

Institut Fizyki UMCS
Zespół Biofizyki
Kierownik: doc. dr hab. Jadwiga Skierczyńska

Jan SIELEWIESIUK

Teoretyczna analiza pomiaru oporu elektrycznego węzłów glonów

Characeae

Теоретический анализ измерений электрического сопротивления узлов водорослей
Characeae

Theoretical Analysis of Electrical Resistance Measurements of *Characeae* Nodes

WSTĘP

Kontakty międzykomórkowe są ostatnio przedmiotem intensywnych badań. Wyjaśnienie struktury i funkcji tych kontaktów ma duże, często zasadnicze znaczenie w rozwiązywaniu ważnych problemów współczesnej biologii. Przykładowo można tu wymienić mechanizmy interakcji komórkowych i tkankowych w embriogenezie [2], mechanizmy kancerogenezy [8], funkcjonowanie układu nerwowego [3], transport jonów, substancji odżywczych i, być może, nawet materiału genetycznego [4]. Wszystkie te problemy pomimo ich różnorodności mieszczą się w szerszym problemie integracji organizmów wielokomórkowych i to przede wszystkim stanowi o ich ważności. Badania złącz komórek międzywęzłowych (węzłów) u *Characeae* prowadzone są nie tylko w celu zrozumienia fizjologii tych glonów; w powiązaniu z problemem integracji organizmów wielokomórkowych posiadają one znaczenie szersze, ogólnobiologiczne.

Wśród innych właściwości węzłów istotne znaczenie mają ich parametry elektryczne, w szczególności opór. Znajomość oporu elektrycznego węzłów pozwoliłaby wyciągać pewne wnioski dotyczące ich przepuszczalności dla jonów. Literatura dotycząca oporu elektrycznego węzłów jest dosyć uboga [5, 6, 7, 9]. Ponadto większość danych otrzymano przy pomocy mikroelektrod wprowadzonych do wnętrza komórki [6, 7, 9], a istnieją dziś uzasadnione przypuszczenia, że wprowadzenie mikroelektrody do wnętrza komórki zmienia jej (komórki) parametry elektryczne. Jedyne badające pomiar oporu węzłów u *Characeae* bez użycia mikroelektrod przeprowadził L o u [5]. Badane przez niego komórki umieszczone były w parafinie, a zatem obiekt znajdował się w warunkach dalekich od natural-

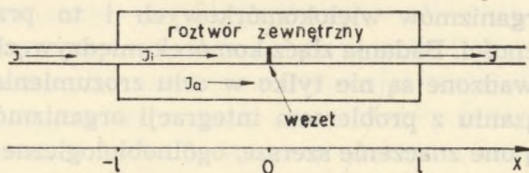
nych. Warto dodać, że praca Lou ze względu na język (chiński) jest dostępna tylko w streszczeniu.

Niniejsza praca przedstawia teoretyczną analizę możliwości pomiaru oporu węzłów w glonach *Characeae* w warunkach maksymalnie zbliżonych do naturalnych. Wzory wyprowadzone są w oparciu o teorię kablową.

Równania teorii kablowej niejednokrotnie stosowano już do komórek żywych, w tym również do komórek ramienic [1, 9]. Wołkow i Płatonowa [9] wykorzystali te równania do wyznaczania oporu węzłów komórek *Nitella flexilis*. Do badań brali oni pojedyncze komórki międzywęzłowe. Węzły w tym przypadku stanowiły granicę między wnętrzem komórki i zewnętrznym roztworem. Natomiast w warunkach naturalnych węzły stanowią przegrody pomiędzy sąsiednimi żywymi komórkami i wartości ich parametrów elektrycznych mogą być całkowicie różne od uzyskanych w pracy [9]. W niniejszej pracy zastosowano teorię kablową do węzła łączącego dwie żywe komórki ramienic zanurzone w elektrolicie.

TEORIA PRZEPŁYWU PRĄDU PRZEZ WĘZŁ

Niech dwie międzywęzłowe komórki znajdują się w naczyniu o długości $2l$ (ryc. 1). Węzeł jest umieszczony dokładnie w środku naczynia, tj. w odległości l od jego końców. Naczynie napełnione jest elektrolitem. Do zanurzonej części komórek dopływa prąd I poprzez końce komórek znajdujące się poza naczyniem. Na odcinku $2l$ zanurzone w roztworze prąd płynie częściowo wewnątrz komórek, a częściowo, wypływając przez błonę komórkową, elektrolitem.



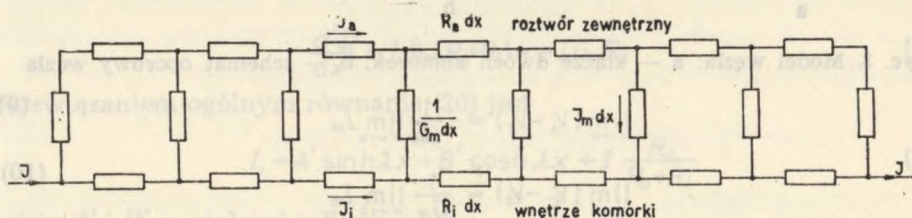
Ryc. 1. Komórki międzywęzłowe z łączącym je węzłem w komorze pomiarowej

Aby opisać przepływ prądu na tym odcinku zastosujemy jednowymiarowy model komórki (ryc. 2).

Wprowadźmy następujące oznaczenia:

- $I_i(x)$ — natężenie prądu płynącego wewnątrz komórki (μA);
- $I_a(x)$ — natężenie prądu płynącego elektrolitem zewnętrznym (μA);
- $I_m(x)$ — gęstość liniowa prądu wypływającego z komórki do elektrolitu ($I_m < 0$); lub wpływającego z elektrolitu do komórki ($I_m > 0$, ($\mu A/cm$);

- $V_i(x)$ — potencjał wewnątrz komórki (mV);
 $V_a(x)$ — potencjał na zewnątrz komórki (mV);
 R_i — opór wnętrza komórki na jednostkę długości ($k\Omega/cm$);
 R_a — opór elektrolitu zewnętrznego na jednostkę długości ($k\Omega/cm$);
 G_m — przewodność błony komórkowej na jednostkę długości ($k\Omega^{-1}cm^{-1}$);
 R_w — opór złącza międzykomórkowego ($k\Omega$).



Ryc. 2. Model oporowy komórki w roztworze zewnętrznym

Opór węzła (R_w) traktuje się tutaj jako opór punktowy skupiony w punkcie $x=0$. Na odcinku komórki, zanurzonej w elektrolicie przepływ prądu opisywany jest układem równań (1—5), wynikających bezpośrednio z prawa Ohma i praw Kirchhoffa:

$$(1) \quad \frac{dV_a}{dx} = -I_a R_a \quad \frac{dV_i}{dx} = -I_i R_i \quad (2)$$

$$(3) \quad V_a - V_i = \frac{I_m}{G_m} \quad -\frac{dI_a}{dx} = \frac{dI_i}{dx} = I_m \quad (4)$$

$$I_i + I_o = I \quad (5)$$

Do układu równań (1—5) należy dodać warunek graniczny:

$$I_i(l) = I_i(-l) = I \quad (6)$$

W punkcie $x=0$ znajduje się wewnątrz komórki punktowy opór R_w i dlatego równanie (2) nie jest słuszne w tym punkcie. Węzeł należy więc rozpatrzyć oddzielnie.

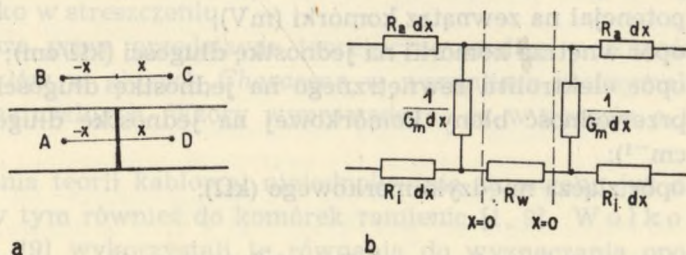
Model złącza jest przedstawiony na ryc. 3. Różnica potencjałów między punktami A i D przy $x \rightarrow 0$ wynosi

$$\lim_{x \rightarrow 0} V_{Ad} = I(0) R_w \quad (7)$$

Z drugiej strony

$$V_{Ad} = (V_A - V_B) + (V_B - V_C) + (V_C - V_D) \quad (8)$$

Rozpatrzmy zachowanie się poszczególnych składników (8) przy $x \rightarrow 0$. Z równania (3) mamy:



Ryc. 3. Model węzła: a — złącze dwóch komórek, b — schemat oporowy węzła

$$\lim_{x \rightarrow 0} (V_A - V_B) = -\frac{1}{G_m} \lim_{x \rightarrow 0} I_m \quad (9)$$

$$\lim_{x \rightarrow 0} (V_C - V_D) = \frac{1}{G_m} \lim_{x \rightarrow 0} I_m \quad (10)$$

oraz z równania (1)

$$\lim_{x \rightarrow 0} (V_B - V_C) = 0 \quad (11)$$

Przechodząc do granicy z (8) i wykorzystując (9), (10) i (11) otrzymujemy:

$$\lim_{x \rightarrow 0} V_A = \frac{1}{G_m} (\lim_{x \rightarrow 0} I_m - \lim_{x \rightarrow 0} I_m) \quad (12)$$

Z porównania (7) i (12) mamy:

$$I_i(0) R_w = \frac{1}{G_m} (\lim_{x \rightarrow 0} I_m - \lim_{x \rightarrow 0} I_m) \quad (13)$$

Wykorzystując teraz nieparzystość funkcji I_m , która wynika z symetrii układu, oraz równanie (4) otrzymamy warunki graniczne dla $x=0$:

$$\lim_{x \rightarrow 0} \frac{dI_i}{dx} = \frac{G_m R_w}{2} I_i(0) \quad (14)$$

$$\lim_{x \rightarrow 0} \frac{dI_i}{dx} = -\frac{G_m R_w}{2} I_i(0) \quad (15)$$

Otrzymaliśmy w ten sposób układ równań (1—6) i (14—15), opisujący przepływ prądu przez komórki ramienic w warunkach przedstawionych na ryc. 1. Z równań (1—5) po prostych przekształceniach można otrzymać równanie różniczkowe dla I_i . Z (1) i (2) mamy:

$$\frac{d}{dx} (V_A - V_i) = -I_a R_a + I_i R_i \quad (16)$$

Wstawiając (3) do (16) otrzymujemy:

$$\frac{1}{G_m} \frac{dI_m}{dx} = -I_a R_a + I_i R_i \quad (17)$$

ale z (5) wiadomo, że

$$I_a = I - I_i \quad (18)$$

Można więc napisać:

$$\frac{1}{G_m} \frac{dI_m}{dx} = I_i(R_a + R_i) - IR_a \quad (19)$$

Z (4) mamy:

$$\frac{dI_m}{dx} = \frac{d^2 I_i}{dx^2} \quad (4')$$

Po wstawieniu (4') do (19) otrzymujemy równanie:

$$\frac{d^2 I_i}{dx^2} - I_i G_m(R_a + R_i) = -I G_m R_a \quad (20)$$

Rozwiązaniem ogólnym równania (20) jest

$$I_i = A' \sinh \lambda x + B' \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \quad (21)$$

gdzie A' i B' są stałymi całkowania a

$$\lambda^2 = G_m(R_a + R_i) \quad (22)$$

Rozpatrzmy teraz węzeł ($x=0$). Wykorzystamy do tego celu warunki (14) i (15). Zapiszmy (21) w postaci

$$I_i = A_1 \sinh \lambda x + B_1 \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x < 0 \quad (23)$$

$$I_i = A_2 \sinh \lambda x + B_2 \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x > 0 \quad (24)$$

Po wstawieniu (23) do (15) otrzymamy:

$$A_1 = -\frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(B_1 + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \quad (25)$$

Analogicznie po wstawieniu (24) do (14) otrzymamy

$$A_2 = \frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(B_2 + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \quad (26)$$

(23) i (24) można teraz zapisać w postaci:

$$I_i = -\frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(B_1 + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \sinh \lambda x + B_1 \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x < 0 \quad (27)$$

$$I_i = \frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(B_2 + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \sinh \lambda x + B_2 \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x > 0 \quad (28)$$

Z symetrii układu widać, że I_i powinno być funkcją parzystą od x . Dlatego należy przyjąć, że

$$B_1 = B_2 = A \quad (29)$$

Wtedy:

$$I_i = -\frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \sinh \lambda x + A \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i}, \quad \text{dla } x < 0 \quad (30)$$

$$I_i = -\frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \sinh \lambda x + A \cosh \lambda x + I \frac{R_a}{R_a + R_i}; \quad \text{dla } x > 0 \quad (31)$$

Stałą A można wyznaczyć z (6) i (31)

$$I_i(l) = -\frac{G_m R_w}{2\lambda} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \sinh \lambda l + A \cosh \lambda l + I \frac{R_a}{R_a + R_i} = I$$

skąd

$$A = I \frac{2\lambda R_i - G_m R_w R_a \sinh \lambda l}{(R_a + R_i)(G_m R_w \sinh \lambda l + 2\lambda \cosh \lambda l)} \quad (32)$$

Z (30) i (31) po zróżniczkowaniu otrzymujemy I_m (patrz (4))

$$I_m = -\frac{G_m R_w}{2} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x + A \lambda \sinh \lambda x; \quad \text{dla } x < 0 \quad (33)$$

$$I_m = -\frac{G_m R_w}{2} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x + A \lambda \sinh \lambda x, \quad \text{dla } x > 0 \quad (34)$$

Po wstawieniu (30) i (31) do równania (2) i po scałkowaniu otrzymamy wyrażenia na V_i (35)

$$V_i = \frac{G_m R_w R_i}{2\lambda} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x - \frac{A R_i}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} x + C; \quad \text{dla } x < 0$$

$$V_i = -\frac{G_m R_w R_i}{2\lambda} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x - \frac{A R_i}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} x - C; \quad \text{dla } x > 0 \quad (36)$$

Stałe całkowania w (35) i (36) zostały dobrane tak, aby $V_i(x)$ było funkcją nieparzystą. $V_i(x)$ jest poza tym funkcją nieciągłą przy $x=0$. Skok potencjału na złączu określa warunek (7)

$$\lim_{x \rightarrow -0} V - \lim_{x \rightarrow +0} V = I_i(0) R_w \quad (7')$$

Wstawiając (35), (36) i (30) lub (31) do (7') można wyznaczyć wartość stałej C:

$$C = \frac{R_a R_w}{2(R_a + R_i)} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \quad (37)$$

Z równania (3) mamy:

$$V_a = V_i + \frac{I_m}{G_m} \quad (38)$$

Po wstawieniu (35—36) oraz (33—34) do (38) otrzymujemy rozwiązanie dla V_a : (39)

$$V_a = -\frac{R_a R_w}{2(R_a + R_i)} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x + \frac{A R_a}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} x + C; \quad \text{dla } x < 0$$

$$V_a = -\frac{R_a R_w}{2(R_a + R_i)} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) \cosh \lambda x + \frac{A R_a}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} x - C; \quad \text{dla } x > 0 \quad (40)$$

Po uwzględnieniu (37) rozwiązanie ma postać: (41)

$$V_a = \frac{R_a R_w}{2(R_a + R_i)} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) (1 - \cosh \lambda x) + \frac{A R_a}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x < 0$$

$$V_a = \frac{R_a R_w}{2(R_a + R_i)} \left(A + I \frac{R_a}{R_a + R_i} \right) (\cosh \lambda x - 1) + \frac{A R_a}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a}{R_a + R_i} ; \text{ dla } x > 0$$
(42)

Wyrażenia (41) i (42) opisują zależność potencjału elektrycznego w elektrolicie otaczającym komórki od współrzędnej x . Mierzac potencjał w określonym punkcie x_0 (względem punktu $x=0$) i znając R_a , R_i , G_m , I oraz l można przekształcić (41) lub (42) w równanie liniowe dla R_w .

WYZNACZENIE OPORU WĘZŁA R_w

Wyznaczenie oporu węzła R_w z równań (41) i (42) sprowadza się do wyznaczenia R_a , R_i i G_m . Powszechnie stosowaną metodą mierzenia tych wielkości jest metoda mikroelektrodowa. Wielkości R_a , R_i i G_m można jednak określić przy pomocy przedstawionej wyżej teorii, bez wprowadzenia mikroelektrod do wnętrza komórki. W tym celu w komorze (ryc. 1) należy umieścić komórkę w ten sposób, aby węzeł znajdował się poza obrębem komory. Zależność $V_a(x)$ w tym przypadku można otrzymać z (41) lub (42) przyjmując $R_w = 0$. Wtedy

$$V_a = A \frac{R_a}{\lambda} \sinh \lambda x - I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} x ; \text{ dla } l < x < l$$
(43)

$$A = I \frac{R_i}{(R_a + R_i) \cosh \lambda l}$$
(44)

Z (43) i (44) mamy:

$$V_a = I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} \left(\frac{\sinh \lambda x}{\lambda \cosh \lambda l} - x \right)$$
(45)

Wzór (45) można wykorzystać do wyznaczenia oporu wnętrza komórki i oporu błony pod warunkiem, że R_a jest dostatecznie duże i mierzalne. R_a wyznaczamy niezależnie od pomiarów V_a . Mierzac następnie V_a w dwóch różnych punktach x_1 i x_2 i znając natężenie prądu I oraz x_1 , x_2 i l otrzymujemy układ dwóch równań z dwiema niewiadomymi R_i i λ :

$$V_a(x_1) = I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} \left(\frac{\sinh \lambda x_1}{\lambda \cosh \lambda l} - x_1 \right)$$
(46)

$$V_a(x_2) = I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} \left(\frac{\sinh \lambda x_2}{\lambda \cosh \lambda l} - x_2 \right)$$
(47)

Po podzieleniu tych równań stronami otrzymujemy

$$f(\lambda) = \frac{V_a(x_1)}{V_a(x_2)} = \frac{\sinh \lambda x_1 - \lambda x_1 \cosh \lambda l}{\sinh \lambda x_2 - \lambda x_2 \cosh \lambda l}$$
(48)

Dla danych x_1 , x_2 i l należy sporządzić teoretyczne wykresy zależności $f(\lambda)$ opisanej równaniem (48) oraz funkcji

$$F(\lambda) = \frac{\sinh \lambda x_1}{\lambda \cosh \lambda l} - x_1 \quad (49)$$

Mając doświadczalną wartość $f(\lambda)$ z pierwszego wykresu odczytujemy wartość λ . Na drugim wykresie znajdujemy wartość F odpowiadającą otrzymanej z pierwszego wykresu wartości λ . Znaną w ten sposób wartość F wstawiamy do (46):

$$V_a(x_1) = I \frac{R_a R_i}{R_a + R_i} F \quad (50)$$

Mamy stąd

$$R_i = \frac{V_a(x_1) R_a}{I R_a F - V_a(x_1)} \quad (51)$$

Mając wyznaczone R_a , R_i i λ otrzymujemy z (22)

$$G_m = \frac{\lambda^2}{R_a + R_i} \quad (52)$$

lub

$$R_m = \frac{R_a + R_i}{\lambda^2} \quad (53)$$

gdzie R_m jest oporem błony na 1 cm długości komórki, czyli oporem błony o powierzchni πd cm², gdzie d — średnica komórki. Wstawiając teraz znalezione wartości do (41) lub (42) otrzymujemy równanie liniowe dla R_w , po którego rozwiązaniu będziemy mieli samą wartość oporu węzła R_w .

Jak wykazuje szczegółowa analiza, przedstawiona metoda wymaga bardzo dokładnych pomiarów mierzonych wielkości. Największe znaczenie ma dokładny pomiar napięć. Błąd względny przy mierzeniu napięcia powinien być rzędu 0,01%. Błąd względny przy pomiarze natężenia prądu powinien wynosić ok. 0,1%. Wszystkie odległości należy wyznaczyć z dokładnością do dziesiątych części milimetra.

PIŚMIENNICTWO

1. Beier W.: Biofizyka, PWN, Warszawa 1968, s. 470—476.
2. Ebert J. D.: Biologia rozwoju, PWN, Warszawa 1970, rozdz. IX.
3. Eccles J. C.: Fizjologia synaps nerwowych, PZWL, Warszawa 1968.
4. Kanno Y., Loewenstein W. R.: Nature, **212**, 629—630 (1969).
5. Lou C. H.: Acta bot. sin. **4**, 183—222 (1955).
6. Skierczyńska J.: J. Exp. Bot. **19**, 389—406 (1968).
7. Spanswick R. M., Costerton J. W. F.: J. Cell. Sci. **2**, 451—464 (1967).
8. Васильев И. М., Маленков А. Г.: Клеточная поверхность и реакции клетки „Медицина”, Ленинград 1968, разд. XI.
9. Волков Г. А., Платонова Л. В.: Биофизика, **15**, 635—642 (1971).

LUBLIN—POLONIA

SUMMARY

most natural conditions, without microencapsules being inserted into the cells.

