

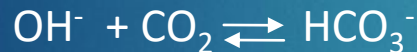
Φυσιολογία της οξεοβασικής ισορροπίας.
Επίδραση του pH στις κυτταρικές
λειτουργίες.

Σπ. Μιχαήλ

Πηγές οξέων

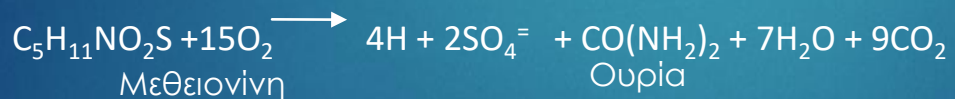
▶ Πτητικό οξύ H_2CO_3

- ▶ Αερόβιος μεταβολισμός $\rightarrow \text{CO}_2$ (τελικό προϊόν)



▶ Μη πτητικά οξέα (προϊόντα μεταβολισμού τροφών)

- ▶ Πρωτεΐνες \rightarrow αμινοξέα \rightarrow θειϊκό οξύ



- ▶ Φωσφολιπίδια \rightarrow φωσφορικό οξύ
- ▶ Υδατάνθρακες και λίπη \rightarrow οργανικά οξέα

▶ Αποβολή αλκάλων στα κόπρανα

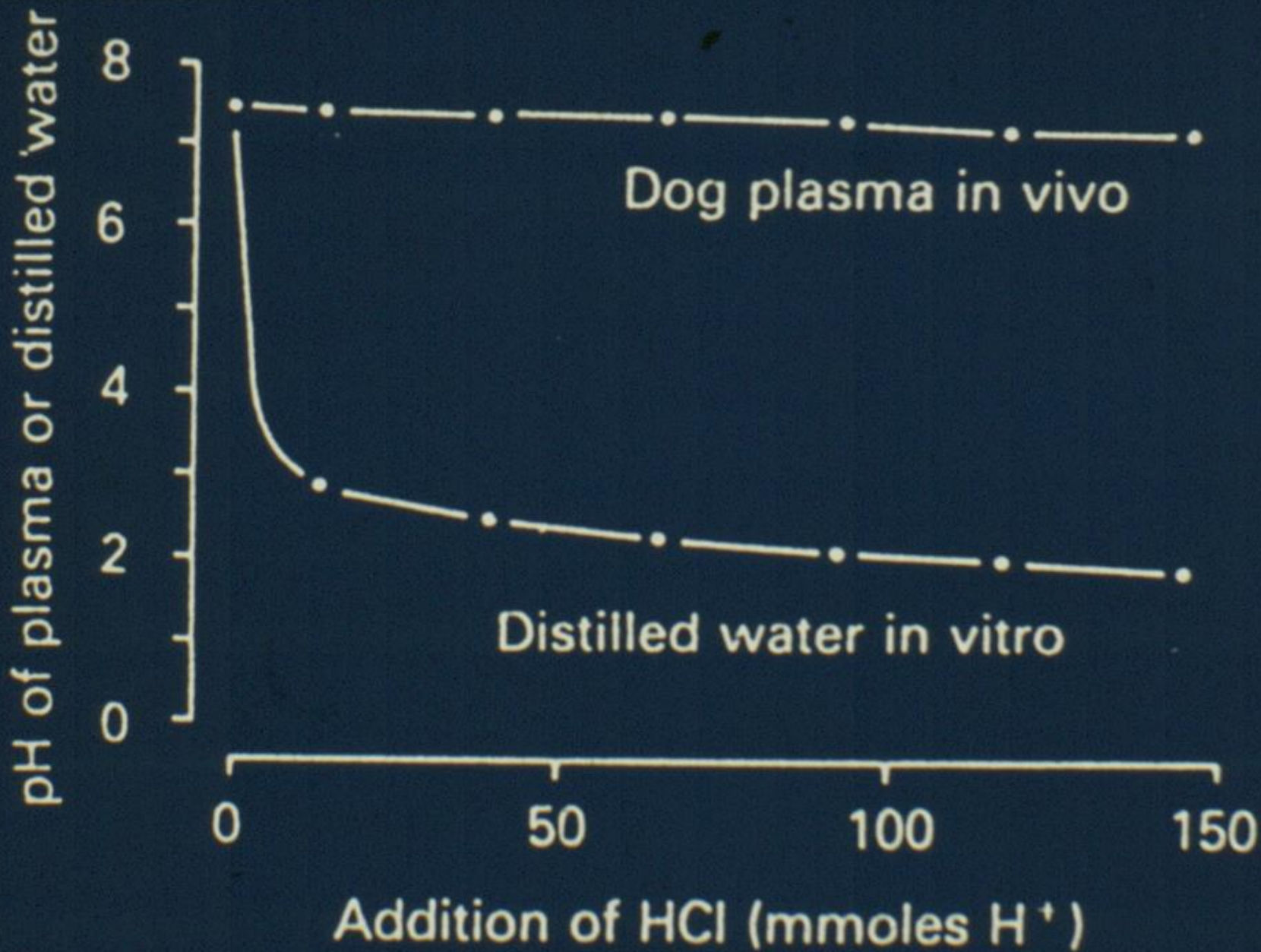
Το πρόβλημα της διατήρησης της οξεοβασικής ισορροπίας

Η άμυνα της φυσιολογικής αλκαλικότητας των υγρών του σώματος ενάντια στη σταθερή έφοδο των οξέων



pH: σταθερό (7,38- 7,42)

[H⁺]: σταθερή (0,000038- 0,000042 mEq/L ή 38-42 nmEq/L)



Γραμμές (μηχανισμοί) άμυνας

- ▶ Φυσικοχημική εξουδετέρωση

- ❖ Ταχύτατη

- ▶ Αναπνευστική συμμετοχή

- ❖ Ταχύτατη

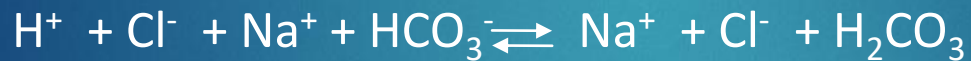
- ▶ Νεφρική συμμετοχή

- ❖ Βραδεία

Πρώτη γραμμή άμυνας

Φυσικοχημική εξουδετέρωση

Ισχυρό οξύ + Ρυθμιστικό άλας \rightleftharpoons Ουδέτερο άλας + ασθενές οξύ





$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{24 \text{ mmol/l}}{1.2 \text{ mmol/l}}$$

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12 \text{ mmol/l}}{(1.2 + 12) \text{ mmol/l}}$$

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12 \text{ mmol/l}}{13.2 \text{ mmol/l}}$$

$$\text{pH} = 6.06$$

Δεύτερη γραμμή άμυνας

Αναπνευστική συμμετοχή

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12\text{mmol/l}}{1.2 + 12\text{mmol/l}}$$

Αποβολή του CO₂ από τους πνεύμονες

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12\text{mmol/l}}{1.2\text{mmol/l}}$$

$$\text{pH} = 6.1 + \log 10 = 7.1$$

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12\text{mmol/l}}{0.03 \times 23\text{mmHg}}$$

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{12\text{mmol/l}}{0.69\text{mmol/l}}$$

$$\text{pH} = 7.34$$

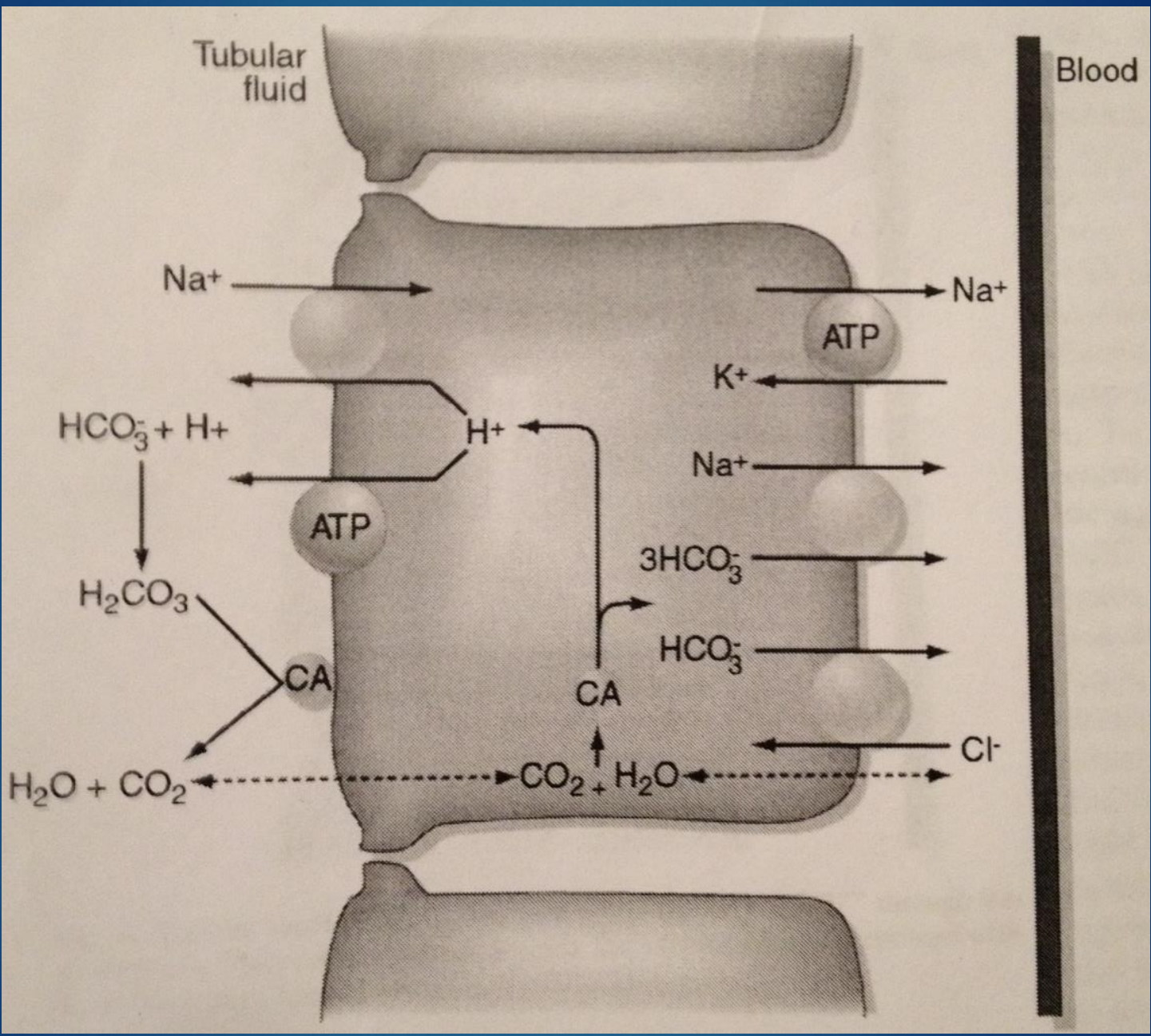
Τρίτη γραμμή άμυνας

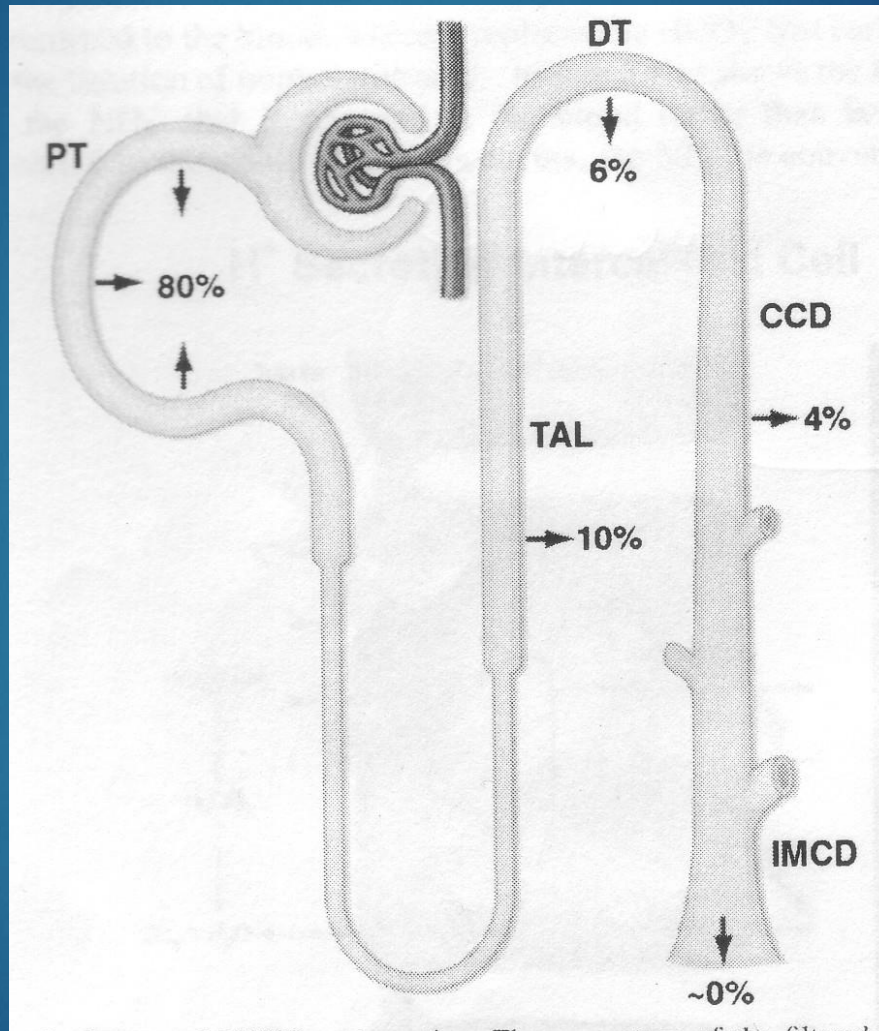
Νεφρική συμμετοχή

- ▶ Επαναρρόφηση των διηθούμενων HCO_3^-
- ▶ Επανασύνθεση και αναπλήρωση των συνεχώς εξαντλούμενων αποθηκών HCO_3^- κατά τη φυσικοχημική εξουδετέρωση
- ▶ Αποβολή H^+

Απέκκριση H^+

Σύνθεση NH_4^+





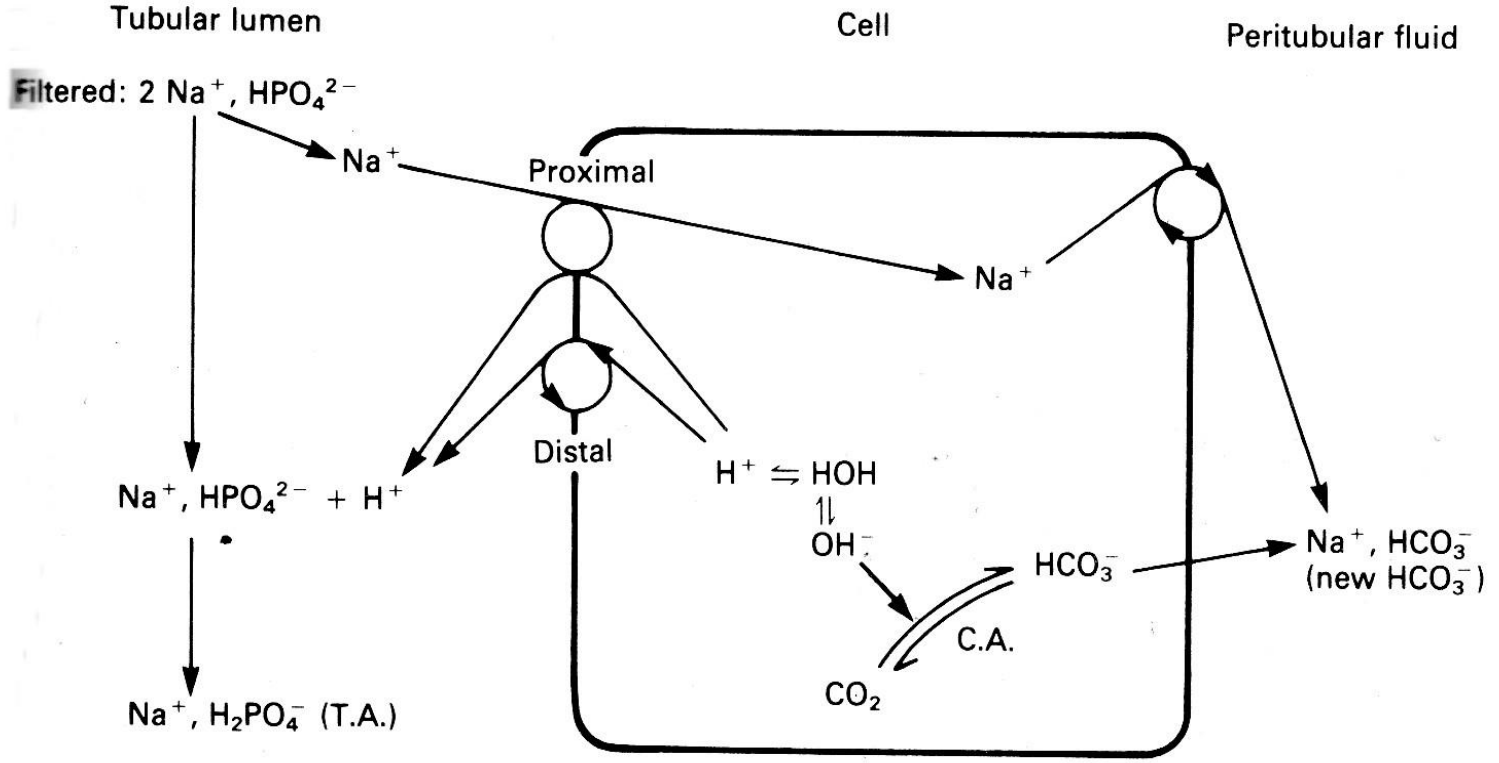
Παράγοντες που ρυθμίζουν την επαναρρόφιση HCO_3^- στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο

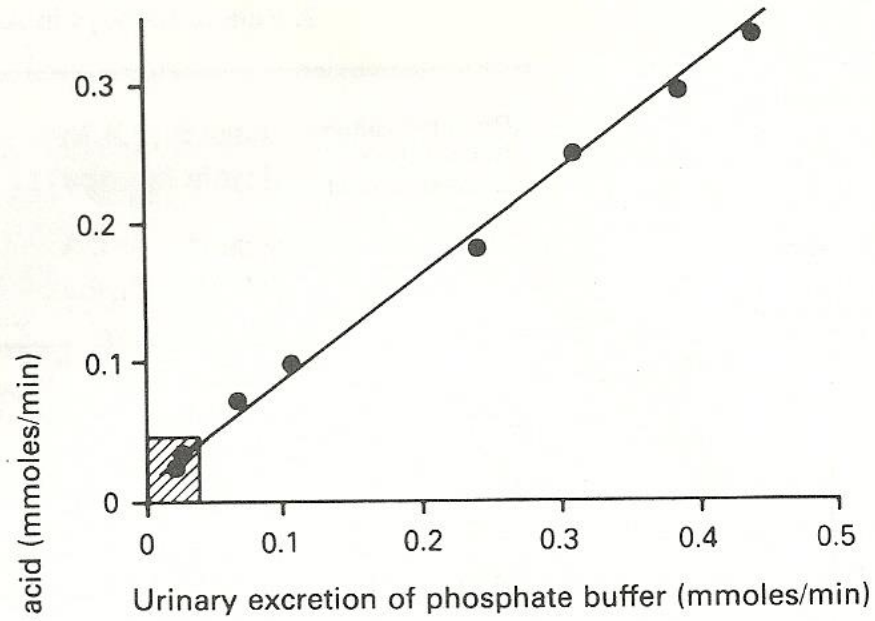
- ▶ Διηθούμενο φορτίο HCO_3^-
- ▶ Συγκέντρωση H^+ στο σωληναριακό υγρό
- ▶ Ενδοκυττάρια συγκέντρωση H^+
- ▶ Ρυθμός επαναρρόφισης Na^+
 - ❖ Αγγιοτενσίνη II
- ▶ Αρτηριακή P_{CO_2}
- ▶ Υπερασβεστιαμία, χαμηλή PTH
 - ❖ Αύξηση έκκρισης H^+

Ανασύνθεση και προσθήκη HCO_3^-

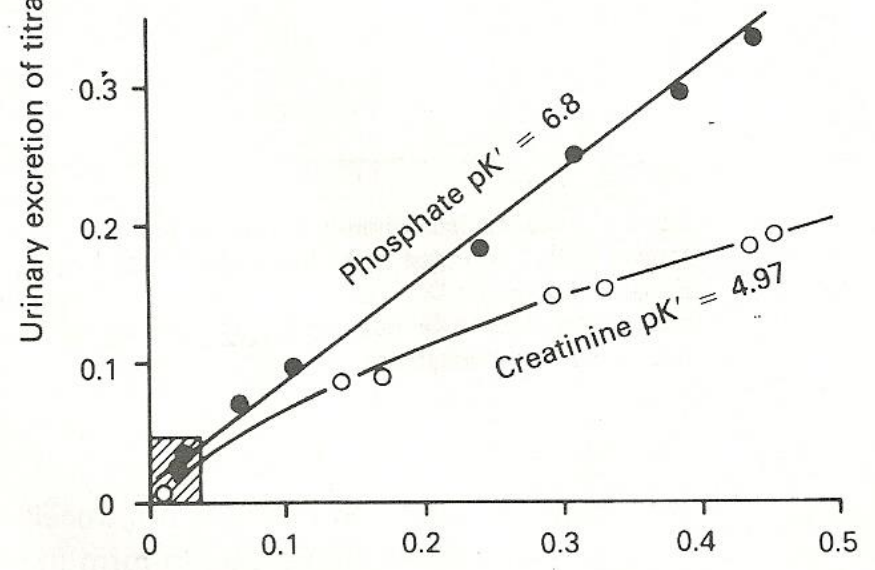
- ▶ Αποβολή τιτλοποιήσιμης οξύτητας
- ▶ Σύνθεση και αποβολή NH_4^+

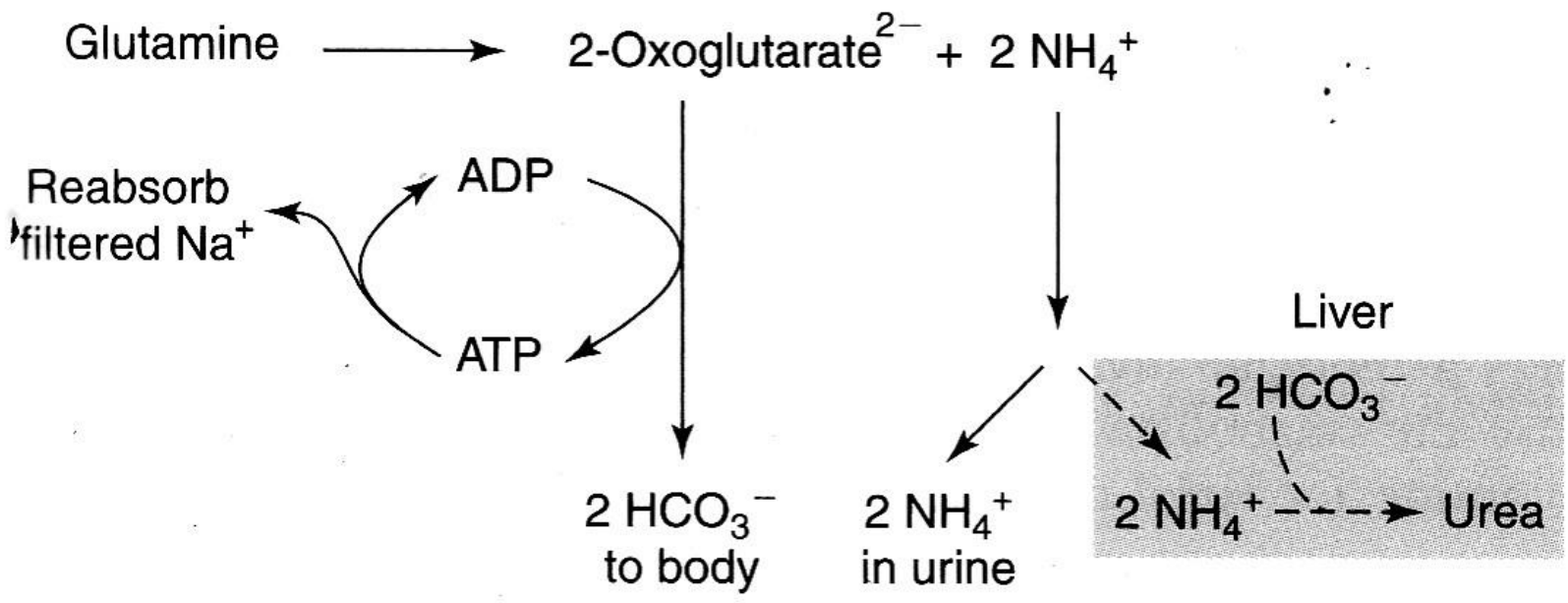
Proximal tubule
Distal tubule
Collecting duct

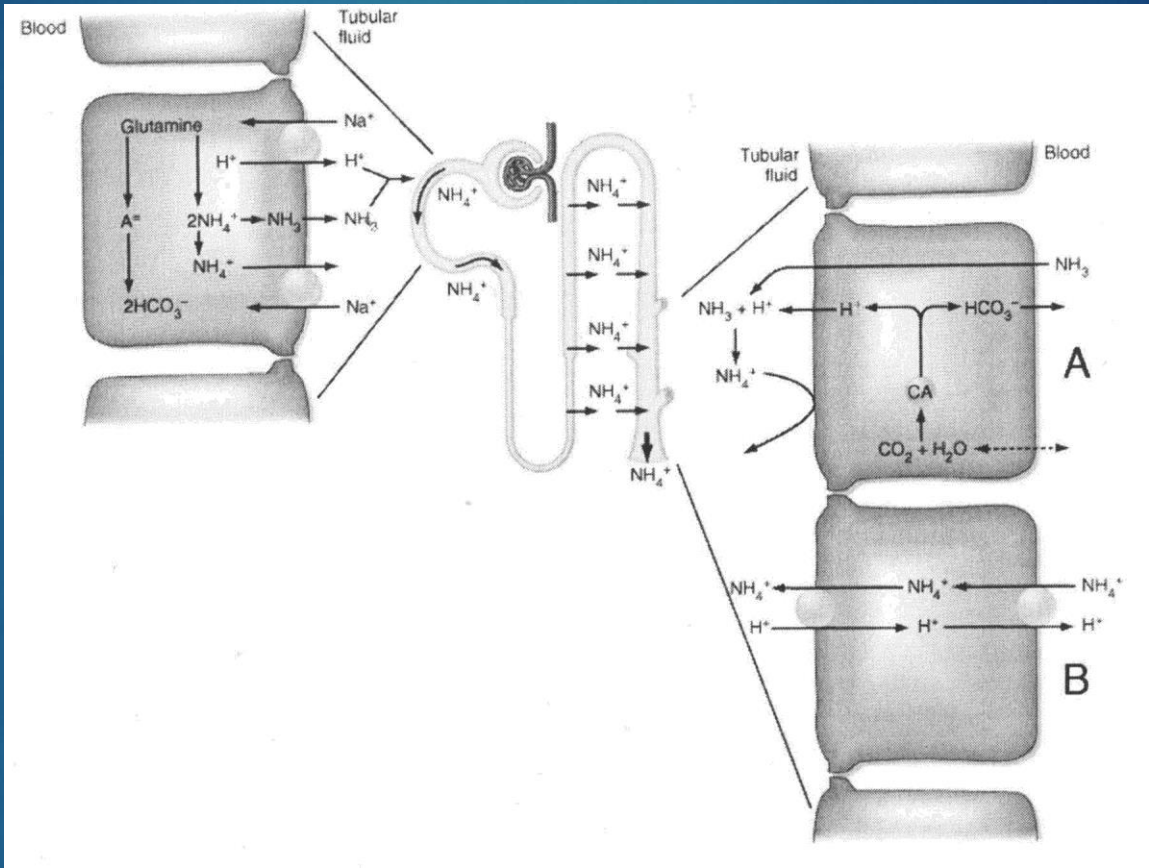


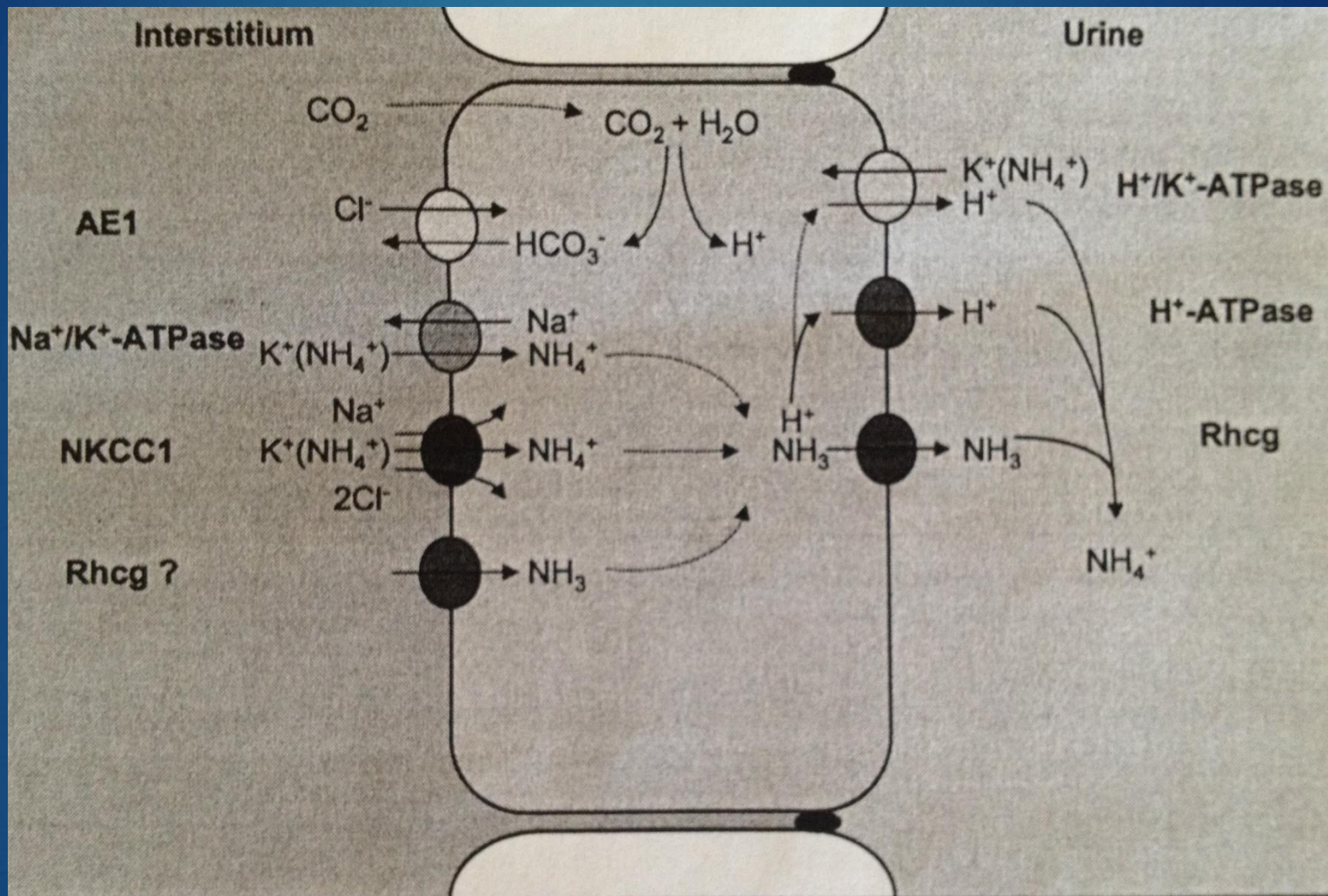


A









Μηχανισμοί επίδρασης των μεταβολών του εξωκυττάριου στο ενδοκυττάριο pH

Μεταβολές στη μεταφορά οξέων και βάσεων διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών

- ▶ Μη ιονική διάχυση οξέων και βάσεων
- ▶ Παθητική ροή φορτισμένων οξέων και βάσεων
- ▶ Ενεργοποίηση ή αναστολή των μεταφορέων
 - ▶ Μεταφορά οξέων και βάσεων

Ενδοκυττάριο pH

- ▶ Κυτταρόπλασμα : 6,8-7,2
- ▶ Μιτοχόνδρια : 7,5-8
- ▶ Πυρήνες : 7-7,5
- ▶ Όξινα κυτταρικά οργανίδια: 4,5-6,4
 - ▶ Ενδοκυττάρωση
 - ▶ Λυσοσώματα, ενδοσώματα
 - ▶ Επικεκαλυμμένοι πυρήνες
 - ▶ Εκκριτικές λειτουργίες
 - ▶ Συσκευή Golgi, αποθηκευτικά κοκκία για αμίνες και πεπτίδια

Μηχανισμοί διατήρησης της σταθερότητας του pH

- ▶ Παθητική διάχυση H^+
- ▶ Ενδοκυττάρια ρυθμιστικά συστήματα
- ▶ Παραγωγή και κατανάλωση οξέων δια μέσου του μεταβολισμού
- ▶ Ενεργητική διαμεμβρανική μεταφορά οξέων και βάσεων

Ενδοκυττάρια ρυθμιστικά συστήματα

$$I_{ολ} = I_{OB} + I_{HCO_3^-}$$

- ▶ pK οξέων και βάσεων : απέχει του pHκ
 - ▶ I_{OB} είναι χαμηλή στο pHκ
 - ▶ 10-20 mM σε pH: 7,2
 - ▶ I_{OB} αυξάνεται σε ακραίες καταστάσεις
 - ▶ 40 mM σε pH: 6,4
- ▶ $I_{HCO_3^-}$
 - ▶ 27mM σε pCO_2 : 37mmHg και pH: 7,1

$$I_{ολ} = I_{ΟΒ} + I_{HCO_3^-}$$

- ▶ Αμβλύνουν τις μεταβολές του pHκ
 - ▶ Οξεία φόρτιση του κυττάρου με H⁺
- ▶ Ανεπαρκή στην αντιστάθμιση διαρκούς φορτίου H⁺
 - ▶ Πεπερασμένη εξουδετερωτική ισχύς
 - ▶ Συνεχής παραγωγή H⁺ με το μεταβολισμό και η μεταφορά ιόντων καταναλώνουν ταχύτατα τα ρυθμιστικά

Παραγωγή και κατανάλωση οξέων δια μέσου του μεταβολισμού

Παραγωγή

- ▶ Παραγωγή CO_2
- ▶ Γλυκόλυση
 - ▶ Γαλακτικό, πυρουβικό
- ▶ Σύνθεση φωσφορικής κρεατίνης
- ▶ Υδρόλυση ATP, TG, λιπόλυση
- ▶ Παραγωγή υπεροξειδίων
- ▶ Αντιδράσεις παράκαμψης της οδού της μονοφωσφορικής εξόζης

Παραγωγή και κατανάλωση οξέων διαμέσου του μεταβολισμού

Κατανάλωση οξέων

- ▶ Όταν οι αντιδράσεις παραγωγής των οξέων οδεύουν σε αντίθετη κατεύθυνση

Κύτταρα σε σταθερή κατάσταση

- ▶ Εξισορρόπηση αντιδράσεων, σταθερά επίπεδα κυτταρικών μεταβολιτών, σταθερό κυτταροπλασματικό pH

Ενεργητική διαμεμβρανική μεταφορά οξέων και βάσεων

Μεταφορείς ιόντων

- ▶ Αντιμεταφορείς κατιόντων – H^+
- ▶ Μεταφορείς HCO_3^-
- ▶ H^+ -ATPases (αντλίες πρωτονίων)
- ▶ Συμμεταφορείς Na^+ - οργανικών ανιόντων
- ▶ Αντιμεταφορείς Cl^- - οργανικών ανιόντων

Αντιμεταφορέας Na^+ - H^+

- ▶ Ηλεκτροουδέτερος
- ▶ Οκτώ ισομορφές (Γλυκοπρωτεΐνες, ΜΒ, κατανομή)
- ▶ Βασική δομή
 - ▶ Δύο μείζονες περιοχές (domains)
 - ▶ Διαμεμβρανική
 - ▶ Κυτταροπλασματική
- ▶ Διέγερση
 - ▶ Ενδοκυττάρια οξינוποίηση
 - ▶ Ορμόνες, νευρομεταβιβαστές, αυξητικοί παράγοντες, εξωκυττάρια ουσία

H⁺-ATPases (αντλίες πρωτονίων)

- ▶ Ηλεκτρογενείς
- ▶ Κατανομή ευρύτατη
 - ▶ Εγγύς, άπω νεφρικά σωληνάρια, μακροφάγα, ουδετερόφιλα, οστεοβλάστες, νεοπλασματικά κύτταρα, βλεννώδη κύτταρα εντέρου, μεμβράνες ενδοκυττάρων οργανιδίων
- ▶ Δομή: δύο βασικά τμήματα
 - ▶ V₁ : 5 υποομάδες
 - ▶ Μεταφορά H⁺ διά της κυτταρικής μεμβράνης
 - ▶ V₂ : 8 υποομάδες
 - ▶ Υδρόλυση ATP, θέσεις σύνδεσης με καταλυτικά νουκλεοτίδια

H⁺-ATPases

Νεφρική έκφραση

- ▶ Φλοιώδη αθροιστικά σωληνάρια
 - ▶ α-εμβόλιμα κύτταρα – αυλική σωληναριακή μεμβράνη
 - ▶ Έκκριση H⁺
 - ▶ β-εμβόλιμα κύτταρα – πλευρική σωληναριακή μεμβράνη
 - ▶ Έκκριση HCO₃⁻
- ▶ Εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια
 - ▶ Αυλική μεμβράνη
 - ▶ Έκκριση H⁺

H⁺-ATPases – Λειτουργικά χαρακτηριστικά

- ▶ Υδρόλυση ATP – μεγάλη παραγωγή ενέργειας
 - ▶ Εγκατάσταση μεγάλης διαφοράς [H⁺] εκατέρωθεν της μεμβράνης
- ▶ Με V_m μεμβράνης ίσο με 0
 - ▶ Διαφορά τριών μονάδων PH
- ▶ Χαμηλός ρυθμός μεταφοράς H⁺
- ▶ Έκφραση σε επιθήλια που χρειάζονται μεταφορέα
 - ▶ High gradient / low capacity

Ρύθμιση του pHκ

$$dpHκ/dt = λ/I \times (P_A - P_E)$$

- ▶ $dpHκ/dt$: ο ρυθμός μεταβολής του pHκ
- ▶ $λ$: ο λόγος της επιφάνειας προς τον όγκο του κυττάρου
- ▶ I : εξουδετερωτική ισχύς των ενδοκυττάρων ρυθμιστικών
- ▶ P_A : ρυθμός απομάκρυνσης οξέων
- ▶ P_E : ρυθμός εισόδου οξέων

$$dp_{H\kappa}/dt = \lambda/l \times (P_A - P_E)$$

- ▶ **Εάν $P_A > P_E$**
 - ▶ Αύξηση $p_{H\kappa}$ με ρυθμό ανάλογο της $(P_A - P_E)$
- ▶ **Εάν $P_A < P_E$**
 - ▶ Μείωση $p_{H\kappa}$ με ρυθμό ανάλογο της $(P_E - P_A)$
- ▶ **Εάν $P_A = P_E$**
 - ▶ $dp_{H\kappa}/dt = 0 \rightarrow p_{H\kappa}$: σταθερό

$$dp_{Hk}/dt = \lambda/l \times (P_A - P_E)$$

- ▶ Εάν P_A και P_E άνισοι
 - ▶ dp_{Hk}/dt : ανάλογος του λ
 - ▶ Το p_{Hk} μεταβάλλεται ταχύτερα στα μικρότερα κύτταρα

$$dp_{Hk}/dt = \lambda/l \times (P_A - P_E)$$

▶ **Εάν l : άπειρη**

- ▶ p_{Hk} σταθερά ανεξάρτητο των P_A και P_E

▶ **Εάν l : προσεγγίζει το 0**

- ▶ Ταχύτετη μεταβολή του p_{Hk} ακόμη και σε ασήμαντη διαφορά P_A ,
 P_E

$$dp_{Hk}/dt = \lambda/l \times (P_A - P_E)$$

- ▶ Η l δεν είναι άπειρη, ούτε μηδενική
Είναι όμως πεπερασμένη
 - ▶ Επιδρά μόνο στο ρυθμό ανάκτησης του p_{Hk} μετά από οξεία φόρτιση του κυττάρου με οξύ
 - ▶ Δε συμμετέχει στη διατήρηση της σταθερότητας, του p_{Hk} , αλλά μόνο αποτρέπει μεγάλες μεταβολές του

Οξεία φόρτιση του κυττάρου με οξύ

- ▶ Ενδοκυττάρια ρυθμιστικά
 - ▶ Εξουδετέρωση του μεγαλύτερου φορτίου των H^+
- ▶ Μικρό φορτίο μη εξουδετερωθέντων H^+
 - ▶ Υπεύθυνο για την πτώση του pH_c
- ▶ Επάνοδος του pH_c στο φυσιολογικό
 - ▶ Μόνο όταν το σύνολο του φορτίου των H^+ απομακρυνθεί από το κύτταρο

Κατά τη διάρκεια επαναφοράς του pHκ

- ▶ Μεταφορείς ιόντων
 - ▶ Απομάκρυνση των ελεύθερων H^+
- ▶ Ενδοκυττάρια ρυθμιστικά
 - ▶ Μερική αναπλήρωση των απομακρυνόμενων H^+
- ▶ Μεταφορά των προστεθέντων H^+ από τα ρυθμιστικά προς το κυτταρόπλασμα
 - ▶ Απομάκρυνση των H^+ δια μέσου των μεταφορέων
- ▶ Φυσιολογική λειτουργία μεταφορέων
 - ▶ Επάνοδος του pHκ στο φυσιολογικό

Γιατί;

Πρωτεΐνες

- ▶ Αρνητικά φορτισμένες ρίζες, «ιδεώδης» τρισδιάστατη δομή
- ▶ Φυσιολογικό pH
 - ▶ Υψηλή χημική συγγένεια H⁺ - ιστιδίνης
- ▶ Μείωση pH
 - ▶ Αύξηση σύνδεσης H⁺ - ιστιδίνης
 - ▶ Μεταβολή φορτίου, σχήματος, λειτουργίας πρωτεϊνών

Μεταβολές του pH και κυτταρικές λειτουργίες (I)

- ▶ Κυτταρικός μεταβολισμός
- ▶ Αρτηριακό τοίχωμα
- ▶ Μυϊκή συστολή
- ▶ Ανοσοποιητικό σύστημα
- ▶ Διακυτταρική σύνδεση
- ▶ Σύνθεση DNA και κυτταρική ανάπτυξη

Μεταβολές του pH και κυτταρικές λειτουργίες (II)

- ▶ Αγωγιμότητα μεταφορέων ιόντων των κυτταρικών μεμβρανών
- ▶ Κυτταροσκελετός
- ▶ Ενδοκυττάριοι φορείς μηνυμάτων
- ▶ Άλλες επιδράσεις
 - ▶ Όγκος κυττάρων
 - ▶ Μετακίνηση H^+ στα μιτοχόνδρια
 - ▶ Έκφραση διαφόρων γονιδίων
 - ▶ Κινητικότητα κυττάρων
 - ▶ Εξωκύττωση, ενδοκύττωση
 - ▶ Αντοχή των κυττάρων στα κυτταροστατικά φάρμακα

Ένζυμα

Φωσφοφρουκτοκινάση

- ▶ Γλυκολυτικό ένζυμο
- ▶ Μετατροπή φωσφορικής φρουκτόζης σε 1,6-διφωσφορική φρουκτόζη
- ▶ Σε pH 6,5-7,5 μεγάλη ευαισθησία
- ▶ Μείωση του pH → μείωση δραστηριότητας

Φωσφορυλάση

- Καταλύει το μεταβολισμό του γλυκογόνου
- Μείωση του pH:
 - Αναστολή της μετατροπής της από μη δραστική σε δραστική μορφή

Αρτηριακό τοίχωμα

- ▶ Οξεία ενδοκυττάρια οξέωση
 - Συστολή μυϊκών κυττάρων*
- ▶ Χρόνια ενδοκυττάρια οξέωση
 - Αναστολή αγγειοσυσπαστικής και αγγειοδιασταλτικής λειτουργίας

Μηχανισμοί

- ▶ Διαταραχές δραστηριότητας ενδοκυττάρων ενζύμων

Ρύθμιση αρτηριακής πίεσης

* Αύξηση ενδοκυττάριας $[Ca^{++}]$

Μυική συστολή

Μείωση pH, ελάττωση ικανότητας παραγωγής τάσης

Μηχανισμοί

- Μείωση κυτταρικής διεγερσιμότητας
 - Μεταβολές σε επιφανειακά κανάλια ιόντων
- Παρακώλυση απελευθέρωσης Ca^{++} από το σαρκοπλασματικό δίκτυο
- Ανταγωνισμός H^+ και Ca^{++} στη σύνδεση με τη τροπονίνη
- Αναστολή της ATPase των μυικών ινιδίων
- Μείωση παραγωγής ATP στα κύτταρα

Ανοσοποιητικό Σύστημα

Πειραματικές μελέτες σε χαμηλό pH

▶ Πολυμορφοπύρρηνα

- Αναστολή χημειοταξίας, αναπνευστικής δραστηριότητας, αντιβακτηριδιακής αποτελεσματικότητας

▶ Λεμφοκύτταρα

- Μείωση κυτταροτοξικότητας και πολλαπλασιασμού
- Ανοσοανεπάρκεια

Διακυτταρική σύνδεση

- ▶ Μεταβολές του pH επιδρούν στην αγωγιμότητα των χασματικών συνδέσεων (gap junctions)
- ▶ Κύριος ρυθμιστής το Ca^{++}

Σύνθεση DNA και κυτταρική ανάπτυξη

Το αλκαλικό pH ευνοεί τη σύνθεση του
DNA και την κυτταρική ανάπτυξη

Διαμεμβρανική αγωγιμότητα

- ▶ Αγωγιμότητα καναλιών μεταφοράς Na^+ , Ca^{++} , Cl^-
 - ▶ Διεγερσιμότητα των νευρικών και μυικών κυττάρων
- ▶ Μεταβολή του pH
 - ▶ Μεταβολή στο ηλεκτρικό φορτίο των πρωτεϊνικών μορίων των καναλιών
 - ▶ Επίδραση στην αγωγιμότητα των καναλιών

Κυτταροσκελετός

- ▶ Ακτίνη
 - ▶ Σύνδεση με πρωτεΐνες και σχηματισμός γέλης
 - ▶ Εξαρτάται από το pH
 - ▶ Κινητικότητα και σχήμα κυττάρων κυτταροσκελετού
- ▶ Πολυμερισμός στοιχείων κυτταροσκελετού
 - ▶ Τομπουλίνη

Ενδοκυττάρια μεταφορά μηνυμάτων

Ca^{++} , cAMP

Ασβέστιο

- Μιτοχόνδρια – ενεργοποίηση αντιμεταφορέα $\text{Ca}^{++} - \text{H}^+$
 - Συσσώρευση H^+ στα μιτοχόνδρια
 - Αύξηση $[\text{Ca}^{++}]$ στο κυτταρόπλασμα
- Κοινά ρυθμιστικά συστήματα
 - Μεταβολή της αναλογίας συμμετοχής Ca^{++} , H^+
- Σύνδεση Ca^{++} με καλμοδουλίνη
- Σύνδεση συμπλέγματος Ca^{++} - καλμοδουλίνης με άλλες πρωτεΐνες

Ενδοκυττάρια μεταφορά μηνυμάτων

cAMP

- Εξάρτηση από το pH
- Αδενυλκυκλάση
 - Σύνθεση cAMP
- Κυκλική νουκλεοτιδική φωσφοδιεστεράση
 - Υδρόλυση cAMP

Συμπεράσματα

- ▶ Το πρόβλημα της διατήρησης της Ο-Β ισορροπίας
 - Η άμυνα της φυσιολογικής αλκαλικότητας έναντι της σταθερής εφόδου των οξέων
- ▶ Εξωκυττάριο pH
 - Φυσικοχημική εξουδετέρωση
 - Αποβολή CO₂
 - Νεφρική αποβολή οξέος
- ▶ Ενδοκυττάριο pH
 - Μεταφορείς ιόντων
 - Ενδοκυττάρια ρυθμιστικά
 - ▶ Μικρή συμμετοχή
- ▶ Γιατί;
 - Οι μεταβολές του pH επιδρούν δυσμενώς σε πληθώρα κυτταρικών λειτουργιών