

Я. Е. Элленгорн и Б. Л. Райхель

Математический анализ кривых проницаемости

1. Работ по изучению проницаемости в настоящее время имеется очень много, можно даже сказать, что это центральная проблема клеточной физиологии. За последнее десятилетие, главным образом, трудами школы Нассонова и Александрова (8) разработана количественная методика изучения поглощения клетками и тканями красок из различных растворов. Это дает возможность вычерчивать кривые проницаемости краски в ту или иную ткань и исследовать этот процесс на различном фоне. Иными словами, изучать влияние электролитов, неэлектролитов, поверхностно-активных веществ и т. д. на процесс проницаемости. Помимо уже указанной работы, мы не будем давать литературных ссылок, ибо в этой монографии вся литература приведена с исчерпывающей полнотой. Отметим здесь одну особенность понимания этих кривых. Строятся они следующим образом: по оси ординат откладывается обычно количество краски, измеряемой колориметрически по извлечению ее из подопытного кусочка ткани. По оси абсцисс откладываются концентрации вещества, влияние которого на проницаемость изучается. Эти кривые почему-то не подвергались математическому анализу, следовательно, эти кривые не дают со всей полнотой того, что они могли бы дать. Они воспринимаются биологами как „диаграммы“. Путь, с нашей точки зрения, не пройден до конца, так как кривая сама по себе не вскрывает сущности явления, отражая его только с внешней стороны. Совершенно необходимым поэтому является математический, хотя бы и элементарный, анализ получаемых кривых.

2. Нами было изучено влияние электролита и неэлектролита на процесс проницаемости двух красок—нейтраль-рот и эозина в клетки эпидермиса чешуй *Allium sera*. Мы поступали следующим образом: кусочки эпидермисов с третьих чешуй лукович помещались в растворы различных концентраций испытуемого вещества и туда же приливался эозин или нейтраль-рот с таким расчетом, чтобы концентрация его равнялась приблизительно $\frac{1}{20000}$. Опыт длился один час. Затем испытуемый кусочек помещался на одну из стоек колориметра Дюбоска. При этом эта стойка поднималась до предела и стаканчик с нее снимался. Это было поле № 1. Окраска эпидермиса определяла его цветность. В другой стаканчик наливался раствор краски той же концентрации и он определял цветность поля

№ 2. Опуская или поднимая этот второй стаканчик, мы подгоняли цветность поля № 2 к цветности поля № 1. Отсчет велся по стаканчику № 2. На кривой по оси ординат и отложены эти отсчеты, а перевода количеств краски в объективные величины не дано, так как это не имело смысла. Таким образом, в отличие от методики Нассонова и Александрова и их школы мы не извлекали краску из объекта, а колориметрировали окрашенность чешуи, состоящей из одного слоя клеток, в ее нативном состоянии. Такая методика работы, для другой цели, давала нам возможность вести очень тщательные параллельные микроскопические наблюдения.

3. Влияние глюкозы на процесс проницаемости эозина

На рис. № 1 приведена кривая, выражающая зависимость поглощения клетками эозина, как функция от концентрации глюкозы. Сравнение чисел концентрации 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 и величин поглощения

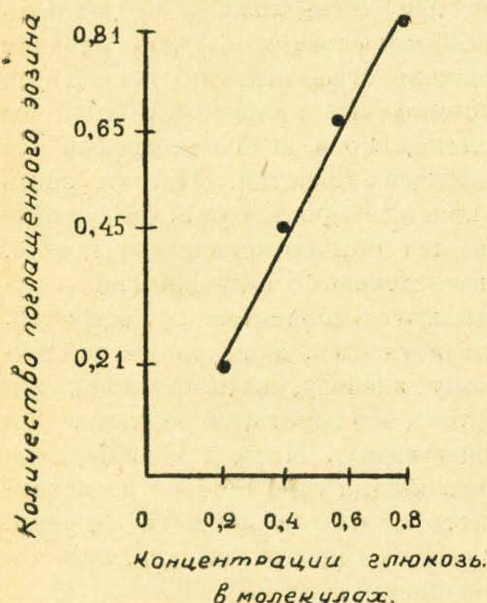


Рис 1

краски (в условных величинах) им соответствующих 0,21; 0,65; 0,81 с совершенной отчетливостью указывает на то, что эта кривая вила $y=x$. Тот факт, что различие между числами первого и второго рядов, концентрации и количества поглощенной краски, имеется только во втором знаке, дает нам право с полной уверенностью утверждать это именно положение, так как большей точности мы не можем постигнуть при субъективном методе колориметрирования. Кроме того, хотя эпидермисы в один опыт и брались с одной луковицы, но все же они могли несколько отличаться друг от друга.

Кроме того, известно также, что даже отдельные клетки в пределах одного кусочка эпидермиса могут окрашиваться неодинаково. Мы же в данном случае определяли интегральную окрашенность кусочка.

О чем же говорит эта кривая? В первую очередь она свидетельствует о том, что проникновение краски в клетки прямо пропорционально тонической концентрации глюкозы. Следовательно, только величина тонического коэффициента и определяет проницаемость.

Кроме того, важно отметить, что процесс плазмолиза и связан-

ный с ним отрыв протоплазмы от стенок клетки совершенно не влияют на процесс проницаемости (1,2,3,4,6,7). Нужно думать, что восстановление поверхностных слоев, регулирующих процесс поступления веществ в клетку, происходит столь быстро, а процесс поступления эозина идет столь медленно, что разрыв поверхностных слоев клетки не играет существенной роли в процессе проницаемости. Скорость проницаемости, иными словами, первая производная $\frac{dy}{dx}$ в данном случае равняется единице и она константна по всему протяжению кривой. Отмечаем это обстоятельство, так как оно очень важно. В случае неэлектролита глюкозы только тонический коэффициент ее определяет величину проницаемости.

Реакция пресипитации, повидимому, не играет заметной роли в процессе проницаемости, а потому и гипотонические и изотонические и гипертонические концентрации в отношении закономерностей процесса проницаемости не отличаются между собой (9,10, 11,12).

4. Влияние KNO_3 на процесс проницаемости эозина

На рис. № 2 приведена кривая, отражающая зависимость проницаемости эозина в клетки от концентрации KNO_3 .

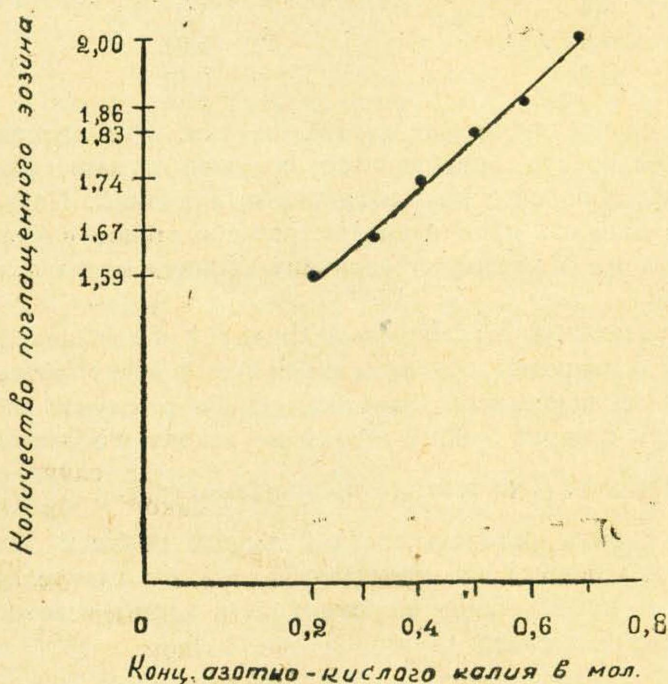


Рис. 2.

В данном случае отмечаем следующее: с небольшими погрешностями, вполне объяснимыми методикой работы, мы тоже имеем линейную зависимость вида $y=0,7x-1,39$. Это уравнение получено следующим путем. Допустим, что искомая кривая имеет вид $y=kx+b$,

и определим k и b . Для этого мы имеем, что при $x=0,3$ $y=1,59$ и при $x=0,4$ $y=1,67$. Подставляя эти значения в общее уравнение $y=kx+b$, получаем систему двух линейных уравнений:

$$\begin{cases} 1,67=0,4k+b \\ 1,74=0,5k+b \end{cases} \text{ решение которой дает } k=0,7 \text{ и } b=1,39.$$

Что означают величины k и b в биологическом понимании их? Величина k характеризует скорость поступления эозина в зависимости от концентрации KNO_3 . Действительно, производная, которая и характеризует скорость процесса поступления эозина.

$$\frac{dy}{dx}=k, \text{ т. е. в данном случае } 0,7.$$

Заметим тут же, что в зависимости от состояния эпидермиса — старый, молодой, у прорастающей луковицы, у покоящейся и т. д., эта величина k будет различной. Эти изменения величины k имеют существенное значение для понимания процесса проницаемости.

Приведем, например, следующие данные. В одном из опытов по изучению проницаемости с KNO_3 получились следующие данные:

концентрации	0,6	величина проницаемости	1,61
	0,5		1,32
	0,4		1,1
	0,3		0,91
	0,2		0,61

В этом случае примерно $k=1,9$, $b=0,34$. Эти величины отличаются от только что приведенного и нужно думать, что они обусловлены физиологическим состоянием луковицы. Первая производная, т. е. скорость проницаемости, равна в данном случае 1,9.

Величина же b указывает величину проницаемости при нулевой концентрации.

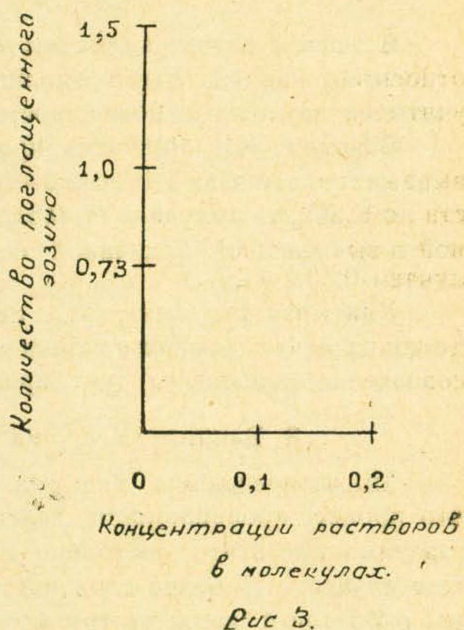
Уметь отчетливо отграничить величину k и ее изменение от величины b — это означает отдавать себе ясный отчет в том, что такое процесс проницаемости. Заметим, что и в случае электролиза проницаемость следует одному и тому же закону в областях гипотонических и гипертонических. Скорости же проницаемости, т. е. $\frac{dy}{dx}$ от случая к случаю могут быть различны, хотя в данном опыте и константны. Это означает, что ионы не нарушают, во всяком случае грубо, скорость реакции пресипитации на поверхности клетки и возобновление новых пограничных слоев.

5. Влияние положения ионов в анизотропном ряду на проницаемость

Нами были взяты следующие соли: K_2SO_4 , KCl , KNO_3 , KJ и изучена проницаемость эозина в клетки при концентрации их равной

0,2 молекулы. Получилась кривая вила № 3. Для анионов SO_4'' и Cl' величины проницаемости равны, а для NO_3' и J' резко отличны.

Следовательно, порядок иона в лиотропном ряду до хлора более или менее безразличен и не влияет заметно на проницаемость (может быть при дальнейшем уточнении эти величины и будут несколько отличаться, но, впрочем, в принципе это не имеет особого значения, так как различия не могут быть очень значительными). Влияние же иона на проницаемость резко начинает сказываться в случае применения NO_3' и J' . Из этой кривой видно, что, если для NO_3' количество поглощенной краски равнялось 1,0, то для J' оно равнялось 1,5 (при концентрации 0,2).



Если бы мы изучали влияние концентрации каждого из этих ионов в отдельности на процесс проницаемости (а нами это было проделано), то это бы нам и показало, что именно положение иона в лиотропном ряду определяет ординату кривой при концентрации 0,2 для выбранной соли.

Можно ввести чрезвычайно интересное понятие о физиологически равновесных растворах. Физиологически равновесными растворами будут те, у которых ординаты при концентрации 0,2 равны. Во всяком случае такие растворы будут одинаково влиять на процесс проницаемости. Принцип в данном случае таков: нужно подобрать растворы разных солей— K_2SO_4 , KCl , KNO_3 , KJ , для которых—проницаемости при концентрации 0,2 были бы равны. Так как эти проницаемости солей относятся в нашем случае как 0,73— SO_4'' ; 0,73— Cl' ; 1,0— NO_3' ; 1,5— J' , то мы получаем следующий ряд чисел, обозначающий проницаемость для концентраций 0,2:—1:1: 1,5:2. Теоретически концентрации этих солей, относящиеся как ряд чисел, обратных только что указанным, т. е. 1:1; 0,7:0,5 должны дать одинаковую проницаемость и быть в этом отношении физиологически равновесными.

Приведем следующий пример. Проницаемость для K_2SO_4 и KCl выражается величинами:

K_2SO_4 :	0,57	при концентрации	0,4
	0,50	"	0,3
	0,50	"	0,2

KCl; 0,63	при концентрации 0,4
0,51	" " 0,3
0,50	" " 0,2

В данном случае величины проницаемости K_2SO_4 и KCl должны относиться как 1:1. Этому вполне удовлетворяют полученные числа, учитывая возможные погрешности опытов.

Возьмем KJ. Величина проницаемости для концентраций 0,3 выражается в числах 1,1; если бы мы вычислили величину проницаемости по K_2SO_4 , то получили бы $0,51.2=1,02$. Расхождения между найденной и вычисленной величиной есть, но приемлемы. По KCl мы получаем $0,50.2=1,0$.

Учитывая тот факт, что данную закономерность мы не знаем до конца и что сравниваем более или менее случайные числа, такое совпадение, однако, следует признать вполне удовлетворительным.

6. Влияние KNO_3 на проницаемость эозина

Мы возвращаемся еще раз к этому случаю, чтобы показать, что процесс проницаемости далеко не всегда выражается линейной зависимостью и что состояние клетки—состояние коллоидов ее может привести к более сложной зависимости. В предыдущем случае мы работали с эпидермисом молодой луковицы, а в данном случае нами взята луковица спящая. Результаты этого опыта приведены на кривой № 4.

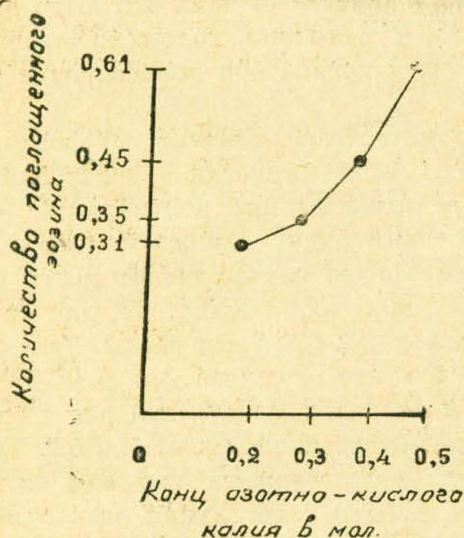


Рис. 4.

Анализ этой кривой показывает, что в данном случае мы имеем параболу $y=3x^2-1,1x+0,41$. Это уравнение получено следующим путем. Опять допустим, что искомая кривая имеет вид $y=ax^2+bx+c$, и определим коэффициенты a , b , c . Для этого мы имеем, что при

$x=0,5$	$y=0,61$
$x=0,4$	$y=0,45$
$x=0,3$	$y=0,35$

и, подставляя эти значения x и y в уравнение $y=ax^2+bx+c$, мы получим систему трех линейных уравнений относительно a , b и c .

$$\begin{cases} 0,61=(0,5)^2 \cdot a+0,5b+c \\ 0,45=(0,4)^2 \cdot a+0,4b+c \\ 0,35=(0,3)^2 \cdot a+0,3b+c, \end{cases}$$

решение которой дает $a=3$; $b=1,1$; $c=0,41$.

Проверка показывает, что и две крайние точки лежат на этой кривой.

Со всей определенностью можно сказать, что здесь краска не проникает в клетку, а абсорбируется поверхностью их, ибо мы имеем характерную для этого явления квадратичную зависимость. Чем это может быть обусловлено? В литературе описано такое явление, когда в анаэробных условиях при окрашивании клеток эпидермиса лука окраска переходила из протопласта на клеточные оболочки (9). Нужно думать, что в этом случае именно и наступает поглощение краски, определяемое параболой, так как стенки клетки эпидермиса лука мы можем принять за некоторую „поверхность“. Микроскопическое изучение данного эпидермиса, возможное в нашем случае, подтвердило нашу догадку. Эозин прокрасил по преимуществу именно клеточные оболочки. Данный пример лишний раз подчеркивает то явление, что сугубо морфологические закономерности могут быть обнаружены после тщательного математического анализа получаемых кривых. И в данном случае характер кривой проницаемости эозина в зависимости от концентрации KNO_3 тесно связан с тем, где именно отлагается краска—внутри ли протопласта или на поверхности клеток.

Чему же в данном случае равняется начальная проницаемость? Она равняется 0,41 и определяется коэффициентом s . Относительно скоростей проницаемости для концентраций 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 следует сказать, что в отличие от предыдущего случая, она не константна на всем протяжении кривой, а меняется от точки к точке.

Например, для концентрации 0,2 имеем:

$$\frac{dy}{dx} = 6x - 1,1; \quad \frac{dy}{dx} = 6 \cdot 0,2 - 1,1 = 0,1$$

$$\text{для концентрации } 0,5 \quad \frac{dy}{dx} = 6 \cdot 0,5 - 1,1 = 1,9$$

Если при линейной зависимости, в предыдущем случае, для всех концентраций скорость проницаемости была одинаковой, то в данном случае она уже отлична для каждой из точек.

Для режима существования клетки это, разумеется, не безразлично и в этих двух кривых (№ 2 и № 4) прекрасно отражены физиологические состояния покоящейся и прорастающей луковицы и в отношении особенностей процессов проницаемости каждой из них даны вполне определенные характеристики.

7. Влияние краски на изучение процесса проницаемости

Нами были взяты растворы глюкозы 0,4; 0,6; 0,8 и поставлен с ними опыт в двух сериях—с эозином и с нейтрал-рот, и для обоих красок были получены кривые, изображенные на рис. № 5.

Кривая проницаемости для эозина может быть описана уравнением $y = x + 0,05$. Иными словами, в данном случае имеется

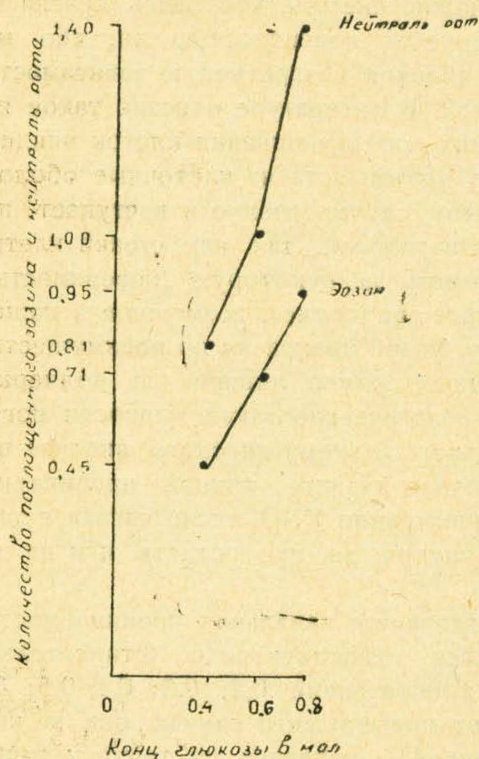


Рис 5

почти то же, что в случае кривой № 1, т. е. эта кривая безусловно проходит в действительности через начало ординат и в идеале описываются не уравнением $y = x + 0,05$, а уравнением $y = x$. Величина 0,05 вызвана невозможностью произвести точные измерения и нас интересоваться не должны, так как она лежит за пределами точности наших измерений.

Кривая для проницаемости нейтраль-рот может быть описана уравнением $y = 2,625x^2 + 1,425x + 0,93$. Величина 0,93 представляет здесь начальную ординату, т. е. величину начальной проницаемости. Но это уже не линейная зависимость, а квадратичная. В данный опыт были взяты сравнимые кусочки эпидермиса с одной луковицы и, следовательно, имеющиеся различия в форме кривых обусловлены

самими красками. Нейтраль-рот, повидимому, не проникает в клетку, а абсорбируется на поверхности, тогда как эозин проникает внутрь клетки и оба эти обстоятельства и отмечаются разным характером кривых. Если для линейной зависимости, в случае эозина — скорость на всем протяжении кривой равна 1 и, следовательно, не зависит от концентрации, то в случае нейтраль-рот скорость зависит от концентрации, будучи равной для концентрации 0,4—0,675; 0,6—1,725; 0,8—2,775. Любопытно здесь то, что скорость проницаемости меняется в том случае, когда идет абсорбция на поверхности и не меняется при проникновении вещества внутрь протопласта.

Материал, послуживший для построения данных кривых, получен от Т. И. Имерлишвили, за что мы пользуемся случаем выразить ей свою глубокую благодарность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albach W. (1930) Über die schädigende Wirkung der Plasmolyse und der Deplasmolyse. Protoplasma, 12, 255.
2. Hansteen-Cranner, B. (1919). Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten. Ber. d. Dtsch. Bot. Ges., 37, 380.

3. Hansteen-Cranner, B. (1922). Zur Biochemie und Physiologie der grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meldinger fra Norges Landsbrukshoiskole, 2, 1.
4. Hedt, K. (1912). Studien über der Vergang der Plasmolyse. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, 11, 137.
5. Heilbrunn, L. V. (1930). The surface precipitation reaction of living cells. Proc. Americ. Phil. Soc., 69, 295.
6. Küster, L. (1910). Über Veränderungen der Plasmoberfläche bei Plasmolyse, Zschr. f. Bot., 2, 689.
7. Küster, E. (1929). Pathologie der Pflanzenzelle, II. Pathologie der Protoplasmas, Protoplasma-Monographien, 3. Borntrauger, Berlin.
8. Насонов и Александров. (1940). Реакция живого вещества на внешние воздействия. Медгиз.
9. Strugger S. (1936). Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung. Protoplasma, 26.
10. Umrath, K. (1932). Die Bildung von Plasmalemma (Plasmahaut) bei Nitella mucronata. Protoplasma, 16, 173.
11. Weber, Fr. (1931). Plasmolyse und „Surface precipitation reaction“. Protoplasma, 15, 522.
12. Weber, Fr. (1934). Plasmalemma. Zerstörung und Tonoplastenbildung. Protoplasma, 21, 424.

Յա. Ս. Էլլենհորսթ եւ Բ. Լ. Ռայնի

ԹԱՓԱՆՑԵԼԻՈՒԹՅԱՆ ԿՈՐԱԳԾԵՐԻ ՄԱԹԵՄԱՏԻԿԱԿԱՆ ՎԵՐԼՈՒԾՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Թափանցելիության կորագծերի մաթեմատիկական վերլուծությունը պարզում է հետևյալ օրինաչափությունները.

ա) Թափանցելիությունը գլյուկոզայի դանազան կոնցենտրացիաների լուծույթներում որոշվում է $y=x$ հավասարությամբ: Թափանցելիության արագությունը հաստատուն մեծություն է ամբողջ կորագծի երկարությամբ և հավասար է 1-ի:

բ) Կալիումի աղերի դեպքում թափանցելիությունը որոշվում է $y=kx+b$ հավասարությամբ, որտեղ k -ն ցույց է տալիս թափանցելիության կորագծի թեքությունը (սոխի վերնամաշկի համար), b -ն՝ թափանցելիությունը զրո կոնցենտրացիայի դեպքում: Բիոլոգիական տեսակետից մենք վերցրել ենք թափանցելիությունը 0,2 կոնցենտրացիայի դեպքում:

գ) Յոնների զրուծությունը լիտորոպ շրջանում, մանավանդ Cl' , NO'_3 և J' վերաբերմամբ, թափանցելիության վրա մեծ ազդեցություն է թողնում:

Տվյալ կոնցենտրացիայի (0,2 մոլ.) դեպքում զրանց թափանցելիությունը տարբեր է՝ դրանք իրար հարաբերում են SO''_4 , Cl' , NO'_3 , J'

$$1 : 1 : 1,4 : 2$$

Այս տվյալների հիման վրա կարելի է պատրաստել ֆիզիոլոգիական (թափանցելիության տեսակետից) համարժեք լուծույթներ՝ վերցնելով այդ նյութերը թափանցելիությանը հակադարձ հարաբերությամբ:

J. E. Ellenhorn et B. L. Rayhel

L'analyse mathématique des courbes de perméabilité

R é s u m é

L'analyse mathématique des courbes de perméabilité a découvert des régularités suivantes :

a) La perméabilité dans les solutions des glucoses de concentrations différentes est définie par l'équation $y=x$. La vitesse de perméabilité est constante tout le long de la courbe et est égale à 1.

b) Dans les cas, des sels de potassium la perméabilité est définie par l'équation $y=kx+b$, où k caractérise l'inclinaison de la courbe de perméabilité du morceau d'épiderme d'*Allium cepa*, b caractérise la perméabilité à la concentration zéro.

Au point de vue biologique nous choisissons la perméabilité à la concentration 0,2.

c) La position des ions dans la région lyotrope, surtout en ce qui concerne Cl' , NO'_3 , J' , exerce une influence substantielle sur la perméabilité.

Les perméabilités à la concentration donnée (0,2 mol.) sont différentes et se rapportent l'une à l'autre comme SO''_4 , Cl' , NO'_3 , J'

$$1 : 1 : 1,4 : 2$$

D'après ces données, on peut composer des solutions physiologique équivalentes (en ce qui concerne la perméabilité), en prenant les concentrations des solutions inverses à la perméabilité qui réside en elles.