
крыс при экспериментальном стрептозотоциновом диабете. Мед. Наука Армении, LV, N 4, 32-42, 2015.

4. Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова А. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых ТХУ экстрактах. Вopr.мeд.химии, 5, с. 538-542, 1962.
5. Atkinson M.A., Maclaren.N.K., Sharp D.W., Lacy P.E., Riley W.J. 64000 Mr autoantibodies as predictors of insulin-dependent diabetes. Lancet, v. 335, p. 1357-1360, 1990.
6. Bhat R., Axtel R., Miranda M., Lock C., Tsien R.W., Steinman L. Inhibitory role for GABA in autoimmune inflammation. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 2010, v. 107, p. 2880-2885.
7. Braun M. et al., GABA is an autocrine excitatory transmitter in human pancreatic β -cells. Diabetes, 59, 1694-1701, 2010.
8. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C., Waget A., Neyrinck A.M., Delzenne N.M., Burcelin R. Change in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes. 2008, 57(6), 1470-1481.
9. Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes. 2007, 56(7), 1761-1772
10. Garry D.J., Coulter H.D., Mc Intee T.J., Wu J.Y., Sorenson R.L. Immunoreactive GABA-T within the pancreatic islets localized in mitochondria in the β -cell. J. Histochem.Cytochem. v.35, p. 831-836, 1987.
11. Kostanyan I.A., Merkulova M.I., Novolotskaya E.V., Nurieva R.I. Study of interaction between L-glutamate and human blood lymphocytes// Immunol. Lett., 1997 - 58(3) - P. 177-180.
Newsholme P. Why Is L-Glutamine Metabolism Important to Cells of the Immune System in Health, Postinjury, Surgery or Infection?// J. Nutrition, 2001-131 - 2515S-2522S.
12. Sorenson R.L., Garry D.G., Brelje T. C. Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans.Diabetes., v.40, p. 1365-1374, 1991.
13. Tian J., Chau C., Hales T.G. et al. GABAA receptors mediate inhibition of T cell responses J.Neuroimmunol., 1999 - 96 - P. 21-28. 21. Tian J., Kaufman D.L. Antigen-based therapy for the treatment of type 1 diabetes. Diabetes. 58, 1939-1946, 2009.
14. Tian J., Dang H., Nguyen An V., Chen Z., Kaufman D.L. Combined therapy with GABA and proinsulin/alum acts synergistically to restore longterm normoglycemia by modulating T-cell autoimmunityand promoting β -cell replication in newly diabetic NOD mice. Diabetes, v.63, no.9, 3128-3134, 2014.

Биолог. журн. Армении, 1 (69), 2017

ВЛИЯНИЕ ДЛИНЫ АЛКИЛЬНОЙ ЦЕПИ ПОВЕРХНОСТНО АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЫ

Л. А. ТОНОЯН

*Ереванский государственный университет, кафедра молекулярной физики
lilittonoyan.ysu@gmail.com*

В работе исследовано влияние анионоактивных поверхностно-активных веществ: лаурилсульфата натрия ($C_{12}H_{25}SO_4Na$), пентадецил сульфата натрия ($C_{15}H_{31}SO_4Na$) и лауретсульфата натрия ($C_{18}H_{37}SO_7Na$) на устойчивость бислойной липидной мембраны в электрическом поле. Показано, что с увеличением длины алкильной цепи поверхностно активного вещества устойчивость БЛМ в электрическом поле уменьшается.

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) — органические соединения, имеющие амфифильное строение, то есть их молекулы имеют в своём составе полярную часть, гидрофильный компонент и неполярную (углеводородную) часть, гидрофобный компонент. Эффективная форма молекул ПАВ представляет из себя “клин” (конус), т.е. эти молекулы имеют относительно широкую полярную головку и узкий углеводородный хвост. В силу интенсивного использования и выброса в окружающую среду, объёмы загрязнения водных объектов ПАВ-ами идет с катастрофической быстротой [3]. ПАВ имеют свойство впитываться и накапливаться в организме, вызывая нарушения в центрально-нервной, сердечно-сосудистой, пищеварительной системах, повреждает органы выделительной системы. Обладают аллергенным свойством, при даже маленьком количестве попадания в организм. Они токсичны для рыб и для других животных [5,8].

В данной работе изучено влияние анионоактивных поверхностно-активных веществ: лаурилсульфата натрия ($C_{12}H_{25}SO_4Na$), пентадецил сульфата натрия ($C_{15}H_{31}SO_4Na$) и лауретсульфата натрия ($C_{12+2n}H_{25+4n}NaO_{4+n}S$ $n=3$ / $C_{18}H_{37}SO_7Na$) на бислойную липидную мембрану (БЛМ).

Лаурилсульфат натрия (додецилсульфат натрия) (рис.1а) является одним из часто применяющимся детергентом для солюбилизации мембран, для изолирования и очищения мембранных белков [9]. Принадлежит к раздражающим, но не канцерогенным веществам. Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) составляет $8,2 \times 10^{-3}$ М. Пентадецил сульфат натрия (рис. 1б) относится к классу алкилсульфатов. ККМ составляет $1,03 \times 10^{-3}$ М [3]. Лауретсульфат натрия (рис. 1в) широко применяемых в качестве моющих средств. Действует менее раздражающе, чем лаурилсульфат натрия. ККМ составляет 5×10^{-4} М.

По вышесказанным причинам, и учитывая тот факт, что внутри клетки часто встречаются молекулы по своей структуре похожие на ПАВ (такие как жирные кислоты, лизоформы фосфолипидов), необходимо знать их действие на устойчивость мембран.

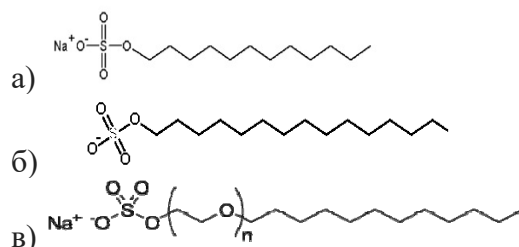


Рис. 1 Химические структуры а) лаурилсульфат натрия, б) пентадецил сульфат натрия, в) лауретсульфат натрия (n=3).

Но поскольку изучение устойчивости на живой клетке чрезвычайно сложно, то представляется целесообразным их детальное исследование на широко используемой экспериментальной системе для моделирования клеточных мембран, которым являются плоские бислойные липидные мембраны.

Материалы и методы

Для изготовления мембран использовались липиды фосфатидилсерин (1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-[Phospho-L-Serine]) и фосфатидилэтаноламин (1,2-Diphytanoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanol amine) (1:1) приобретенные из “Avanti Polar Lipids” (USA). Для формирования БЛМ применялись 3-4% свежеприготовленный раствор

липидов в н-декане. В качестве буферного раствора применялся 0.1 М NaCl, в дистиллированной воде. Мембраны формировались по методу Мюллера-Рудина в растворе электролита на отверстии с диаметром 1 мм (площадь БЛМ - $S=0,64\text{мм}^2$) в тефлоновой тонкой перегородке [7]. Все опыты проводились при комнатных температурах (20-25°C). Влияние длины алкильной цепи ПАВ на БЛМ было рассмотрено при концентрации 10^{-4}М .

Для измерения электрических параметров БЛМ - проводимость и электрическую емкость, в два отсека рабочей ячейки, разделенные мембраной, помещались два хлорсеребряных электрода, которые были подключены к АЦП (Е14-140-М) и контролировались компьютером с использованием компьютерной программы LabVIEW, в соответствии с процедурой, описанной в [6]. Диапазон подаваемой на БЛМ разности потенциалов был от 0.20 В до 0.45 В.

Результаты и обсуждение

БЛМ весьма нестабильна в присутствии небольших количеств детергентов и других примесей [10]. Устойчивость мембраны можно охарактеризовать средним временем жизни мембраны. Согласно [1,2] выражение для среднего времени жизни БЛМ во внешнем электрическом поле имеет вид:

$$\bar{t} = \frac{(k_b T)^{3/2}}{4\pi D c_0 S \gamma \left(\sigma + \frac{C \varphi^2}{2} \right)^{1/2}} \cdot \exp \left(\frac{\pi \gamma^2}{\left(\sigma + \frac{C \varphi^2}{2} \right) k_b T} \right) \quad (1)$$

где σ – натяжение БЛМ, γ – линейное натяжение кромки поры в БЛМ; D – коэффициент диффузии дефектов в пространстве радиусов; φ – разность потенциалов на мембране; k_b – постоянная Больцмана, T – температура; c_0 – концентрация пор на БЛМ и S – площадь БЛМ; C – приведенная электрическая емкость, которая определяется соотношением $C = C_0 (\varepsilon_w / \varepsilon_m - 1)$, где $C_0 = \varepsilon_0 \varepsilon_m / h$ – удельная электрическая емкость БЛМ, ε_w – диэлектрическая проницаемость воды, ε_m – диэлектрическая проницаемость БЛМ, ε_0 – электрическая постоянная.

Было исследовано влияние длины алкильной цепи поверхностно активных веществ (C_{12} - C_{18}) на время жизни мембран во внешнем электрическом поле, при заданных значениях разности потенциалов на БЛМ. К БЛМ прикладывалось постоянное напряжение (от 0,2В до 0,45В) и измерялся ток через мембрану. Момент лавинообразного увеличения тока свидетельствовал о разрушении мембраны в результате ее электрического пробоя. Строилась зависимость десятичного логарифма среднего времени жизни, от приложенного напряжения.

На рис. 2 приведены зависимости десятичного логарифма среднего времени жизни мембран от приложенного напряжения, построенные 1- пви отсутствии ПАВ, 2 – при присутствии лаурилсульфата натрия в концентрации 10^{-4} М, 3 – пви присутствии пентадецил сульфат натрия в концентрации 10^{-4} М, 4- пви присутствии лауретсульфата натрия в концентрации 10^{-4} М.

Из полученных кривых (рис.2) видно, что увеличение длины алкильной цепи ПАВ вызывало уменьшения стабильности мембран. Из параметров, влияющие на среднее время жизни БЛМ согласно (1), наиболее важными являются линейное натяжение кромки поры γ , разность потенциалов на мембране φ , натяжение σ и $D c_0 S$, т.е. произведение общего количества дефектов в мембране на коэффициент

диффузии дефекта в пространстве радиусов. Были определены значения σ , γ , Dc_0S . Анализ формулы (1) показывает, что среднее время жизни БЛМ наиболее сильно зависит от линейного натяжения кромки поры γ , поскольку эта зависимость экспоненциальная.

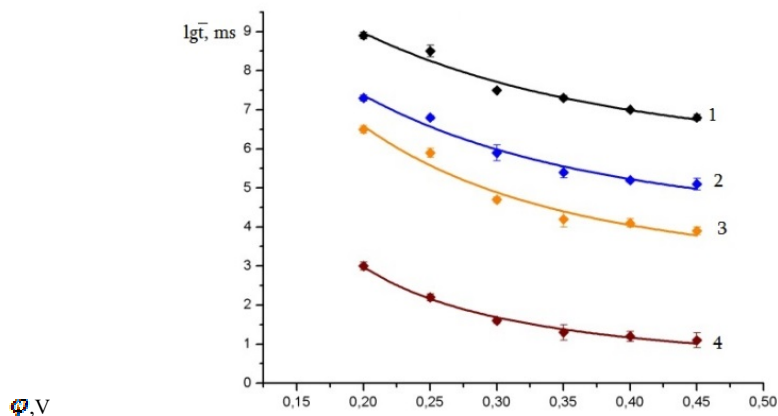


Рис.2. Уменьшение среднего времени жизни БЛМ при увеличении разности потенциалов: 1 – при отсутствии ПАВ, 2 – при присутствии лаурилсульфата натрия, 3 – при присутствии пентадецил сульфат натрия, 4– при присутствии лауретсульфата натрия. Точки – экспериментальные данные (среднее из 5 измерений при каждой разности потенциалов), сплошные линии – теоретические кривые, проведенные методом наименьших квадратов, по формуле (1).

Таблица 1. Рассчитанные значения параметров поверхностного натяжения (σ), линейного натяжения спонтанно образующихся пор (γ) и произведение общего количества дефектов в мембране на коэффициент диффузии дефекта в пространстве радиусов Dc_0S .

	σ (Н/м)	γ (Н)	Dc_0S (м ² /с)
Контроль (при отсутствии ПАВ)	4.3×10^{-3}	6.8×10^{-12}	3.1×10^{-25}
присутствии 10^{-4} М лаурилсульфата натрия (C_{12})	2.7×10^{-3}	4.8×10^{-12}	23×10^{-23}
присутствии 10^{-4} М пентадецил сульфат натрия (C_{15})	2.2×10^{-3}	3.2×10^{-12}	267×10^{-23}
присутствии 10^{-4} М лауретсульфата натрия (C_{18})	1.72×10^{-3}	1.9×10^{-12}	423×10^{-23}

Как видно из таблицы 1, уменьшение значения γ , как и следовало ожидать, коррелирует с уменьшением среднего времени жизни БЛМ. Таким образом, с увеличением длины алкильной цепи поверхностноактивного вещества уменьшается значение линейного натяжения кромки поры в БЛМ. Из таблицы 1 видно также, что натяжение σ также уменьшается с ростом длины алкильной цепи поверхностно активного вещества. Такое согласованное поведение σ и γ также ожидаемо, поскольку существует приближенное линейное соотношение между натяжением БЛМ и линейным натяжением кромки поры в БЛМ [1,2]. Из таблицы 1 видно, что с увеличением длины алкильной цепи поверхностно активного вещества, увеличивается значение параметра Dc_0S . Физически это легко объяснить. Поскольку в этих условиях наблюдается уменьшение γ , то согласно теории устойчивости БЛМ в электрическом поле [1,2], это неизбежно приведет к увеличению числа пор на БЛМ, а это в свою очередь к увеличению параметра Dc_0S .

Таким образом, в данной работе показано, что с увеличением длины алкильной цепи поверхностно активного вещества от C₁₂ до C₁₈ устойчивость БЛМ в электрическом поле уменьшается.

Литература

1. Абидор И.Г., Аракелян В.Б., Пастушенко В.Ф., Тарасевич М.П., Черномордик Л.В., Чизмаджев Ю.А. Электрический пробой бислойных липидных мембран // ДАН СССР, т. 240, № 3, с. 733-736, 1978.
2. Абидор И.Г., Аракелян В.Б., Пастушенко В.Ф., Черномордик Л.В., Чизмаджев Ю.А. Механизм электрического пробоя БЛМ // ДАН СССР, т. 245, №5, 1239-1242, 1979.
3. Коротких О. П., Кочурова Н. Н., Виноградова М. С., Абдулин Н. Г., Гермашева И. И. Изучение поверхностных свойств водных растворов пентадецилсульфата натрия. Вестник СПбГУ. сер. 4, вып. 3, с. 77-81, 2010.
4. Равдель А. А., Пономарёва А. М. Краткий справочник физико-химических величин., С. 232, 1983.
5. Chaturvedi V., Kumar A.. Toxicity of sodium dodecyl sulfate in fishes and animals. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. v. I: Issue-2, p. 630-633, 2010
6. Gu L., Wang I., Xun J., Ottova-Leitmannova A., Tien H.T. A new method for the determination of electrical properties of supported bilayer lipid membranes by cyclic voltammetry. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, v. 39, p. 275–283, 1996.
7. Mueller P., Rudin D.O., Tien H., Wescott W.C. Methods for the formation of single bimolecular lipid membranes in aqueous solution. Journal of Physical Chemistry, v. 67, № 2, p. 534–535, 1963.
8. Sanjay K., Thejasenuo J. K. and Tsipila T. Toxicological effects of sodium dodecyl sulfate. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, v.6(5), p.1488-1492, 2014.
9. Tan A., Ziegler A., Steinbauer B., Seelig J. Thermodynamics of Sodium Dodecyl Sulfate Partitioning into Lipid Membrane. Biophysical J., v. 83, p. 1547–1556, 2002.
10. Tonoyan L. A., Torosyan A. L., Arakelyan V. B. Influence of sodium dodecyl sulfate on stability of bilayer lipid membranes. Proceedings of the Yerevan state university, Physical and Mathematical Sciences, № 1, p. 58–63, 2016.

Биол. журн. Армении, 1 (69), 2017

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИСТЬЕВ ДЕРЕВЬЕВ В ЗЕЛЕННЫХ ЗОНАХ ГОРОДА ЕРЕВАН

Л.Р. ХАЧАТРЯН, Г.С. НЕРСИСЯН, М.А. НАВАСАРДЯН, Т.А. САРГСЯН,
Б.Х. МЕЖУНЦ, А.А. ОГАНЕСЯН

Центр эколого – ноосферных исследований НАН РА
lilit.khachatryan@cens.am

Изучалась сезонная динамика содержания общего азота, белков и фотосинтетических пигментов в листьях двух видов деревьев: ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior* L.) и платана восточного (*Platanus orientalis* L.), широко распространенных в зеленых насаждениях города Еревана. Обнаружено, что к концу вегетации в листьях изученных двух видов уменьшились содержания общего азота, белков и хлорофиллов, в то время как изменения концентраций каротиноидов носили незакономерный характер. Выявлено, что содержание исследуемых показателей в растениях зависит от фазы вегетации, состояния и экологической устойчивости видов к условиям места произрастания.