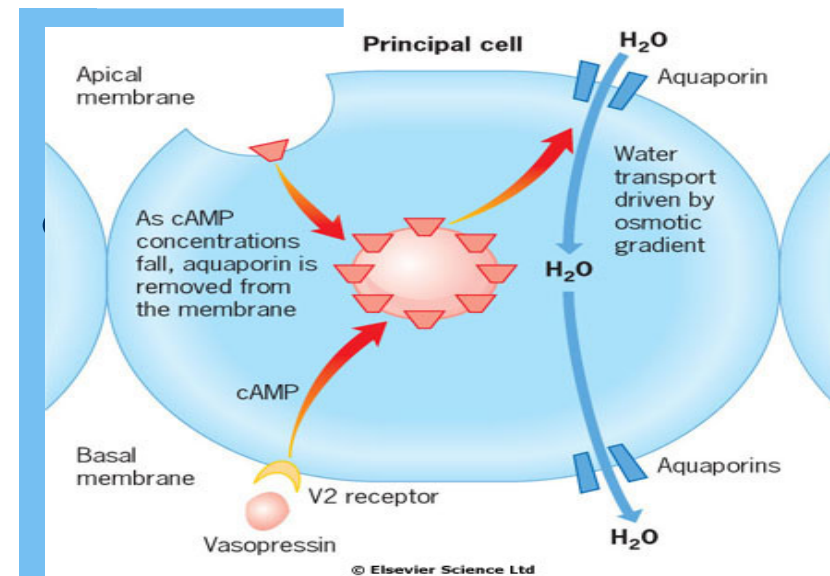


Typický iontový kanál, který mění konformaci. Transmembránový proteinový komplex vytváří v lipidové dvojvrstvě hydrofilní póry jen tehdy, pokud jsou vrátka otevřena. Polární postranní řetězce aminokyselin vytvářejí stěnu póru, hydrofobní postranní řetězce vstupují do interakce s lipidovou dvojvrstvou.

Regulace volumu a tonicity

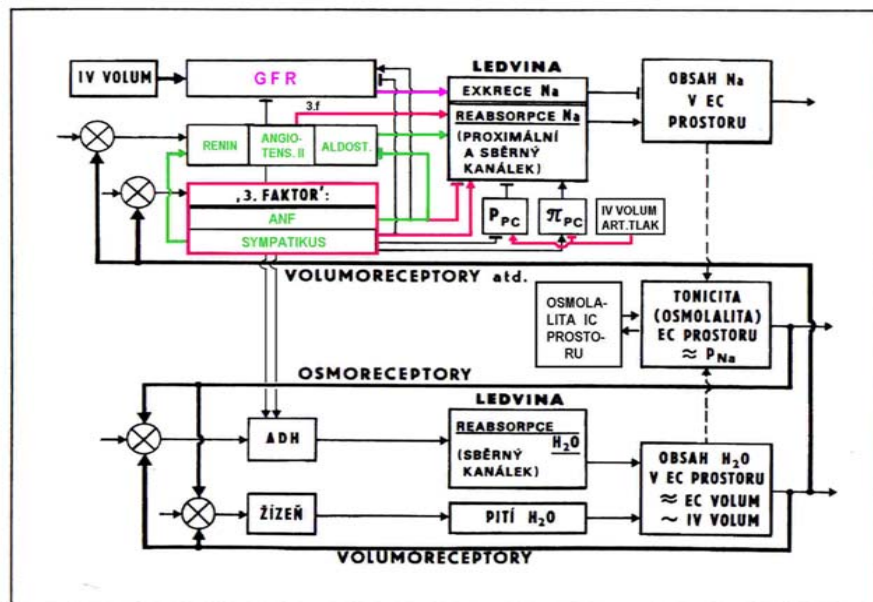
Voda: asi 1,5 l se vyměňuje denně nezbytně (z toho moče musí být min. 0,5 l), zbytek obratu je fakultativní. Reguluje se příjmem (žízň) a vylučováním moče (adiuretinem).

Tonicita se reguluje vodou, cirkulující objem v poslední instanci sodíkem.



Aquaporiny řízený transport vody v renálním sběrném kanálku. Stimulace receptoru 2 pro vasopresin způsobuje inzerci aquaporinu (prostřednictvím cAMP) do apikální membrány, což umožní transport vody podél osmotického gradientu

Regulace volumu a tonicity



Kombinace poruch volumu a tonicity v extracelulárním prostoru (9 teoreticky možných kombinací)

		TONICITA		
		↓	-	↑
VOLUM	↑	① Tělo dostává (zadržuje) převážně H ₂ O NEKONFLIKTNÍ Na H ₂ O	② Tělo dostává (zadržuje) převážně izoosmolární tekutinu Na H ₂ O	③ Tělo dostává (zadržuje) převážně Na KONFLIKT, KOMPROMIS Na H ₂ O
	-	④ NEPRAVDĚPOD. Na H ₂ O	⑤ NEPRAVDĚPOD. Na H ₂ O	⑥ NEPRAVDĚPOD. Na H ₂ O
	↓	⑦ Tělo ztrácí převážně Na KONFLIKT, KOMPROMIS Na H ₂ O	⑧ Tělo ztrácí převážně izoosmolární tekutinu Na H ₂ O	⑨ Tělo nedostává (ztrácí) převážně H ₂ O NEKONFLIKTNÍ Na H ₂ O

Poruchy tonicity ⇔ poruchy vody:
stavy 1, 4, 6, 9

Poruchy volumu ⇔ poruchy sodíku:
stavy 2, 3, 8, 7

Přehled poruch volumu a tonicity včetně příčin

