

и $93,33 \pm 79,34$ балла. Значимые отличия исследуемого показателя отмечались между группами иностранных и отечественных девушек ($p < 0,01$).

Заключение

В результате исследования установлено, что у отечественных девушек наблюдались значимо самые высокие уровни ситуативной и личностной тревожности, астенический компонент ситуативной и личностной тревожности, а также самая низкая социальная ситуативная и личностная защита, по сравнению со значениями студентов других исследуемых групп ($p < 0,05$). В то время как иностранные девушки имели, напротив, низкую ситуативную личностную тревожность, низкий астенический компонент ситуативной и личностную защиту. Юноши исследуемых групп характеризовались низкой ситуативной тревожностью, средней личностной тревожностью, средним астеническим ситуативным компонентом и низкой социальной ситуативной и личностной защиты. Однако белорусские молодые люди имели значимо высокий астенический компонент личностной тревожности по сравнению с иностранными сверстниками $p < 0,03$. Вследствие более высокого уровня личностной тревожности у белорусских студентов выше вероятность развития перехода к невротическим состояниям и психосоматическим заболеваниям. Поэтому считаем необходимым рекомендовать периодическое анкетирование студентов для определения уровней тревожности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Арефьева, М. Ю.* Особенности тревожности студентов педагогических вузов / М. Ю. Арефьева // Актуальные проблемы и перспективы развития современной психологии. Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевя. — Саранск, 2016. — № 1. — С. 135–139.
2. *Нефедова, И. В.* Реактивная тревожность в структуре психоэмоционального статуса студентов медицинского университета / И. В. Нефедова // Гуманитарные научные исследования. — 2016. — № 9. — С. 225–231.
3. *Платонов, А. Е.* Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А. Е. Платонов. — М.: Изд-во РАМН, 2000. — С. 52.
4. *Толоконникова, Е. П.* Оценка ситуативной тревожности у студентов при обучении в медицинском вузе / Е. П. Толоконникова, В. И. Попов // Медико-биологическое и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова. — СПб., 2009. — № 5. — С. 61–64.

УДК 616-002-092.9:577.114.4

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ЗАХВАТА ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ КАРРАГИНАН ЛЕЙКОЦИТАМИ

Ткаченко А. С.¹, Наконечная О. А.¹, Кот Ю. Г.², Онищенко А. И.¹

¹Харьковский национальный медицинский университет,

²Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина
г. Харьков, Украина

Введение

Каррагинаны (пищевая добавка Е407 и Е407а) являются гидроколлоидами гетерополисахаридной природы, которые промышленно выделяются из красных морских водорослей *Eucheuma* и используются в пищевой промышленности для улучшения текстуры продуктов питания, в качестве загустителей и гелеобразователей. Однако, в последнее время, все острее ставится вопрос безопасности перорального употребления каррагинанов. Многочисленные экспериментальные исследования демонстрируют способность пищевой добавки Е407 вызывать воспаление кишечника, которое сопровождается высвобождением провоспалительных цитокинов, а также апоптотической и некротической гибелью клеток [1, 2]. Точные механизмы индукции воспаления каррагинаном недостаточно изучены. Предполагается, что каррагинан опосредует активацию провоспалительного фактора транскрипции NF-κB (ядерный фактор «каппа-би») посредством активации TLR4 (toll-подобный рецептор-4)-Bcl10- и АФК (активные

формы кислорода)-зависимых путей в эпителии толстого кишечника [3]. В некоторых работах также показано, что каррагинаны поглощаются макрофагами с последующей миграцией клеток в лимфатические узлы. Однако данные о влиянии каррагинанов на другие разновидности лейкоцитов ограничены. В частности, известно, что каррагинаны напрямую взаимодействуют с NK-клетками и индуцируют высвобождение интерферона- γ [5]. В то же время, показано, что каррагинаны не стимулируют экспрессию фактора некроза опухолей- α (ФНО- α) в лейкоцитах. Наличие противоречивых данных о влиянии каррагинанов на клетки иммунной системы может быть обусловлено использованием различных форм данной пищевой добавки, вариабельностью молекулярной массы, а также уровнем сульфатированности и дозировкой каррагинана.

Учитывая текущие дебаты об иммуноотоксичности каррагинанов, экспериментальным подтвержденным сведениям о способности каррагинанов вызывать генерацию АФК в колониоцитах и стимулировать экспрессию провоспалительных цитокинов, вопрос изучения взаимодействия каррагинанов с иммунокомпетентными клетками является актуальным.

Цель

Изучение возможности проникновения пищевой добавки каррагинан в лейкоциты периферической крови крыс *in vitro*.

Материал и методы исследования

Образцы крови, полученные от трех половозрелых крыс популяции WAG (160–190 г) инкубировали либо с натрий-фосфатным буфером (pH 7,4, Becton Dickinson, США), либо с пищевой добавкой каррагинан (10 г/л; 2 ч). Затем 100 мкл каждого образца крови лизировали и дважды промывали натрий-фосфатным буфером. Лейкоциты ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере.

Каррагинан ковалентно метился изотиоцианатом родамина В [4]. В соответствии с протоколом, 10 мл ДМСО (Molecular ProbesTM, США) и 40 мкл пиридина (Merck Millipore, Германия) перемешивали с 500 мг каррагинана при 70 °C в течение 30 мин. После добавления 50 мг изотиоцианата родамина В (Merck Millipore, Германия) и 20 мкл дибутилтин дилаурата (Merck Millipore, Германия), смесь инкубировали в течение 3 часов при 70 °C. Каррагинан осаждали и отмывали 96 % этанолом (Merck Millipore, Germany). Осадок растворяли и диализировали для удаления остатков изотиоцианата родамина В.

Изолированные лейкоциты инкубировали при 37 °C в течение 2 ч с каррагинаном, меченным родамином (10 г/л). За 30 мин до конца инкубации добавляли 5 мкл 1мкМ раствора 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) (Abcam) для окрашивания ядра и 5 мкл красителя Green Tracking Reagent (CytoPainter Cell Tracking Kit — Green, Abcam) для обеспечения окрашивания цитоплазмы. После инкубации клетки были дважды отмыты раствором Live Cell Imaging (InvitrogenTM, США). 10 мкл клеточной суспензии помещали на стекло (X2XER203B#, Thermo Scientific, США) и накрывали покровным стеклом (10812 ibidi, Германия). Изображения получали с помощью сканирующего конфокального микроскопа «Olympus FV10i-LIV», оснащенного водно-иммерсионным объективом 60/1.2. Снимки обрабатывались в программе «Olympus cellSens Dimension».

Содержание животных и манипуляции над ними проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Результаты исследования и их обсуждение

Лейкоциты, меченные каррагинаном, окрашивались для конфокальной микроскопии. Анализ изображений показал, что каррагинан, меченный родамином, был обнаружен внутри клеток. Следует обратить особое внимание на тот факт, что включения каррагинана были обнаружены в нейтрофилах, моноцитах и лимфоцитах. Для более точного определения внутриклеточной локализации каррагинана, использовался краситель

DAPI, который позволяет идентифицировать ядерную ДНК и, таким образом, ядра клеток окрашивались в синий цвет. Кроме того, Green Tracking Reagent был выбран для визуализации цитоплазмы (зеленый). Такое комбинированное окрашивание позволило нам выяснить, что каррагинан накапливается в цитоплазме клеток. Флуоресценции изотиоцианата родамина В в ядре не наблюдали, что указывает на неспособность каррагинанов проникать через ядерную мембрану. Поскольку каррагинан был обнаружен в цитоплазме лимфоцитов, не обладающих фагоцитарной активностью, можно предположить, что существуют иные пути проникновения каррагинана в клетку, помимо фагоцитоза. Интересно отметить, что некоторые авторы демонстрируют невозможность проникновения каррагинана внутрь клеток, в частности в колоноциты [3]. Предполагается, что токсические эффекты каррагинана на эпителиальные клетки кишечника опосредованы взаимодействием с белком TLR4, расположенным на поверхности клетки. Передача сигнала от данного рецептора врожденного иммунитета сопровождается активацией экспрессии провоспалительных факторов, что вносит вклад в развитие каррагинан-индуцированного воспаления. Наше исследование показывает, что каррагинан может попадать в лейкоциты и, таким образом, индуцировать провоспалительный ответ через внутриклеточные механизмы, в частности, стимулировать генерацию АФК. В наших предыдущих исследованиях продемонстрирована активация продукции АФК лейкоцитами крови на фоне двухнедельного перорального употребления каррагинана лабораторными животными.

Заключение

Пищевая добавка каррагинан способна проникать в нейтрофилы, моноциты и лимфоциты периферического крови экспериментальных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. A study of enterocyte membranes during activation of apoptotic processes in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis / A. Tkachenko [et al.] // *Med Glas (Zenica)*. — 2018. — Vol. 15, (2). — P. 87–92. — DOI: 10.17392/946-18.
2. Damage and regeneration of small intestinal enterocytes under the influence of carrageenan induces chronic enteritis / G. I. Gubina-Vakyulyk [et al.] // *Comparative Clinical Pathology*. — 2015. — Vol. 24, (6). — P. 1473–1477. — DOI: 10.1007/s00580-015-2102-3.
3. Carrageenan-induced colonic inflammation is reduced in Bcl10 null mice and increased in IL-10-deficient mice / S. Bhattacharyya [et al.] // *Mediators of Inflammation*. — 2013. — Vol. 2013. — P. 13. — DOI: 10.1155/2013/397642.397642.
4. Bui, T.N.T.V. Structure, rheological properties and connectivity of gels formed by carrageenan extracted from different red algae species / T.N.T.V. Bui // *Organic chemistry*. — Université du Maine. — 2019. — P. 35.
5. Liver injury due to sequential activation of natural killer cells and natural killer T cells by carrageenan / T. Abe [et al.] // *J Hepatol*. — 2002. — Vol. 36 (5). — P. 614–623.

УДК 612.2-057.875(476.2)

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ СТУДЕНТОВ УЧРЕЖДЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ «ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фащенко Я. И.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Курение до сих пор остается одной из важных медико-социальных проблем, которая представляет серьезную угрозу для здоровья человека [1]. Средний возраст курящих людей постепенно снижается, при этом в большей степени риску приобретения вредных привычек подвержена молодежь в возрасте от 17 до 20 лет. Этот возраст по времени совпадает с окончанием школы и началом обучения в вузе.