

# VVT Transzport

---

## Elmélet:

Az emberi szervezetet a belső környezet állandósága jellemzi. A set point, azaz a minden élettani értéket jellemző optimális érték teremti meg a lehetőséget a homeosztázishoz. Mivel ezt egy többelemű víztérben kell megvalósítani, a folyadékterek közötti anyagáramlás nélkülözhetetlen a megértéshez.

A folyadékterek közötti anyagáramlást alapvetően az ozmolalitás és a tonicitás befolyásolja, a részecskék mérete, a töltésviszonyok és a membránpermeabilitás mellett. Az ozmolalitás adott tömegű (kg) oldószerben levő oldott részecskék számát adja meg. (Víz esetében értéke közel azonos az ozmolaritással, mivel 1l víz = 1kg vízzel. Ozmolalitás alapján elkülönítünk izozmotikus, hiper- és hipoozmotikus folyadéktereket. Embberi szervezet esetén az izozmotikus érték 290 mOsm/kg. Az ennél magasabb ozmolalitású oldatok hiperozmotikusak, az alacsonyabbak hipoozmotikusak a referenciához képest. A tonicitás azt jellemzi, hogy az adott oldatban, hogyan változtatja térfogatát egy, az oldat folyadékterével diffúziós kapcsolatban álló másik folyadékter. Izotóniás oldat esetében a térfogat nem változik, hipotóniás oldat esetében a térfogat megnő, hipertóniás oldat esetében a térfogat csökken. A két tulajdonság kapcsolata azonban összetett, mivel egy izozmotikus oldat lehet mind hipo- mind hipertóniás is, a kérdés az, hogy az adott oldatban előforduló részecskék milyen membránpermeabilitással rendelkeznek. Ezt jellemzi a rejekciós hányados, mely értéke 1 és 0 között változik, 1 akkor ha a membrán nem átjárható az adott részecske számára.

A gyakorlaton vizsgált vörösvérsejtek lipid kettősrétegének permeabilitása szempontjából jelentős az aquaporin-1 és -3, valamint az UT-B és a GLUT-1 transzporterek. Az aquaporin-1 és -3 a membrán vízpermeabilitásának megnöveléséért felelős, valamint az aquaporin-3-nak fontos szerepe van a glicerin transzmembrán transzportjában. Az UT-B a magas ureakoncentrációjú vesemedullát ellátó erekbe kerülő vörösvértestek számára a legfontosabb. Ez a transzporter az, amely felelős az ezen a területen előforduló erősen hiperozmotikus és hipertóniás vérben előforduló urea gyors transzportjáért. A GLUT-1 a sejtműködés szempontjából nélkülözhetetlen glükóz felvételéért felel.

---

## Mérési elv:

A mérés alapja az optika denzitás változásának mérése spektrofotométer segítségével. Az optikai denzitás a fent leírt transzportfolyamatok hatására bekövetkező hemolízis következtében változik. A részecskekoncentráció (ez esetben a vörösvérsejtek száma) és az abszorbancia közötti összefüggést a Lambert-Beer törvény írja le:

A mérést alvadásgátolt, fiziológiás sóoldatban szuszpendált patkányvérrel végezzük. Elsőként desztillált vízhez adott vörösvértesteket vizsgálunk, mivel ez esetben a vízbeáramlás következtében minden vvt. hemolizál erre az oldatra nullázuk a fotométert. A mérés hitelességének ellenőrzése érdekében ezt követően elvégeztünk egy mérést amikor a vvt.-ket fiziológiás sóoldatba tettük, mivel ez esetben nem történt hemolízis mérési hiba elkövetése nélkül ennél nagyobb denzitásértéket nem kaphatunk. A méréseket 620nm-en végeztük. A transzportsebesség meghatározása érdekében a következő mérési feladatok során meghatározott időközönként vizsgáltuk a denzitást, így megkapva a denzitásváltozásokat. Ez arányos az előbbi törvény értelmében az adott vvt. számmal, amely csökkenése időegységenként a transzportsebességektől függ.

1. Glicerín 300mM  
Az oldat izozmotikus és hypotóniás, ezért benne a vvt-k hemolizálnak, így a denzitás értéke csökken. Ennek oka, hogy a beáramló glicerint víz is követi. De 30mp után már számottevő változás nem látható.
2. Glicerín 300mM + 30  $\mu$ M CuSO<sub>4</sub>  
Mivel a CuSO<sub>4</sub> gátolja az aquaporinokat ezért nem következik be hemolízis. A mérést azért csak 20 secundumig végeztük, mivel jelentékeny változást nem tapasztaltunk a denzitásban a 15 és 20sec értékek között.
3. Mikor 1 perc eltelté után EDTA-t adunk az oldathoz amely komplexet képez a gátló rézionokkal a denzitás hirtelen nagyarányú csökkenésbe kezd, 40secundum alatt közel negyedére csökken.
4. Urea 300 mM  
Az UT-B transzporterek hatására vvt.-k gyorsan felveszik az ureát, mely következtében a vele párhuzamosan beáramló víz gyors hemolízist okoz. Gyakorlatilag 10 másodperc után számottevő változás már nem tapasztalható. A denzitás alapján az összes vvt hemolizált.
5. Glükóz 300mM  
A GLUT-1 transzporter hatására várhatóan bekövetkező hemolízist adataink nem tükrözik. Adataink alapján a vörösvérsejtek érintetlenek maradnak.
6. ,7.,8. mérés a nem ionos-diffúzió folyamatát mutatja be.  
A 6. mérés során a szuszpenzióhoz adott ammónium-klorid hatására hemolízis játszódik le. Azonban mivel az intracelluláris H<sup>+</sup>-utánpótlás limitált, az NH<sub>3</sub>-transzport egy idő után leáll. (Az adatfelvételt ezért csak 1 percig végeztük.  
A 7. mérésben a hidrogénion utánpótlást a karboanhidráz hatására sejtbe diffundáló szén-dioxid biztosítja így ez esetben tovább folytatódik a hemolízis. A 80.secundumot követő szakaszban jól látható a vvt.-k hirtelen számcsökkenése  
A 8. kísérletben olyan vérrel végeztük el a kísérletet, amelyet előzőleg DIDS-sel kezeltük, amely a sejten belül a bikarbonát-felszaporodást meggátoló Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cseretranszporter gátlószere. Így itt az egy perc után hozzáadott NaHCO<sub>3</sub> hatására csak egy bizonyos szintű hemolízis játszódik le, majd az optikai denzitás stabil értékre áll be, mivel a bikarbonát sejten belüli mennyisége gátat szab a további anyagáramlásnak.

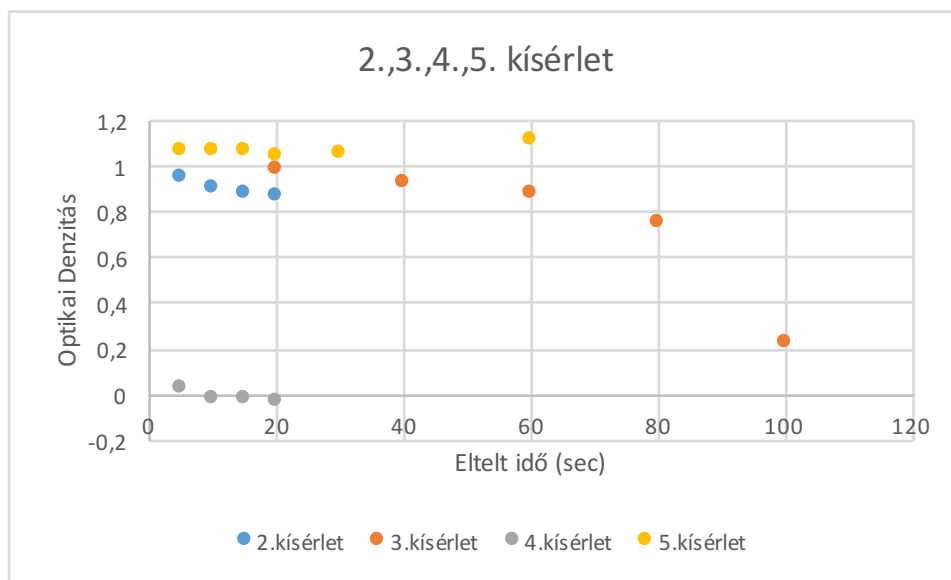
---

Következtetés:

A gyakorlat során megvizsgáltuk a hemolízist előidéző folyamatokat, megismertük a tonicitás és az ozmotikus tulajdonságok jelentőségét a plazmamembránon keresztüli diffúzióban. Megvizsgáltuk bizonyos csatornák gátlásának eredményét a transzmembrán transzportban.

Eredmények:

idő (sec)	5	10	15	20	30	40	60	80	100
1.kísérlet	0,4	0,23	0,15	0,07	0,034	0,022	0,011	0,006	0,005
2.kísérlet	0,95	0,907	0,88	0,87					
3.kísérlet				0,988		0,927	0,888	0,757	0,226
4.kísérlet	0,03	-0,011	-0,02	-0,022					
5.kísérlet	1,075	1,065	1,075	1,049	1,062		1,115		
6.kísérlet	1,139				1,077		0,988		



idő (sec)	10	20	40	60	80	100	120
7.kísérlet		1,148	1,103	1,074	0,996	0,03	0,019
8.kísérlet	1,13	1,14	1,136	1,149	0,858	0,83	0,81

