

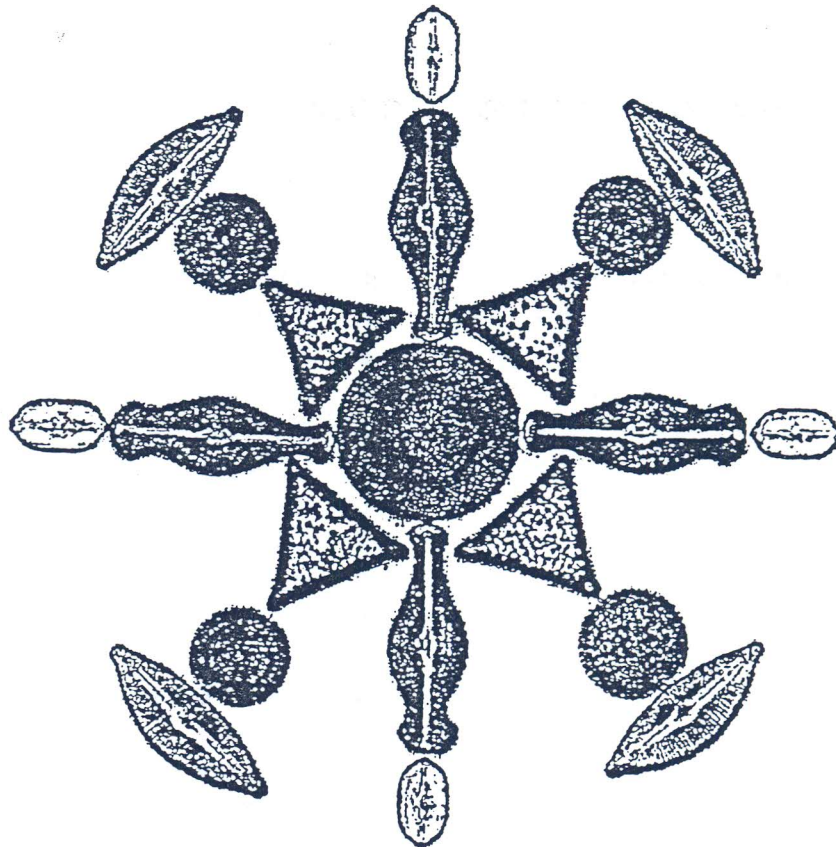
GRUPPO NAZIONALE
DI CIBERNETICA E
BIOFISICA DEL C.N.R.
VIII CONGRESSO

SOCIETA' ITALIANA
DI BIOFISICA
PURA E APPLICATA
VII RIUNIONE

CONGRESSO NAZIONALE DI CIBERNETICA E BIOFISICA

LIPARI (MESSINA) 28-31 OTTOBRE 1985

ATTI



A cura di S. Chillemi e C. Frediani - Istituto di Biofisica del C.N.R. (Pisa)

FLUSSI DI ACQUA E SOLUTI ATTRAVERSO N MEMBRANE IN SERIE, CON TRASPORTO "ATTIVO"

F. C. Celentano, G. Monticelli e F. Cottini

Dip. di Biologia, Ist. di Fisiologia Generale e Chimica
Biologica, Università di Milano, C.N.R. Centro Studi
Fisiologia del Lavoro Muscolare

Gli epiteli sono strutture biologiche complesse che possono venire schematizzate come costituite da più membrane disposte in serie. In effetti anche gli strati limite non mescolati adiacenti alle membrane possono venire considerati formalmente come membrane non selettive. Essi sono infatti sottoposti a un gradiente di concentrazione del soluto e sono attraversati da flussi di soluto e di acqua (1). Il trasporto di materia attraverso un epitelio può quindi venire effettuato utilizzando un modello costituito da più membrane con trasporto attivo di soluto disposte in serie, fig. 1, estendendo a

fig. 1. Sistema di n membrane in serie con trasporto attivo di soluto J_a^i , rappresentato da frecce. Il verso positivo per i flussi e le forze è indicato da x. Nel testo le membrane sono numerate con indici, i compartimenti intermedi con pedici.

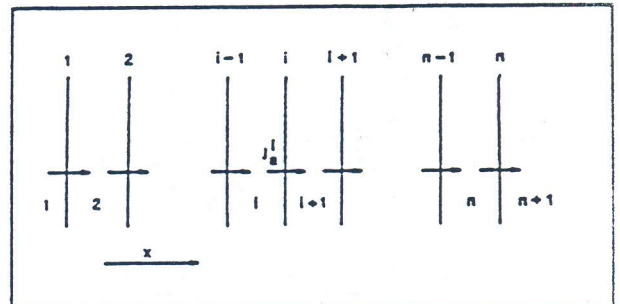
tale situazione la trattazione fatta per un modello con due sole membrane o per più membrane in assenza di tale trasporto (2,3). Va notato che già con un rudimentale modello a due membrane si è riusciti a interpolare, in maniera più che promettente, dati relativi al trasporto di acqua attraverso l'endotelio corneale (2).

Seguendo il metodo già utilizzato con successo (1-3), si scrivono le equazioni di trasporto "pratiche" di Kedem e Katchalski

(4), in forma locale, per ogni membrana del sistema, e si integrano, lungo lo spessore della membrana stessa, nella direzione del trasporto. Si ottiene, per la generica membrana i-esima che la concentrazione C_{i+1} e la pressione idrostatica p_{i+1} sono date da:

$$C_{i+1} = C_i h_i + \frac{1-h_i}{s_i} \frac{J - J_a^i}{J_v^i} \quad (1)$$

$$p_{i+1} = p_i - \frac{J_v^i}{L_i} + \sigma_i RT s_i (C_{i+1} - C_i)$$



dove, per ogni membrana,

$$h_i = \exp(a_i J_v^i)$$

$$a_i = s_i / P_i$$

$$s_i = 1 - \sigma_i$$

con

L_i coefficiente di permeabilità idraulica, P_i permeabilità del soluto, σ_i coefficiente di riflessione del medesimo, J_v^i flusso volumetrico e J_a^i trasporto attivo.

Come già mostrato in assenza di trasporto attivo (3), la concentrazione e la pressione

idrostatica nel compartimento estremo $n + 1$ possono venire ottenute, in funzione delle medesime grandezze nel primo compartimento e dei flussi di materia, mediante sostituzione ricorsiva di C e p nelle espressioni di C e p . Le equazioni che ne risultano, risolte per J_s and J_v , danno

$$J_s = \frac{J_v}{\Lambda} \left[B \Delta C + \left(1 - \prod_{i=1}^n h^i \right) C_1 + \prod_{i=1}^n h^i \sum_{i=1}^n \frac{1 - h^i}{s_i \prod_{j=1}^i h^j} \frac{J_a^i}{J_v} \right] \quad (2)$$

$$J_v = - \epsilon \left[\Delta p - \frac{RT\bar{v}}{\Lambda} \left[C_1 \sum_{i=1}^{n+1} \left(\Lambda \prod_{j=1}^{i-1} h^j \right) + \Lambda \left(1 - \prod_{j=1}^n h^j \right) (s - s^{i-1}) + \Delta C \sum_{i=1}^{n+1} B'(s - s^{i-1}) \right] \right] \quad (3)$$

$$+ \frac{1}{J_v} \sum_{i=1}^{n+1} \left(\Lambda \prod_{j=1}^{i-1} h^j \sum_{j=1}^n \frac{1 - h^j}{s_j \prod_{k=1}^j h^k} J_a^i \right) - \Lambda \prod_{j=1}^{i-1} h^j \sum_{j=1}^{i-1} \frac{1 - h^j}{s_j \prod_{k=1}^j h^k} J_a^i (s - s^{i-1}) \Bigg]$$

dove

$$1/\epsilon = \sum_{i=1}^n 1/L_p^i$$

definisce una permeabilità idraulica ideale dell'intero sistema,

$$\Lambda = \prod_{k=1}^i h^k \sum_{k=1}^i \frac{1 - h^k}{s_k \prod_{j=1}^k h^j}$$

$$B = 1 \text{ quando } \Delta C > 0 \quad \text{o} \quad B = \prod_{i=1}^n h^i$$

quando $\Delta C < 0$.

$$B' = \Lambda^{i-1} \text{ quando } \Delta C > 0$$

$$B' = \Lambda^{i-1} \prod_{j=1}^n h^j - \Lambda \prod_{j=1}^{i-1} h^j$$

quando $\Delta C < 0$.

B e B' hanno valori diversi perché una differenza di concentrazione positiva a cavallo del sistema si ottiene usualmente aggiungendo soluto nel compartimento $n+1$, mentre per avere $\Delta C < 0$ si deve aggiungere soluto al primo compartimento.

Il programma di simulazione è scritto in Pascal UCSD per un elaboratore con CPU Z80, utilizzando la possibilità di segmentazione per non eccedere in compilazione la memoria disponibile di soli 64 k. Comprende due unità di archivio dei dati riguardanti le singole membrane e i sistemi di membrane, una unità di calcolo e due altre unità per la gestione dello schermo e del colloquio con l'utente. E' in preparazione un'unità grafica per evitare il disegno dei grafici fuori linea.

Combinando variamente alcune membrane, le cui caratteristiche sono raccolte in tab. 1, si è studiato il comportamento di diversi sistemi, ponendo particolare attenzione alla loro simmetria e all'effetto della presenza del trasporto attivo.

Tabella 1
Membrane usate nella simulazione

	P	σ	L	J
	5	12	$\frac{P}{a}$	$\frac{2}{a}$
	(10 cm/s)	(10 cm/dyn s)	($\mu M/h$)	(cm)
a	.75	.8	4	0
b	1.5	.2	4	0
c	.75	.3	40	0
d	1.5	.2	40	0
e	.75	.8	40	5

I valori di permeabilità idraulica e del soluto sono moltiplicati rispettivamente per 10^{12} e 10^5 .

Impiegando sistemi di più (fino a 10) membrane identiche, tutte del tipo a in tab. 1, il flusso volumetrico risulta lineare sia in Δp , sia in ΔC . Scompaiono infatti i termini in $s - s^{-1}$. Pure lineare risulta J in funzione di ΔP , con $\Delta C = 0$, mentre quando tale flusso è prodotto dalla sola differenza di pressione osmotica, compare in evidenza la sua intrinseca non linearità, del tutto simile a quella osservata in fig. 2.

In sistemi simmetrici costituiti da membrane diverse, fig. 2, compare una non linearità nel flusso volumetrico trainato da una differenza di pressione osmotica. Ciò va attribuito al fatto che, sovrapponendosi a J anche un flusso di soluto, si ha un accumulo di questo in qualche compartimento, con la formazione di controgradienti. In effetti il sistema, pur complessivamente simmetrico, è localmente asimmetrico.

Lo studio dell'effetto di una asimmetria sulla linearità del trasporto può farsi in vari modi. Per esempio, quando in un sistema di ben otto membrane, sette delle quali del tutto identiche, l'unica membrana diversa è spostata dal centro verso l'esterno, rendendo il sistema stesso gradualmente più asimmetrico, si osserva che tutti i flussi assumono un andamento via via più asimmetrico e non lineare, fig. 3.

Ma il più interessante elemento di asimmetria, in un sistema di membrane in serie, è certamente costituito dalla presenza di trasporto attivo in una di esse. Anche in questo caso si può variare il grado di asimmetria spostando la membrana con trasporto attivo dal lato sinistro fino all'estremità destra del sistema, fig. 4. Anche in questo caso si osserva che la non linearità aumenta con l'aumentare dell'asimmetria. Si nota pure che, essendo il numero delle membrane più

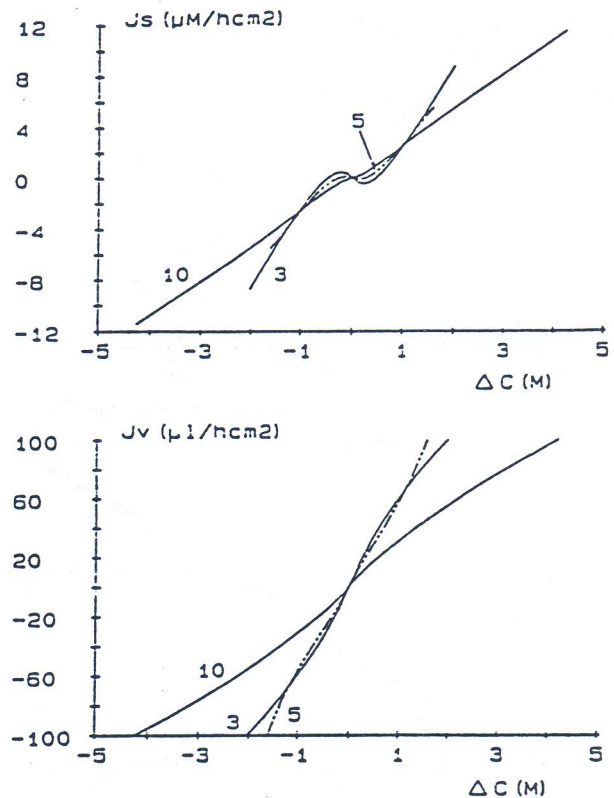
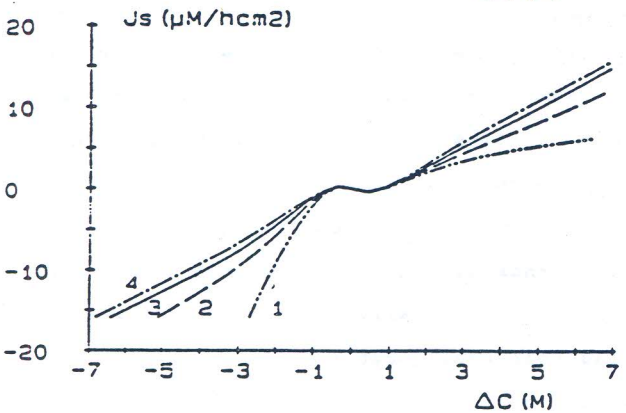
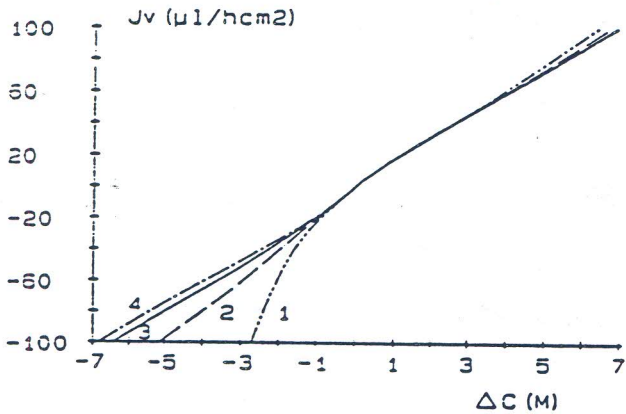
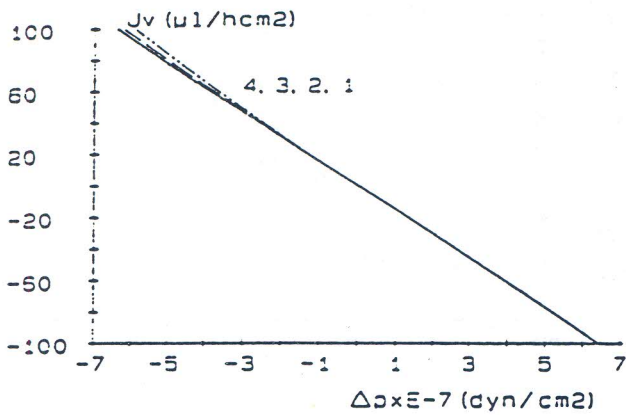


Fig. 2. In sistemi simmetrici, ma composti da membrane differenti, il flusso di soluto, J mantiene il medesimo andamento osservato in un sistema costituito da membrane identiche (sopra). Diviene però non lineare anche il flusso volumetrico J trainato da una differenza di concentrazione del soluto ΔC . Con riferimento alla tab. 1, i tre sistemi sono così configurati:

- 3: b a b
- 5: a b a b a
- 10: d c b a d d a b c d

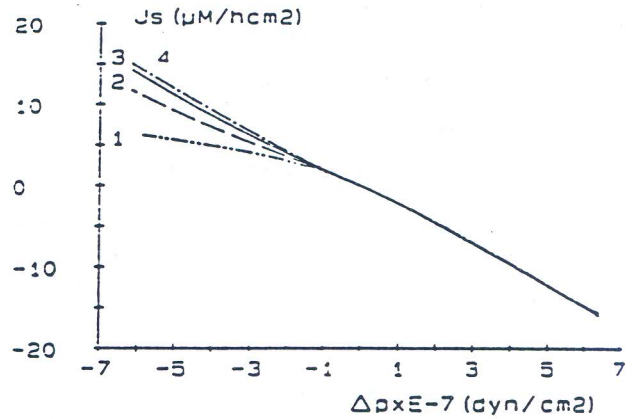
piccolo che nel caso precedente, l'entità dell'asimmetria, e quindi della non linearità, è decisamente maggiore.

Le curve in fig. 4 rappresentano in maniera soddisfacente l'andamento dei flussi osservato sperimentalmente (5-7), in particolare l'accoppiamento fra il trasporto attivo del soluto e quello d'acqua, trascinato dal primo. Si nota infatti un flusso volumetrico



anche in assenza di un gradiente di pressione favorevole, anzi anche contro un notevole gradiente osmotico, fig. 5.

A riprova del fatto che una asimmetria del sistema, almeno locale, è condizione necessaria per la non linearità del flusso volumetrico e del flusso di soluto trainato dalla sola differenza di pressione idrostatica, e quindi puramente convettivo, si può citare il fatto che un sistema di cinque membrane b, una delle quali con il medesimo trasporto attivo della membrana e, torna ad assumere



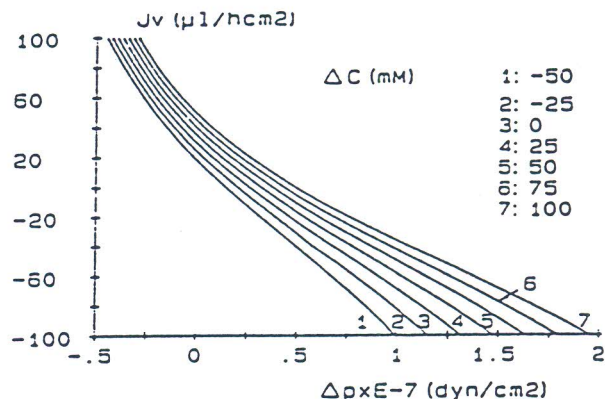
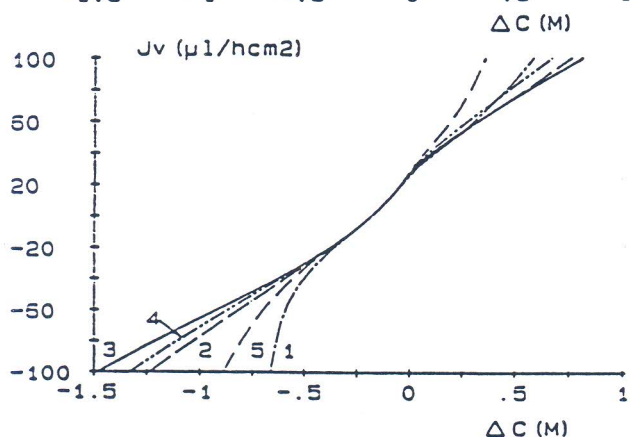
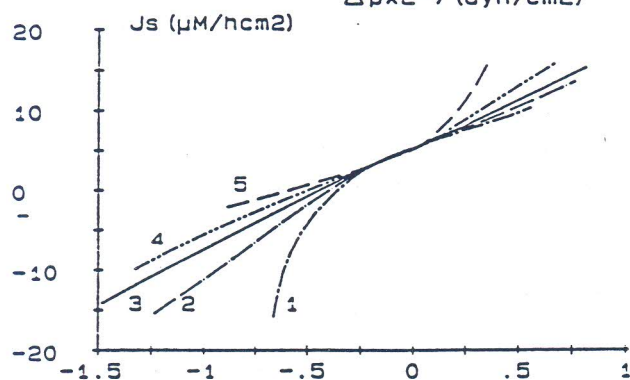
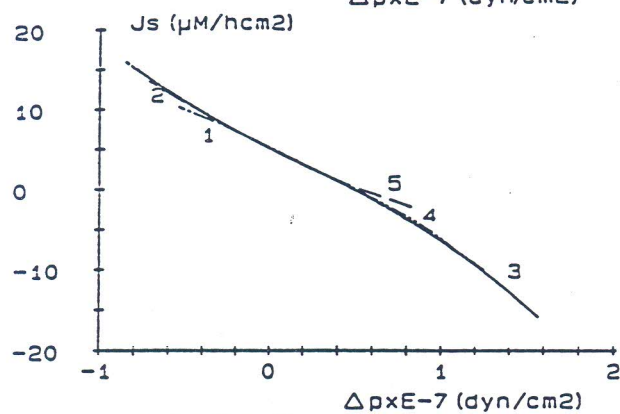
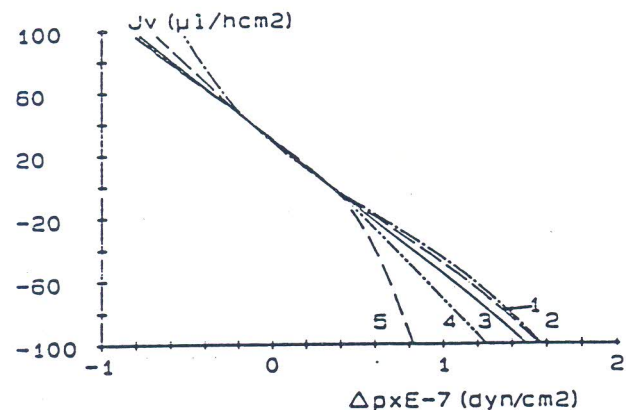
← A

Fig. 3. L'introduzione di un'asimmetria in un sistema di 8 membrane, 7 delle quali sono identiche, rende non lineari tutti i flussi. Il sistema è costituito da 7 membrane b e una membrana a, spostata dalla prima alla quarta posizione.

il comportamento tipico di un sistema di n membrane identiche senza trasporto attivo. La perdita dell'accoppiamento fra i trasporti di acqua e di soluto si spiega con il fatto che il soluto trasferito da una membrana nel compartimento immediatamente successivo può diffondere in misura uguale sia nel verso positivo che in quello negativo di x, fig. 1. In questo modo non può prodursi alcun gradiente locale di concentrazione che trascini l'acqua nel medesimo verso del trasporto attivo. Questo comportamento del modello è ancora in accordo con l'osservazione

Fig. 4. A un sistema di 4 membrane identiche di tipo b si è aggiunta una quinta membrana con trasporto attivo e, spostandola dalla prima alla quinta posizione. I flussi sono particolarmente non lineari quando la membrana con trasporto attivo è nelle posizioni estreme. Si ha inoltre un trasporto di soluto e di acqua, accoppiati al trasporto attivo, anche quando le forze traenti sono nulle

sperimentale: gli epiteli, infatti, sono strutture altamente asimmetriche. Pare quindi di poter concludere che il modello qui presentato meriti una verifica sperimentale.



A

Fig. 5. Il trasporto d'acqua accoppiato al trasporto attivo di soluto permeante, in assenza di forze traenti, anche contro un gradiente osmotico sfavorevole del soluto trasportato ($\Delta C < 0$).

Bibliografia

- 1 - C.S. Patlak, D.A. Goldstein and J.F. Hoffman: The flow of solute and solvent across a two membranes system, *J. Theoret. Biol.* **5**, 426-442 (1963)
- 2 - G. Monticelli and F.C. Celentano: Further properties of the two-membrane system, *Bull. Math. Biol.* **45**, 1073-1096 (1983)
- 3 - F.C. Celentano and G. Monticelli: Mass transport across multimembrane systems, in: V. Capasso, E. Grosso and S.L. Paveri Fontana: *Mathematics in Biology and Medicine*, Springer, Berlin (1985), pp. 293-299
- 4 - O. Kedem and A. Katchalsky: Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes, *Biochim. Biophys. Acta* **27**, 229-246 (1958)
- 5 - U.A. Brodsky and T.P. Schilb: Osmotic properties of isolated turtle bladder, *Am. J. Physiol.* **208**, 46-57 (1965)
- 6 - F.C. Celentano, G. Monticelli and M.N. Orsenigo: Non linear volume flow dependence on osmotic pressure difference in frog skin, *J. Physiol., Paris* **74**, 365-367 (1978)
- 7 - J. Fishbarg: Fluid transport by corneal endothelium, in K. Schmidt-Nielsen, L. Bolis and S.H.P. Madrell eds.: *Comparative physiology: Water, ions and fluid mechanics*, University Press, Cambridge, pp. 21-39 (1978)