

*Ткаченко А.С., Посохов Е.А., Наконечная О.А., Онищенко А.И.*

**Изучение физико-химических особенностей гидрофобного региона фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов, инкубированных с высокими концентрациями пищевой добавки E407a**

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,  
Украина

Полисахариды морских водорослей успешно используются в пищевой промышленности для улучшения текстуры и внешнего вида пищевых продуктов в качестве желирующих агентов, загустителей и стабилизаторов благодаря их гидроколлоидным свойствам. В эту группу соединений входят агар, альгинаты и каррагинаны. Каррагинаны (добавки E407 и E407a) - наиболее распространенные полисахариды, полученные из красных морских водорослей, на рынке пищевых добавок. Таким образом, их безопасность и законодательное регулирование содержания каррагинанов в продуктах питания имеют огромное значение. Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) выпустило официальный запрос на сбор экспериментальных данных, позволяющих оценить токсичность пищевой добавки каррагинан (EFSAQ-number: EFSA-Q-2018-00771). Имеются данные об иммунотоксичности каррагинанов, поэтому актуальным является вопрос изучения их влияния на структурно-функциональные особенности клеточной мембраны лейкоцитов.

**Целью** исследования явилась оценка влияние полуочищенного каррагинана (пищевая добавка E407a) на гидрофобную область фосфолипидного бислоя клеточных мембран лейкоцитов, подвергшихся воздействию раствора с высокой концентрацией этой пищевой добавки.

**Материалы и методы.** Флуоресцентный зонд RH1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован для исследования влияния E407a на состояние липидного бислоя в лейкоцитах, выделенных от 8 интактных половозрелых крыс популяции WAG и ин-

кубированных с 5% раствором пищевой добавки E407a в течение 4 часов. После инкубации кровь лизировали (FACS™ Lyse solution, Becton Dickinson, США) для получения суспензии лейкоцитов. Спектры флуоресценции в суспензиях лейкоцитов измеряли после инкубации с зондом в течение 1 часа (концентрация зонда равнялась  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) на спектрофлуориметре Hitachi F850 (Токио, Япония) в диапазоне 350-630 нм с шагом 2 нм. Длина волны возбуждения равнялась 330 нм. Щели возбуждения и испускания составляли 5 нм. Зонд RH1 в липидных мембранах локализуется в области углеводородных цепей фосфолипидов липидного бислоя и центре липидного бислоя. Отношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинноволновой полосы флуоресценции зонда RH1 использовали в качестве параметра для оценки изменений протонодонорной способности микроокружения зонда. Исследование проводилось в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (EST 123), а также Директивой 2010/63 / EU по защите животных, используемых в научных целях. Для сравнения двух независимых групп показателей использовали критерий Манна-Уитни.

**Результаты.** Формы спектров флуоресценции зонда не различались в суспензиях лейкоцитов крыс, которые инкубировали с пятипроцентным раствором полуочищенного каррагинана, и лейкоцитов контрольных образцов. Установлено, что отношение интенсивностей флуоресценции зонда статистически достоверно не отличались ( $p=0.49$ ) между контрольными и опытными образцами. Подобные результаты свидетельствуют о том, что воздействие E407a не вызывает изменений протонодонорной способности среды в липидных мембранах лейкоцитов в области расположения зонда (т.е. в области жирнокислотных цепей фосфолипидов). Полученные экспериментальные данные согласуются с нашими предыдущими результатами, которые продемонстрировали влияние инкубации лейкоцитов с E407a на более полярные области мембран. Снижение полярности и протонодонорной способности микроокружения флуоресцентных зондов O1O (2-(2'-гидроксифенил)-5-фенил-1,3-оксазол) и O6O (2-(2'-гидроксифенил)-5-(4'-бифенил)-1,3-оксазол) свидетельствовали о снижении гидратации в области глицериновых остатков и карбонильных групп фосфолипидов и, таким образом, предполагали увеличение липидного порядка мембраны.

**Выводы.** Полуочищенный каррагинан не влияет на гидратацию гидрофобной области фосфолипидного бислоя мембраны лейкоцитов.