

Volume, superficie e lunghezza di *Borrelia burgdorferi*

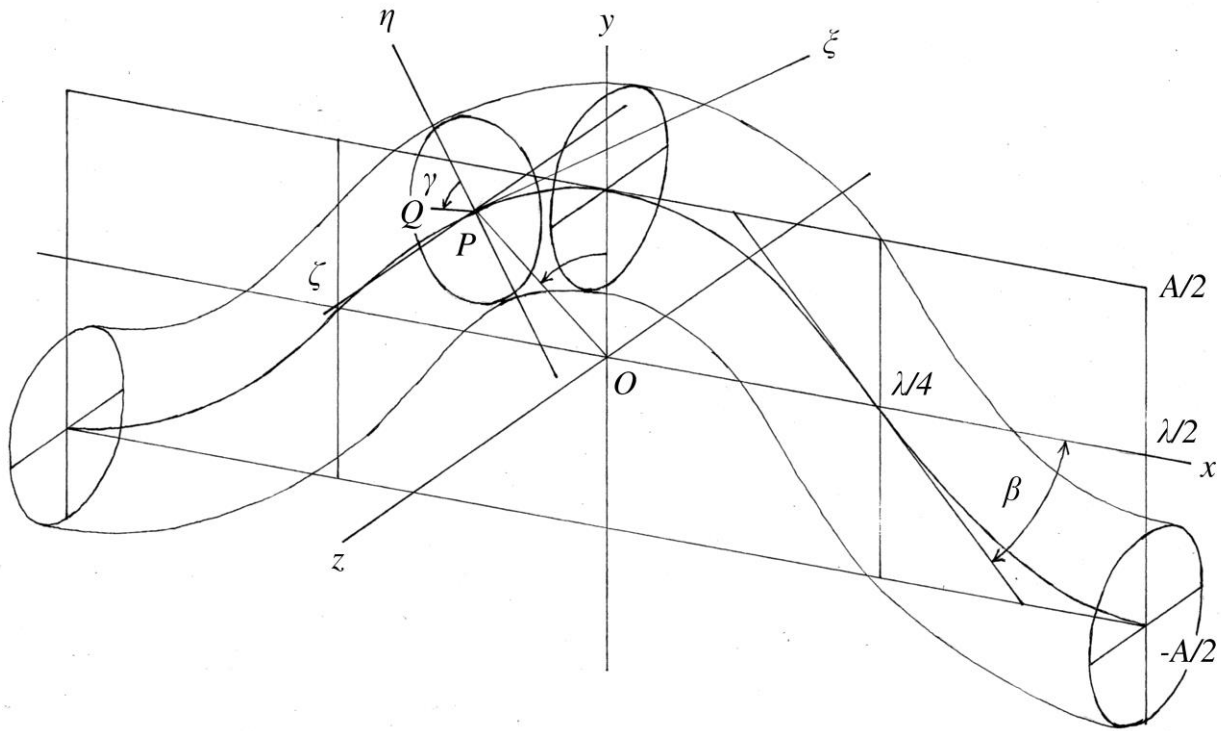
Paolo Maccallini

Maggio 2016

1	Sommario	
2	Geometria di <i>Borrelia burgdorferi</i>	2
3	Funzione per l'asse geometrico.....	2
4	Funzione per lo spazio occupato.....	3
5	Volume.....	4
6	Superficie.....	6
7	Lunghezza dell'asse geometrico.....	6
8	Confronto con <i>Escherichia coli</i>	7
9	Confronto con fenotipi non spirochetiformi.....	8
10	Confronto con cellule eucariote.....	9

2 Geometria di *Borrelia burgdorferi*

L'asse del corpo di una *Borrelia burgdorferi* è assimilabile a una sinusoide avente ampiezza $A = 0,78\mu\text{m}$, lunghezza d'onda $\lambda = 2,83\mu\text{m}$ e pendenza di $\beta = 42,7^\circ$ nel punto di flesso (Goldstein, et al., 1996). Mi propongo qui di ricavare il volume del batterio, se si assume per esso una lunghezza complessiva di cinque lunghezze d'onda e un raggio medio $R = 0,16\mu\text{m}$.



3 Funzione per l'asse geometrico

A tale scopo è necessario identificare una funzione che approssimi l'asse del corpo della *Borrelia*. Utilizzando il sistema di riferimento in figura, provo ad approssimare il quarto di periodo compreso tra $x = 0$ e $x = \lambda/4$ con il polinomio del terzo ordine

$$f(x) = cx^3 + bx^2 + d$$

Imponendo che venga verificata l'ampiezza della curva, si ottiene

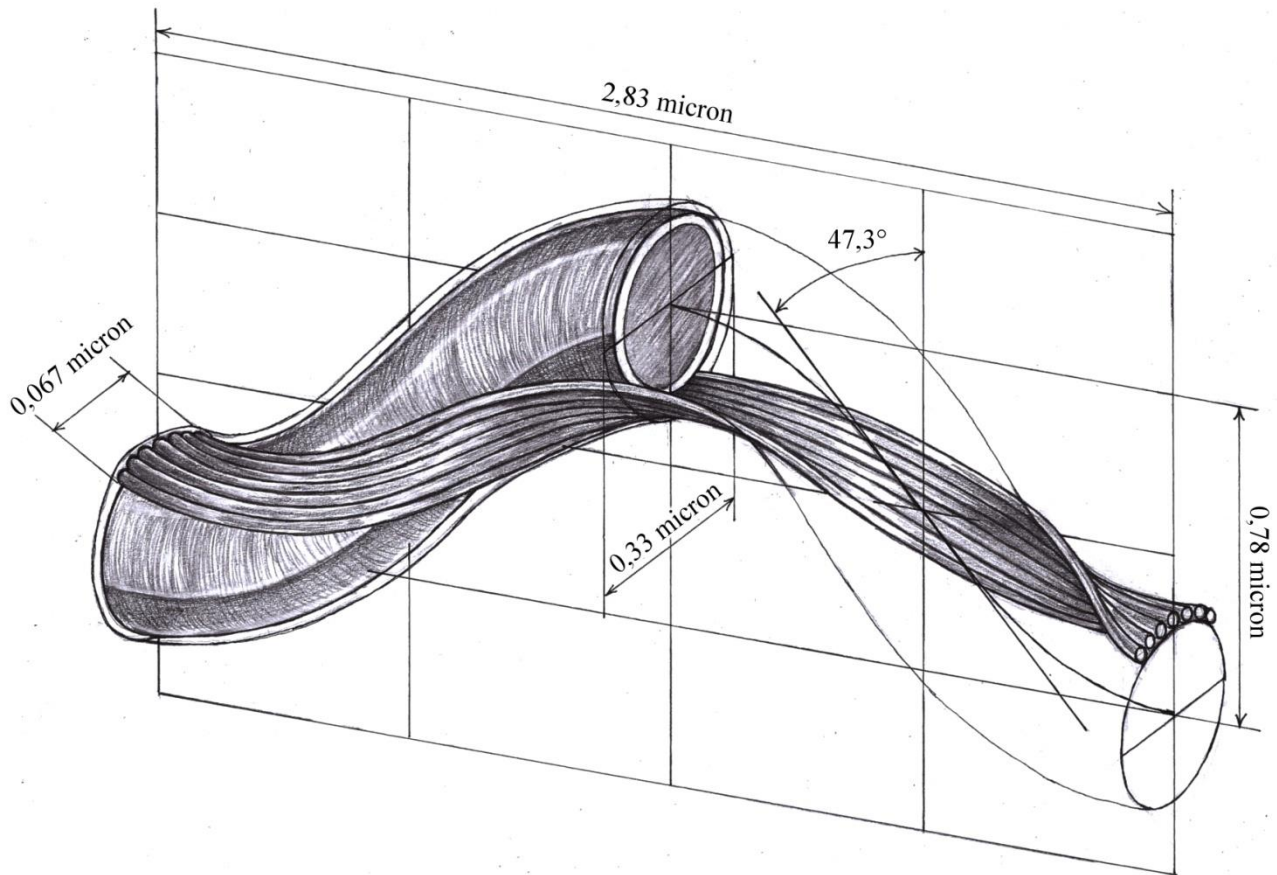
$$f(x = 0) = d \Rightarrow d = A/2$$

Imponendo che la pendenza in $x = \frac{\lambda}{4}$ sia quella assegnata, si ottiene

$$f'(x = \frac{\lambda}{4}) = 3c\left(\frac{\lambda}{4}\right)^2 + 2b\frac{\lambda}{4} = \tan \beta$$

Imponendo in fine che la funzione si annulli in $x = \lambda/4$, abbiamo

$$f\left(x = \frac{\lambda}{4}\right) = c\left(\frac{\lambda}{4}\right)^3 + b\left(\frac{\lambda}{4}\right)^2 + \frac{A}{2} = 0$$



Si possono allora ricavare i coefficienti c, b nel modo seguente:

$$\begin{cases} 3c\left(\frac{\lambda}{4}\right)^2 + b\frac{\lambda}{2} = \tan \beta \\ c\left(\frac{\lambda}{4}\right)^3 + b\left(\frac{\lambda}{4}\right)^2 = -\frac{A}{2} \end{cases} \Leftrightarrow \begin{cases} 1.50\mu\text{m}^2c + 1.41\mu\text{m}b = -0.92 \\ 0.35\mu\text{m}^3c + 0.50\mu\text{m}^2b = -0.39\mu\text{m} \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} c = \frac{0.35}{\mu\text{m}^2} \\ b = -\frac{1.02}{\mu\text{m}} \end{cases}$$

In definitiva abbiamo la funzione

$$f(x) = \frac{0.357}{\mu\text{m}^2}x^3 - \frac{1.02}{\mu\text{m}}x^2 + 0.39\mu\text{m}$$

4 Funzione per lo spazio occupato

Si consideri ora che il generico punto Q appartenente alla *Borrelia* è individuato dal vettore:

$$\overrightarrow{OQ} = \overrightarrow{OP} + \overrightarrow{PQ} = t\hat{e}_1 + f(t)\hat{e}_2 + \rho \cos \gamma \hat{e}_2 + \rho \sin \gamma \hat{e}_3$$

Per i versori del sistema di riferimento mobile si ha d'altra parte che

$$\begin{cases} \hat{e}_1 = \frac{1}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_1 + \frac{f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_2 \\ \hat{e}_2 = -\frac{f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_1 + \frac{1}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_2 \\ \hat{e}_3 = \hat{e}_3 \end{cases}$$

Dunque le coordinate di Q sono date da

$$\begin{aligned} \overrightarrow{OQ} &= t\hat{e}_1 + f(t)\hat{e}_2 + \left(-\frac{\rho \cos \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_1 + \frac{\rho \cos \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \hat{e}_2 \right) + \rho \sin \gamma \hat{e}_3 = \\ &= \left(t - \frac{\rho \cos \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \right) \hat{e}_1 + \left(f(t) + \frac{\rho \cos \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \right) \hat{e}_2 + \rho \sin \gamma \hat{e}_3 \Rightarrow \end{aligned}$$

$$\begin{cases} x_Q = t - \frac{\rho \cos \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \\ y_Q = f(t) + \frac{\rho \cos \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \\ z_Q = \rho \sin \gamma \end{cases}$$

5 Volume

Dunque il volume del tratto di spirocheta rappresentato in figura è dato (Fusco, et al., 2001) da

$$V_\lambda = 4 \int_0^{2\pi} \int_0^R \int_0^{\lambda/4} \left| \det \begin{bmatrix} \frac{\partial x_Q}{\partial t} & \frac{\partial x_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial x_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial y_Q}{\partial t} & \frac{\partial y_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial t} & \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} \end{bmatrix} \right| dt d\rho d\gamma$$

Per le derivate parziali si ha

$$\begin{aligned} \frac{\partial x_Q}{\partial t} &= 1 - \rho \cos \gamma \left(\frac{f''(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} - \frac{f'(t)^2 f''(t)}{(1+f'(t)^2)^{3/2}} \right) = 1 - \frac{\rho \cos \gamma f''(t)}{(1+f'(t)^2)^{3/2}} \\ \frac{\partial x_Q}{\partial \rho} &= -\frac{\cos \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}}; \quad \frac{\partial x_Q}{\partial \gamma} = \frac{\rho \sin \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \\ \frac{\partial y_Q}{\partial t} &= f'(t) - \frac{\rho \cos \gamma f'(t) f''(t)}{(1+f'(t)^2)^{3/2}} = f'(t) \left[1 - \frac{\rho \cos \gamma f''(t)}{(1+f'(t)^2)^{3/2}} \right] \\ \frac{\partial y_Q}{\partial \rho} &= \frac{\cos \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}}; \quad \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} = -\frac{\rho \sin \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial t} &= 0; \quad \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} = \sin \gamma; \quad \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} = \rho \cos \gamma \end{aligned}$$

Dunque il calcolo del determinante porge

$$\begin{aligned}
 \det \begin{bmatrix} \frac{\partial x_Q}{\partial t} & \frac{\partial x_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial x_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial y_Q}{\partial t} & \frac{\partial y_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial t} & \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} \end{bmatrix} &= \frac{\partial x_Q}{\partial t} \begin{vmatrix} \frac{\partial y_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} & \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} \end{vmatrix} - \frac{\partial x_Q}{\partial \rho} \begin{vmatrix} \frac{\partial y_Q}{\partial t} & \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial t} & \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} \end{vmatrix} + \frac{\partial x_Q}{\partial \gamma} \begin{vmatrix} \frac{\partial y_Q}{\partial t} & \frac{\partial y_Q}{\partial \rho} \\ \frac{\partial z_Q}{\partial t} & \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} \end{vmatrix} = \\
 &= \frac{\partial x_Q}{\partial t} \left(\frac{\partial y_Q}{\partial \rho} \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} - \frac{\partial y_Q}{\partial \gamma} \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} \right) - \frac{\partial x_Q}{\partial \rho} \frac{\partial y_Q}{\partial t} \frac{\partial z_Q}{\partial \gamma} + \frac{\partial x_Q}{\partial \gamma} \frac{\partial y_Q}{\partial t} \frac{\partial z_Q}{\partial \rho} = \\
 &= \frac{\partial x_Q}{\partial t} \left(\frac{\rho \cos^2 \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} + \frac{\rho \sin^2 \gamma}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \right) + \frac{\rho \cos^2 \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} f'(t) \frac{\partial x_Q}{\partial t} + \frac{\rho \sin^2 \gamma f'(t)}{\sqrt{1+f'(t)^2}} f'(t) \frac{\partial x_Q}{\partial t} = \\
 &= \frac{\partial x_Q}{\partial t} \left[\frac{\rho}{\sqrt{1+f'(t)^2}} + \frac{\rho f'(t)^2}{\sqrt{1+f'(t)^2}} \right] = \rho \frac{\partial x_Q}{\partial t} \frac{1+f'(t)^2}{\sqrt{1+f'(t)^2}} = \rho \sqrt{1+f'(t)^2} - \frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2}
 \end{aligned}$$

Pertanto il volume cercato è dato da

$$V_\lambda = 4 \int_0^{2\pi} \int_0^R \int_0^{\lambda/4} \left| \rho \sqrt{1+f'(t)^2} - \frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2} \right| dt d\rho d\gamma$$

Si consideri ora che in $t \in [0, \lambda/4]$ la funzione $f'(t)$ è decrescente e dunque la sua derivata $f''(t)$ è negativa. Ma allora ne segue che -in questo intervallo- si ha

$$-\frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2} \geq 0 \Rightarrow \rho \sqrt{1+f'(t)^2} - \frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2} \geq 0$$

Quindi si può togliere il valore assoluto nell'integrando, ottenendo

$$\begin{aligned}
 V_\lambda &= 4 \int_0^{2\pi} \int_0^R \int_0^{\lambda/4} \left(\rho \sqrt{1+f'(t)^2} - \frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2} \right) dt d\rho d\gamma = \\
 &= 4 \int_0^{2\pi} \int_0^R \int_0^{\lambda/4} \rho \sqrt{1+f'(t)^2} dt d\rho d\gamma - 4 \int_0^{2\pi} \int_0^R \int_0^{\lambda/4} \frac{\rho^2 \cos \gamma f''(t)}{1+f'(t)^2} dt d\rho d\gamma = \\
 &= 4 \int_0^{2\pi} d\gamma \int_0^R \rho d\rho \int_0^{\lambda/4} \sqrt{1+f'(t)^2} dt - 4 \int_0^{2\pi} \cos \gamma d\gamma \int_0^R \rho^2 d\rho \int_0^{\lambda/4} \frac{f''(t)}{1+f'(t)^2} dt
 \end{aligned}$$

L'integrale trigonometrico a secondo membro è nullo, dunque si ha

$$V_\lambda = 4\pi R^2 \int_0^{\lambda/4} \sqrt{1+f'(t)^2} dt$$

Introducendo i valori numerici si ottiene in definitiva:

$$V_\lambda = 4\pi(0.16\mu m)^2 \int_0^{0.70\mu m} \sqrt{1 + \left(\frac{1.05}{\mu m^2} t^2 - \frac{2.04}{\mu m} t\right)^2} dt = 4\pi(0.16\mu m)^2 0.81\mu m = 0.26\mu m^3$$

6 Superficie

Per il calcolo della superficie esterna di una lunghezza d'onda della spirocheta è sufficiente assumere -nell'integrale del volume- che sia sempre $\rho = R$. Dunque si ha

$$S_\lambda = 4 \cdot 2\pi R \int_0^{\lambda/4} \sqrt{1 + f'(t)^2} dt = 8\pi 0.16\mu m \cdot 0.81\mu m = 3.25\mu m^2$$

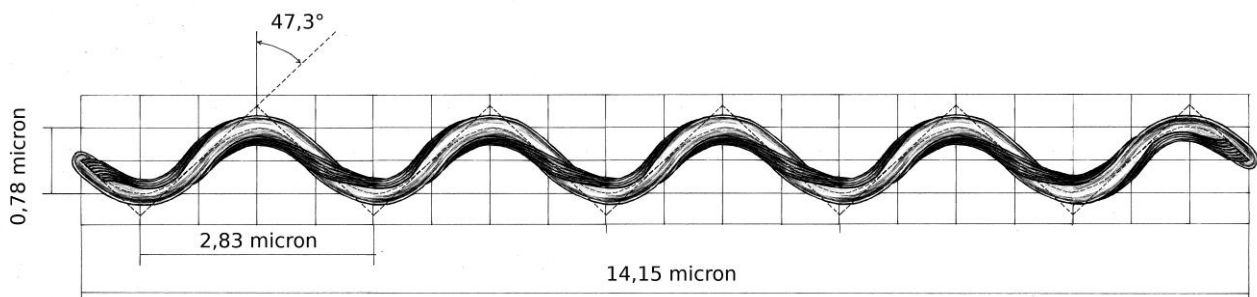
7 Lunghezza dell'asse geometrico

In fine calcolo la lunghezza dell'asse del corpo (Ghizzetti, et al., 1996), corrispondente a una lunghezza d'onda della spirocheta:

$$L_\lambda = 4 \int_0^{\lambda/4} \sqrt{1 + f'(t)^2} dt = 4 \cdot 0.81\mu m = 3.24\mu m$$

In tabella sono riportati questi parametri per una lunghezza d'onda $\lambda = 2.83 \mu m$ e per un esemplare di lunghezza pari a $14.15 \mu m$, ovvero cinque volte λ .

Parametri	Una lunghezza d'onda ($2.83 \mu m$)	Spirocheta da cinque lunghezze d'onda ($14.15 \mu m$)
Volume	$0.26 \mu m^3$	$1.30 \mu m^3$
Superficie	$3.25 \mu m^2$	$16.25 \mu m^2$
Superficie/volume	$12.5 / \mu m$	
Sviluppo dell'asse del corpo	$3.24 \mu m$	$16.20 \mu m$



8 Confronto con *Escherichia coli*

Come termine di paragone consideriamo *E. coli*, un bacillo appartenente alla famiglia degli *Enterobacteriaceae*, un gruppo che contiene più di 20 generi e un centinaio di specie di bacilli Gram-negativi, anaerobi facoltativi (Gillespie, et al., 2012). Dalla letteratura si ricavano per esso una lunghezza di $2b = \sim 2 \mu m$ (Muller-Hill, 1996), un diametro di $2a = \sim 1 \mu m$ (Nelson, et al., 2000) e un volume di $\sim 1,1 \mu m^3$ (Kubitschek HE, 1986). Se approssimo il volume con un ellissoide simmetrico rispetto all'asse maggiore, abbiamo che la superficie del batterio è descritto dalla seguente funzione (Maccallini P, 2007) in coordinate polari:

$$\left\{ \begin{array}{l} \rho_{Ec}(\theta, \varphi) = \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{\cos \theta}{c}\right)^2 + \sin^2 \theta \left(\frac{\cos^2 \varphi}{a^2} + \frac{\sin^2 \varphi}{b^2}\right)}} \\ a = c = 0.5 \mu m \\ b = 1 \mu m \end{array} \right.$$

che si traduce nella rappresentazione parametrica

$$\left\{ \begin{array}{l} x = \rho_{Ec} \sin \theta \cos \varphi = \frac{\sin \theta \cos \varphi}{\sqrt{\left(\frac{\cos \theta}{c}\right)^2 + \sin^2 \theta \left(\frac{\cos^2 \varphi}{a^2} + \frac{\sin^2 \varphi}{b^2}\right)}} \\ y = \rho_{Ec} \sin \theta \sin \varphi = \frac{\sin \theta \sin \varphi}{\sqrt{\left(\frac{\cos \theta}{c}\right)^2 + \sin^2 \theta \left(\frac{\cos^2 \varphi}{a^2} + \frac{\sin^2 \varphi}{b^2}\right)}} \\ z = \rho_{Ec} \cos \theta = \frac{\cos \theta}{\sqrt{\left(\frac{\cos \theta}{c}\right)^2 + \sin^2 \theta \left(\frac{\cos^2 \varphi}{a^2} + \frac{\sin^2 \varphi}{b^2}\right)}} \\ a = c = 0.5 \mu m \\ b = 1 \mu m \end{array} \right.$$

La superficie di *E. coli* così approssimata è riportata in figura. Per il volume -trattandosi di un solido di rotazione- possiamo ricorrere al primo teorema di Guldino (Fusco, et al., 2001), secondo il quale abbiamo:

$$\begin{aligned} V_{Ec} &= 8 \frac{\pi}{2} \int_0^b \int_0^{a\sqrt{1-\frac{y^2}{b^2}}} z dz dy = 4\pi \int_0^b \frac{z^2}{2} \Big|_0^{a\sqrt{1-\frac{y^2}{b^2}}} dy = 2\pi \int_0^b a^2 \left(1 - \frac{y^2}{b^2}\right) dy = \\ &= \frac{2\pi a^2}{b^2} \int_0^b (b^2 - y^2) dy = \frac{2\pi a^2}{b^2} \left(b^2 \int_0^b dy - \int_0^b y^2 dy \right) = \frac{2\pi a^2}{b^2} \left(b^3 - \frac{b^3}{3} \right) = \frac{4\pi a^2 b}{3} \sim 1 \mu m^3 \end{aligned}$$

Come si vede, questo modello geometrico per *E. coli* fornisce una buona approssimazione per il volume. Lo usiamo dunque per ricavare la superficie S_{Ec} , ricorrendo questa volta al secondo teorema di Guldino (Fusco, et al., 2001), per il quale si ha:

$$S_{Ec} = 8 \frac{\pi}{2} \int_0^{\frac{\pi}{2}} z(\theta) \sqrt{\left(\frac{dz}{d\theta}\right)^2 + \left(\frac{dy}{d\theta}\right)^2} d\theta = 4\pi a \int_0^{\frac{\pi}{2}} \cos(\theta) \sqrt{a^2 \sin(\theta)^2 + b^2 \cos(\theta)^2} d\theta$$

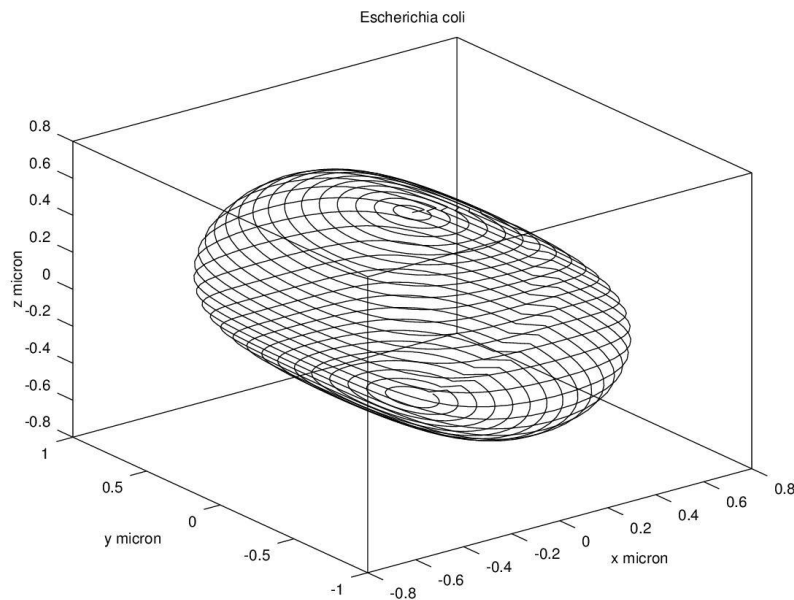
dove si è considerata la rotazione del ramo di iperbole che si ottiene dalla equazione dell'ellissoide per $\varphi = \pi/2$ e $\theta \in [0, \pi/2]$, ovvero

$$\begin{cases} y = a \cos \theta \\ z = b \sin \theta \\ \theta \in [0, \pi/2] \end{cases}$$

Integrando per via numerica si ha

$$\int_0^{\frac{\pi}{2}} \cos(\theta) \sqrt{a^2 \sin(\theta)^2 + b^2 \cos(\theta)^2} d\theta \sim 0.854 \mu m \Rightarrow S_{Ec} \sim 5.36 \mu m^2$$

Otteniamo in definitiva un rapporto superficie/volume pari a 5.36. Si vede allora come *Borrelia burgdorferi* abbia una rapporto nettamente superiore, il che sembra compatibile con un elevato metabolismo del fenotipo a spirocheta di questo organismo.



9 Confronto con fenotipi non spirochetiformi

È stata descritta la capacità di *Borrelia burgdorferi* di modificare forma e dimensione sia *in vitro* che *in vivo* (Miklossy, et al., 2008). In particolare, è stato osservato *in vitro* la potenzialità del siero umano di indurre una conversione da fenotipo a spirocheta, verso un fenotipo sferico, denominato *round body* (RB), per il quale è stato misurato un diametro medio di $2.8 \mu m$ (Meriläinen, et al.,

2015). Per i RB ricaviamo dunque un volume di $11.49 \mu\text{m}^3$, una superficie di $24,63\mu\text{m}^2$, per un rapporto superficie/volume di 2.14.

Parametri	Round body	Spirocheta da cinque lunghezze d'onda (14. 15 μm)	<i>Escherichia coli</i>
Volume	$11.49 \mu\text{m}^3$	$1.30 \mu\text{m}^3$	$1.00 \mu\text{m}^3$
Superficie	$24.63 \mu\text{m}^2$	$16.25 \mu\text{m}^2$	$5.36 \mu\text{m}^2$
Superficie/volume	2.14	12.5	5.36

Dal confronto tra il fenotipo RB e quello a spirocheta sinusoidale, emerge chiaramente come nel passaggio dal primo al secondo si abbia un massiccio incremento di volume che, associato al cambiamento di forma, produce l'effetto di una drastica riduzione del rapporto superficie/volume. Questo suggerisce che parte del motivo per cui si realizza questa trasformazione possa essere la ricerca di un ridotto scambio con l'ambiente esterno. Questo infatti rende il batterio meno esposto agli insulti farmacologici e immunitari. Si osservi come il rapporto in parola sia minore anche di quello relativo a *E. coli*.

10 Confronto con cellule eucariote

Come termine di paragone si consideri che il diametro medio di una cellula eucariota è di $15 \mu\text{m}$, e il suo volume è oltre $14.000 \mu\text{m}^3$ (Ethier, et al., 2007). I neuroni piramidali presentano un diametro medio ancora maggiore, tra i 20 e i $120 \mu\text{m}$ mentre le cellule stellate sono neuroni mediamente più piccoli, con un diametro di $20 \mu\text{m}$ (Johns, 2014). Quindi *Borrelia burgdorferi* presenta un volume irrisorio rispetto alla generica cellula umana e questa circostanza è compatibile alcune osservazioni in vitro in cui è stata dimostrata la capacità di *B. burgdorferi* di penetrare e vivere all'interno di cellule umane di tipo endoteliale (Ma, et al., 1991) e neuronale (Livengood, et al., 2006).

Opere citate

- Ethier, C. Ross and Simmons, Craig A. 2007.** *Cellular biomechanics*. New Delhi : Cambridge University Press, 2007.
- Fusco, N, Marcellini, P and Sbordone, C. 2001.** *Analisi Matematica 2*. s.l. : Liguori, 2001.
- Ghizzetti, A and Rosati, F. 1996.** *Analisi Matematica 1*. s.l. : Zanichelli, 1996.
- Gillespie, Stephen and Bamford, Kathleen. 2012.** *Medical Microbiology and Infection at a Glance*. Fourth edition. s.l. : Wiley-Blackwell, 2012.
- Goldstein, Stuart, Buttle, Karoline and Charon, Nyles. 1996.** Structural Analysis of the Leptospiraceae and *Borrelia burgdorferi* by High-Voltage Electron Microscopy. *Journal of Bacteriology*. Nov 1996, Vol. 178, 22, pp. 6539-6545.
- Johns, Paul. 2014.** *Clinical Neuroscience*. s.l. : Elsevier, 2014.
- Kubitschek HE, Friske JA. 1986.** Determination of bacterial cell volume with the Coulter Counter. *J Bacteriol.* 1986, Vol. 168, 3.
- Livengood, JA and Gilmore, RD. 2006.** Invasion of human neuronal and glial cells by an infectious strain of *Borrelia burgdorferi*. *Microbes Infect.* Nov-Dec 2006, Vol. 8, 14-15, pp. 2832-40.
- Ma, Y, Sturrock, A and Weis, JJ. 1991.** Intracellular localization of *Borrelia burgdorferi* within human endothelial cells. *Infect Immun.* Feb 1991, Vol. 59, 2, pp. 671-8.
- Muller-Hill, B. 1996.** New York : Walter de Gruyter, 1996. p. 134.

Nelson, DE and Young, KD. 2000. Penicillin binding protein 5 affects cell diameter, contour, and morphology of *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2000, Vol. 182, 6.