

УДК 577.115+582.273+612.111.4

МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЛИПИДНОГО ЭКСТРАКТА МОРСКОЙ КРАСНОЙ ВОДОРОСЛИ *Ahnfeltia tobouchiensis* (KANNO ET MATSUBARA) МАКИЕНКО ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© 2025 г. С. Е. Фоменко[@], Н. Ф. Кушнерова, В. Г. Спрыгин

ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,

ул. Балтийская, 43, Владивосток, 690041 Россия

[@]E-mail: sfomenko@poi.dvo.ru

Поступила в редакцию 11.07.2024 г.

После доработки 29.09.2024 г.

Принята к публикации 29.09.2024 г.

Четыреххлористый углерод (CCl₄) нарушает стабильную работу биологических мембран, вызывая нарушения в липидном бислое, а также изменения свойств мембранных липидов. Исследовали защитный эффект липидного комплекса, выделенного из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobouchiensis* и препарата сравнения “Эссенциале”, на плазматические мембраны эритроцитов мышей, полученные при моделировании токсического гепатита, индуцированного CCl₄. Липидный экстракт из *A. tobouchiensis* не уступал по эффективности фосфолипидному препарату эссенциале в восстановлении показателей как мембранных липидов, так и липидов плазмы крови, а также в нормализации параметров антиоксидантной защиты организма. Мембранопротекторный эффект водорослевого экстракта обусловлен его многокомпонентным составом, включающим глико- и фосфолипиды с преобладанием полиненасыщенных жирных кислот семейств n-3 и n-6.

Ключевые слова: липидный экстракт, *Ahnfeltia tobouchiensis*, “Эссенциале”, CCl₄, эритроциты, антиоксидантная защита, мыши

DOI: 10.31857/S1026347025050048

Морские водоросли используются во многих странах как источник пищи, а также в традиционной медицине, особенно в Юго-Восточной Азии (Корея, Япония, Китай). В их состав входят разнообразные биологически активные компоненты: пищевые волокна, углеводы, белки, липиды, полифенолы, жирные кислоты, полисахариды, витамины, минералы, оказывающие благоприятное влияние на здоровье (Menon *et al.*, 2015). В последнее время интерес к морским водорослям сосредоточился на выделении и исследовании их биологически активных соединений, которые стали повсеместно применять как в пищевой, так и фармацевтической, косметической, сельскохозяйственной отраслях (Suleria *et al.*, 2016).

В морях российского Дальневосточного региона около 30 видов водорослей используются для активного промысла. К таковым относится морская красная водоросль Анфельтия тобучинская — *Ahnfeltia tobouchiensis* (Kanno et Matsubara) Makienko (сем. Ahnfeltiaceae), добываемая в промышленных масштабах для получения агара и агарозы, а также

для приготовления питательных сред в микробиологических исследованиях (Суховерхов и др., 2000). *A. tobouchiensis* является ценным промысловым видом, широко распространенным в заливе Петра Великого (Японское море), на побережье о-ва Сахалин (Охотское море), Курильских островах. Химический состав красных водорослей в основном хорошо изучен. Для них характерно высокое содержание белка, полисахаридов, липидов, йода, железа, фолиевой кислоты, макро- и микроэлементов, аминокислот и др. (Титлянов, Титлянова, 2012). Большое внимание в последнее время уделяется полисахаридам красных водорослей из-за их высокой антиоксидантной активности (Соколова и др. 2010), в их числе каррагинаны, которые обладают иммуномодулирующим и противовоспалительным действием (Беседнова и др., 2014). В настоящее время каррагинаны стали широко использоваться в пищевой промышленности в качестве натуральных пищевых добавок. В то же время в составе красных водорослей немаловажное значение отводится соединениям липидной природы, относящимся к вторичным

метаболизму, в их числе полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), гликолипиды, фосфолипиды, стерины, обладающие также различной биологической активностью.

Характерной особенностью красных водорослей, в отличие от зеленых и бурых, является высокое содержание фосфатидилхолина наряду с относительно низкой концентрацией фосфатидилэтаноламина (Хотимченко, 2003). Данные фосфолипиды относятся к структурообразующим компонентам и присутствуют в составе всех биологических мембран живых организмов. Также красные водоросли, в их числе *A. tobuchiensis*, согласно проведенному сравнительному анализу их жирно-кислотного состава (Khotimchenko, Gusarova, 2004), характеризуются высоким содержанием C_{20} ПНЖК семейств n-3 и n-6 (эйкозопентаеновая, арахидоновая).

Предыдущие наши экспериментальные исследования (Sprygin *et al.*, 2021) выявили, что липидный комплекс *A. tobuchiensis* улучшает биохимические показатели печени мышей при токсическом гепатите, индуцированном четыреххлористым углеродом. В условиях высокожировой диеты липидный комплекс *A. tobuchiensis* оказывает липидкорректирующее и антиоксидантное действие, препятствует развитию жирового гепатоза (Sprygin *et al.*, 2024). На модели экспериментального стресса действие липидного экстракта *A. tobuchiensis* способствовало восстановлению показателей липидного обмена, характеризующихся уменьшением уровня общих липидов, снижением количества холестерина ЛПНП и его повышением ЛПВП плазмы крови крыс (Kushnerova *et al.*, 2020).

Известно, что патологические процессы при болезнях печени (жировой гепатоз, токсический гепатит, цирроз и др.), вызванные различными факторами, оказывают влияние не только на сам орган, но и на его окружение, приводя к изменению состава клеточных мембран, в том числе эритроцитарных (Ohnishi, 1993; Nava-Ocampo *et al.*, 1997).

При заболеваниях различной природы эритроциты, являясь особо чувствительными клетками, остро реагируют на патологическое воздействие изменением структурного и функционального состояния мембраны (Massaccesi *et al.*, 2020). Молекулярная структура мембран эритроцитов позволяет рассматривать их как универсальную модель для изучения метаболических процессов в клетках организма в целом. Основными составляющими всех клеточных мембран, как известно, являются липидные и белковые компоненты. Соотношение липидной составляющей в мембране эритроцитов влияет на состояние и функциональные возможности красных клеток крови. Особое значение придается таким показателям, как содержание холестерина в мембране, фосфолипидный состав, ненасыщенность жирных кислот, которые влияют на микровязкость мембран и ее текучесть.

В ряде исследований (Muriel, Mourelle, 1990; Nava-Ocampo *et al.*, 1997) было установлено, что гепатопротекторное действие препаратов может быть связано с их прямым воздействием на клеточные мембраны, в частности эритроцитов. Это позволило нам сделать предположение об эффективности применения липидной фракции анфельции для защиты мембран эритроцитов при различных патологических процессах в печени.

Целью работы явилось исследование действия липидного экстракта морской красной водоросли *A. tobuchiensis* на показатели липидной составляющей мембран эритроцитов и плазмы крови мышей при токсическом воздействии четыреххлористым углеродом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы водоросли *A. tobuchiensis* собирали вручную в летние месяцы 2023 г. в прибрежной полосе залива Петра Великого Японского моря (б. Дараган, о-в Попова). Слоевища были тщательно промыты от всевозможных загрязнений, донного бентоса и эпифитов. Затем талломы погружали на несколько минут в горячую воду $\sim 90^{\circ}\text{C}$, чтобы подавить активность ферментов. Для удаления остатков влаги сырье промокали, раскладывали на фильтровальной бумаге и высушивали в тени. Высушенные образцы водорослей измельчали в лабораторном гомогенизаторе в порошок (до размеров частиц $\sim 1\text{--}2\text{ мм}$), помещали в специальные контейнеры в рефрижератор при $t = -20^{\circ}\text{C}$ на хранение для проведения всех последующих биохимических анализов.

Извлечения липидов проводили согласно методу, предложенному Блайя и Даером (Bligh, Dyer, 1959). Для этого к 1 кг измельченной фракции водорослей добавляли 1.5 л смеси хлороформ: метанол (1:2 по объему) и выдерживали 8 часов. Затем к смеси приливали 500 мл хлороформа и дистиллированной воды, смесь аккуратно перемешивали. Для расслаивания пробы помещают в холодильник не менее чем на 2 часа. Затем отделяли нижний хлороформный слой, содержащий липидную фракцию, и упаривали на вакуумном испарителе (Type 349/2, Unipan, Польша) при температуре $\sim 37^{\circ}\text{C}$. Из полученного экстракта отбирали аликвоту, высушивали до постоянного веса и определяли содержание общих липидов и экстрактивных веществ в 5-ти повторях. Проверка на токсичность полученного липидного экстракта анфельции показала, что он соответствует 4 классу токсичности ($\text{LD}_{50} > 2000\text{ мг/кг}$) – малоопасные.

Все последующие биохимические исследования по определению содержания общих липидов и фосфолипидов, их фракционного разделения

и исследование жирно-кислотного состава водорослевого экстракта проводились в соответствии с методами, подробно описанными нами ранее (Fomenko *et al.*, 2019).

В данном исследовании мы использовали экспериментальную модель интоксикации четыреххлористым углеродом (CCl_4) и оценивали его воздействие на мембраны эритроцитов мышей с последующей коррекцией липидным экстрактом, выделенным из *A. tobuchiensis*.

Экспериментальное исследование проводили на здоровых беспородных белых мышах-самцах массой тела 25–30 г в возрасте 8 недель. Адаптационный период длился в течение 10 суток, все это время животные содержались в стандартных пластиковых клетках (по 5 особей) в хорошо проветриваемом помещении вивария при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях 12-часового цикла темноты/света. Все подопытные животные имели свободный доступ к питьевой воде и корму, предоставляемым в соответствии с базовым рационом для лабораторных мышей. После адаптации животных случайным образом распределяли на интактных (контроль) – 10 особей, и животных, у которых моделировали токсический гепатит – 40 особей.

Экспериментальная модель формирования токсического гепатита и введения препаратов выполнялась на основе руководства, разработанного специально для проведения доклинических испытаний на животных (Руководство, 2012).

В течение 4-х дней подопытным мышам ежедневно вводили подкожно в дорсальную складку 50%-ный раствор CCl_4 , растворенный в оливковом масле в дозе 4 мл/кг массы тела. На следующий день после последнего введения CCl_4 , животные получали липидный экстракт *A. tobuchiensis* через зонд (*per os*) в течение 1 недели в количестве 80 мг/кг массы тела. Данная доза предложена А.И. Венгеровским (Венгеровский и др., 2005) для гепатопротекторных препаратов липидной природы и соответствует терапевтической дозе. Для разведения липидного комплекса *A. tobuchiensis* использовали вазелиновое масло, которое отличается низкой химической активностью и не оказывает воздействие на биохимические показатели. Контрольной группе животных вводили равнозначное количество вазелинового масла.

Стандартизацию липидного экстракта *A. tobuchiensis* проводили по количественному содержанию общих липидов в экстракте. Для сравнения был выбран лекарственный препарат “Эссенциале®” (Sanofi), относящийся к фармакологической группе – гепатопротекторы. Состав эссенциале представлен комплексом эссенциальных фосфолипидов, выделенных из бобов наземного культивируемого растения *Glycine max* (L.) Merr. Перед введением животным препарат эссенциале также разводили в вазелиновом масле и вводили

аналогичным образом, что и липидный экстракт анфельции.

Животных разделили на 5 групп по 10 мышей в каждой: 1 группа – контроль; 2 группа – введение CCl_4 ; 3 группа – отмена CCl_4 ; 4 группа – отмена CCl_4 + эссенциале; 5 группа – отмена CCl_4 + экстракт анфельции.

Спустя 11 дней от начала исследования животных выдерживали сутки без пищи и выводили из эксперимента под легким эфирным наркозом с соблюдением принципов и международных рекомендаций, изложенных в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (European Convention, 1986). Взятие крови производили с использованием техники кровотоечения из шейной зоны в вакуэты с гепарином (5000 МЕ/мл) в качестве антикоагулянта. Выделение эритроцитов из цельной крови проводили традиционным способом. После отделения плазмы фракцию эритроцитов трижды отмывали охлажденным до $+4$ – 6°C 0,9%-ным раствором NaCl с последующим центрифугированием при 3000 об/мин, каждый раз удаляя надосадочную жидкость. Получение мембранной массы из эритроцитов осуществляли добавлением дистиллированной воды для их полного гемолиза. Гемолизированные клетки затем центрифугировали при 7000 об/мин в течение 30 мин, до оседания эритроцитарных мембран на дно пробирок.

Для выделения липидов из мембранной массы воспользовались методом Блайя и Дайера (Bligh, Dyer, 1959). Полученные липидные экстракты использовали для исследования фракционного состава нейтральных липидов и фосфолипидов. Разделение нейтральных липидов осуществляли методом одномерной микротонкослойной хроматографии (ТСХ) на стеклянных пластинках (6х6 см) с закрепленным слоем силикагеля и тонко измельченным порошком гипса. Количественное определение отдельных фракций нейтральных липидов проводили по методу Амента (Amenta, 1964) и выражали в процентах от их суммарного содержания.

Хроматографическое распределение фосфолипидов осуществляли с помощью метода двумерной ТСХ в системе растворителей, предложенных Г. Роузером (Rouser *et al.*, 1967). Для определения количественного состава отдельных фракций фосфолипидов использовали молибдатный реагент (Vascovsky *et al.*, 1975) с последующим измерением оптической плотности на спектрофотометре при 815 нм. Результаты выражали в процентах от общей суммы фосфолипидов.

В плазме крови определяли содержание общих липидов (ОЛ), общих фосфолипидов (ОФЛ) и холестерина (ХС) с использованием наборов биохимических реагентов фирмы “ВЛ–Медиа” (Россия).

Потенциал антиоксидантной защиты оценивали по величине антирадикальной активности (АРА),

активности супероксиддисмутазы (СОД), уровню малонового диальдегида (МДА) в плазме крови.

Для количественного определения антирадикальной активности использовали метод, предложенный Г. Бартозом. (Bartosz *et al.*, 1998) и выражали в мкМ тролокса на мл плазмы. Тролокс (водорастворимый аналог витамина Е) применили в качестве стандартного препарата сравнения.

Активность СОД определяли в соответствии с методом Ф. Паолетти и соавт. (Paoletti *et al.*, 1986) и выражали в условных единицах.

Определение количества МДА осуществляли с помощью метода (Buege, Aust, 1978), основанного на свойстве тиобарбитуровой кислоты вступать в реакцию с низкомолекулярными альдегидами и выражали в мкмоль/мл плазмы. Все биохимические исследования проводились в трех параллелях на спектрофотометре “Shimadzu UV-2550” (Shimadzu, Япония).

Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 23 от 10 октября 2023 г.).

Полученные количественные данные выражали как среднее значение \pm стандартная ошибка. Обработку данных проводили с помощью

статистического пакета Instat 3.0 (GraphPad Software Inc. США). Статистическую значимость различий средних величин определяли по параметрическому t-тесту множественных сравнений Бонферрони или непараметрическому критерию сравнения, применив тест Краскела–Уоллиса с последующим тестом Данна (Dunn's Multiple Comparisons Test) при сравнении нескольких групп. Различия считали статистически достоверными при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты предыдущих наших исследований (Fomenko *et al.*, 2019) по липидному составу водорослевого экстракта *A. tobuchiensis* выявили, что общее количество липидов составило свыше 15 мг/г сухой ткани. Содержание нейтральных липидов превалировало по отношению к остальным фракциям и составило свыше 44% от общего количества липидов. Из числа полярных фракций 26% приходилось на фосфолипиды и 30% на гликолипиды (рис. 1а).

В результате проведенного хроматографического распределения по фракциям липидного

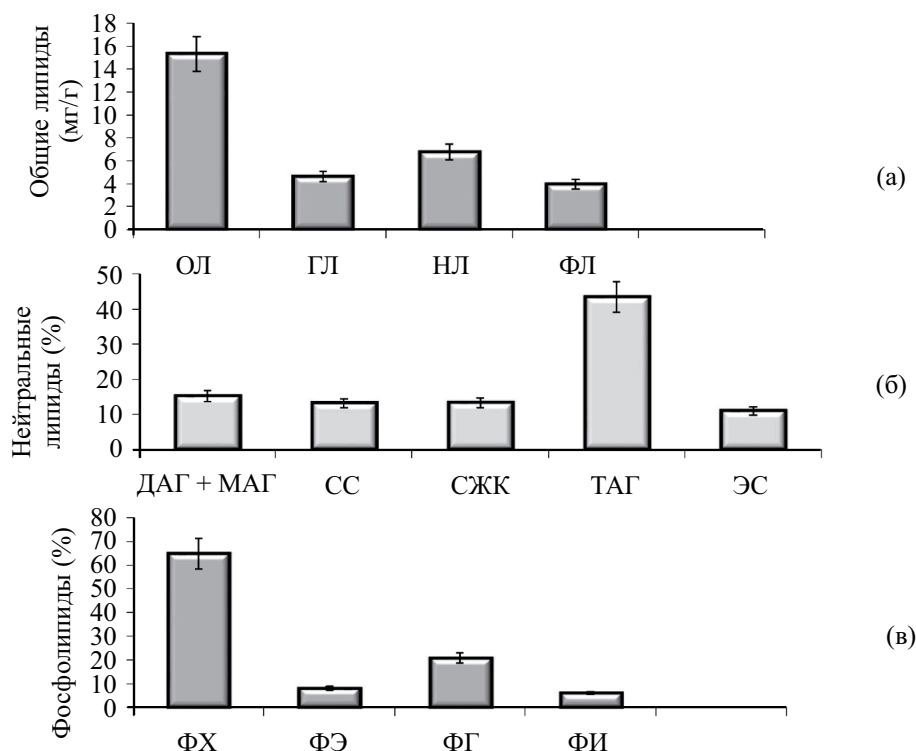


Рис. 1. Содержание общих липидов (а), фракций нейтральных липидов (б) и фосфолипидов (в) в липидном экстракте красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis*. ОЛ – общие липиды, ГЛ – гликолипиды, ФЛ – фосфолипиды, НЛ – нейтральные липиды, ДАГ + МАГ – диацилглицерины + моноацилглицерины, СС – свободные стерины, СЖК – свободные жирные кислоты, ТАГ – триацилглицерины, ЭС – эфиры стерinov, ФХ – фосфатидилхолин, ФГ – фосфатидилглицерин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин.

экстракта *A. tobuchiensis* было выявлено, что из неполярных липидов 40% составляли триацилглицериды, остальные фракции отличались значительно меньшим содержанием, в среднем 11–15% от общей суммы нейтральных липидов (НЛ), в их числе моноацилглицерины+диацилглицерины, общие стеринны, эфиры стериннов, свободные жирные кислоты (рис. 1б).

В составе полярной фракции (рис. 1в) водорослевого экстракта выделены фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилинозит (ФИ), что подтверждается литературными данными (Хотимченко, 2003). При этом количество ФХ преобладало и составляло свыше 64% от общей суммы фосфолипидов, что является характерной особенностью для *A. tobuchiensis*. Среди остальных фосфолипидных фракций на долю ФГ приходилось около 21%, количество ФЭ и ФИ составляло в среднем 6–8% от общей суммы фосфолипидов. Важно отметить, что данные фосфолипиды входят в состав всех биологических мембран и отвечают за ее структурные и функциональные свойства.

Состав жирных кислот (ЖК) липидного экстракта *A. tobuchiensis* был представлен в предыдущих исследованиях (Fomenko *et al.*, 2019; Sprygin *et al.*, 2021). Соотношение жирных кислот в липидном экстракте водоросли характеризовалось высоким содержанием ПНЖК, содержание которых составило около 50% от общей суммы ЖК. Соответственно количество насыщенных жирных кислот (НЖК) и мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) было в пределах 25–26%. В количественном отношении среди идентифицированных ЖК выделялись пальмитиновая (16:0; 19.5%),

олеиновая (18:1 n-9; 19.7%), арахидоновая (20:4 n-6; 26.2%) и эйкозапентаеновая (20:5 n-3; 20.2%).

Как указывалось выше, высокое содержание арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот специфично для красных водорослей. Известно, что длинноцепочечные ПНЖК, относящиеся к семейству n-3 и n-6, полезны для здоровья, благодаря их высокой эффективности при профилактике и терапии различных заболеваний, включая атеросклероз, артрит, онкологию и др. (Ruxton *et al.*, 2005; Jump *et al.*, 2015). Соотношение этих жирных кислот в рационе имеет большое метаболическое значение.

В условиях токсического гепатита, вызванного введением CCl_4 в течение 4 дней, отмечались разбалансировка липидного состава эритроцитарных мембран и значительные изменения биохимических параметров в плазме крови. В фосфолипидном спектре мембран эритроцитов выявлено достоверное снижение содержания основных фосфолипидов: ФХ на 11% и ФЭ на 16% по сравнению с контролем (таблица 1). Данные фосфолипиды имеют ключевое значение для структурно-функциональной целостности мембран. Изменения в содержании мембранных фосфолипидов под действием CCl_4 приводят к снижению активности ферментов, связанных с мембранами эритроцитов, в частности Na^+/K^+ - и $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -АТФаз (Akyuz *et al.*, 2009). Повреждающее действие CCl_4 на мембраны эритроцитов обусловлено, прежде всего, активацией фосфолипаз, которые инициируют окисление мембранных фосфолипидов, приводя к их дегградации. В результате увеличивается количество лизоформ фосфолипидов, образующихся из соответствующих фосфолипидных фракций, что подтверждается достоверным повышением содержания

Таблица 1. Влияние интоксикации CCl_4 и периода отмены на содержание фракций фосфолипидов и холестерина в мембранах эритроцитов мышей и их коррекция липидным экстрактом из анфельции и эссенциале ($\text{M} \pm \text{m}$)

Липиды	1 группа Контроль	2 группа CCl_4	3 группа Отмена CCl_4	4 группа Отмена CCl_4 +эссенциале	5 группа Отмена CCl_4 +анфельция
Фосфатидилхолин	36.62 ± 0.74	32.63 ± 0.70^3	32.79 ± 0.42^3	34.25 ± 0.52^1	35.95 ± 0.61^a
Фосфатидилэтаноламин	19.29 ± 0.32	16.28 ± 0.43^3	17.10 ± 0.50^2	19.02 ± 0.49^6	19.15 ± 0.46^6
Лизофосфатидилхолин	3.19 ± 0.22	5.75 ± 0.32^3	5.12 ± 0.29^3	$4.19 \pm 0.22^{2,a}$	3.70 ± 0.12^b
Лизофосфатидилэтаноламин	4.12 ± 0.13	4.93 ± 0.21^2	4.74 ± 0.22^1	4.31 ± 0.12	4.41 ± 0.07
Сфингомиелин	18.59 ± 0.49	22.98 ± 0.51^3	22.66 ± 0.41^3	$19.97 \pm 0.46^{1,6}$	$18.50 \pm 0.85^{b,\Gamma}$
Фосфатидилсерин	7.48 ± 0.18	7.76 ± 0.41	7.57 ± 0.28	7.82 ± 0.17	7.70 ± 0.33
Фосфатидилинозит	6.86 ± 0.16	7.46 ± 0.29	7.61 ± 0.17	6.52 ± 0.18^6	6.33 ± 0.16^b
Фосфатидная кислота	3.85 ± 0.15	2.21 ± 0.09^3	2.41 ± 0.12^1	3.92 ± 0.06^b	$4.26 \pm 0.08^{1,b,\Gamma}$
Холестерин	13.81 ± 0.29	19.01 ± 0.29^3	18.32 ± 0.34^3	$15.69 \pm 0.18^{2,b}$	$14.10 \pm 0.17^{b,\Gamma}$

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению: с контролем: ¹ – $p < 0.05$; ² – $p < 0.01$; ³ – $p < 0.001$; с 3-й группой (отмена CCl_4): ^a – $p < 0.05$, ⁶ – $p < 0.01$, ^b – $p < 0.001$; с 4-й группой (Эссенциале): ^Г – $p < 0.05$, ^a – $p < 0.01$, ^e – $p < 0.001$.

лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в 1.8 раза и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на 20% под действием эндогенной фосфолипазы A_2 . При этом известно, что активность фосфолипазы A_2 возрастает в крови в результате повышенной генерации свободных радикалов, образующихся из CCl_4 вследствие его окисления в системе цитохрома P450 (Cumming *et al.*, 2000). Согласно исследованиям Г.А. Грибанова (Грибанов, 1991), накопление лизофосфолипидов приводит к увеличению проницаемости мембран для органических молекул и ионов, вызывающих нарушение упорядоченной структуры липидного бислоя и белков в мембране эритроцитов.

Биоактивация CCl_4 с участием микросомальной цитохром P450-зависимой монооксигеназной системы печени приводит к образованию трихлорметильных радикалов и активных форм кислорода, инициирующих активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Manibusan *et al.*, 2007). Исследованиями авторов (Ahmad *et al.*, 1987) было показано, что CCl_4 вызывает образование свободных радикалов как в органах (печень, сердце, почки, легкие), так и в эритроцитах. Свободные радикалы обладают высокой реакционной способностью и могут локально связываться с макромолекулами, окисляя полиненасыщенные жирные кислоты

из мембранных фосфолипидов. А так как мембраны эритроцитов содержат свыше 40% ненасыщенных жирных кислот с двумя и тремя двойными связями, они особенно уязвимы к активации процессов ПОЛ, которое вызывает разрушение мембран и приводит к потере их целостности и выходу в кровь ферментов (Akyuz *et al.*, 2009). Подтверждением активации свободно-радикальных процессов и перекисного окисления жирных кислот фосфолипидов под действием CCl_4 является увеличение концентрации высокотоксичного малонового диальдегида (МДА) на 68% ($p < 0.001$), снижение величины АРА на 20% ($p < 0.001$) и активности СОД почти в 2 раза в плазме крови по сравнению с контролем (рис. 2). Полученные данные свидетельствуют об истощении системы антиоксидантной защиты в условиях интоксикации CCl_4 , что сопровождается не только увеличением продукции ПОЛ, но также изменением качественного и количественного соотношения фосфолипидов. В фосфолипидах мембран эритроцитов происходит окисление жирно-кислотных цепей с образованием множества окисленных фосфолипидов и, соответственно, уменьшается количество фосфолипидных фракций (Allen *et al.*, 2013). В результате снижается содержание не только основных фосфолипидов (ФХ, ФЭ), но и минорных

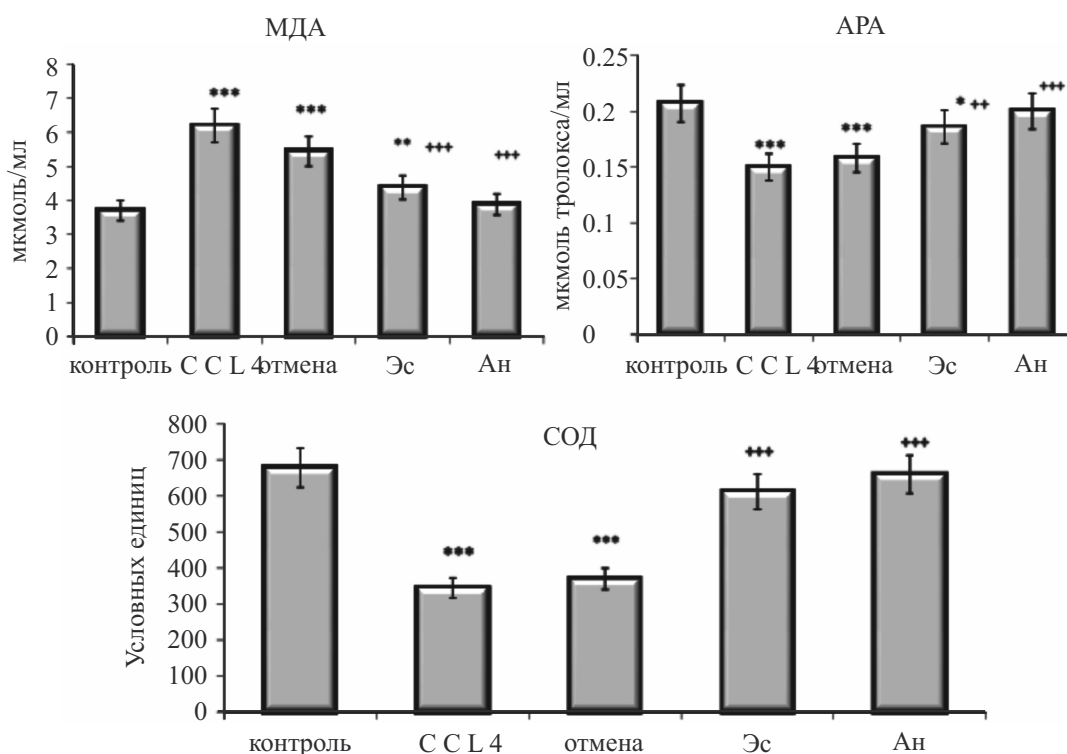


Рис. 2. Влияние липидного экстракта анфельции и эссенциале на показатели антиоксидантной системы плазмы крови мышей при интоксикации CCl_4 . МДА – малоновый диальдегид, АРА – антирадикальная активность, СОД – супероксиддисмутаза, Эс – эссенциале, Ан – анфельция. Обозначения статистически достоверны: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – при сравнении с контролем. + – $p < 0.05$; ++ – $p < 0.01$; +++ – $p < 0.001$ – при сравнении со 3-й группой (отмена CCl_4) для рис. 2, 3.

фракций (таблица 1). Так было отмечено достоверное снижение уровня фосфатидной кислоты (ФК) в 1.7 раза, которая является предшественником в образовании большинства фосфолипидов, также ФК выполняет важную роль в передаче клеточных сигналов и прямой активации липидозависимых ионных каналов.

Немаловажное значение в изменении структурных и функциональных свойств мембран эритроцитов отводится содержанию сфингомилина (СМ) и холестерина (ХС), увеличение которых способствует повышению микровязкости липидной фазы мембран (Мухомедзянова и др., 2017). Отмеченное достоверное повышение уровня СМ на 24% ($p < 0.001$) и ХС на 38% ($p < 0.001$) при токсическом воздействии CCl_4 , могут свидетельствовать о повышении ригидности мембраны эритроцитов и снижении их подвижности (Shevchenko, Shishkina, 2011).

Под действием CCl_4 отмечались также существенные изменения в липидном профиле плазмы крови мышей (рис. 3). Выявлено увеличение содержания ХС в 1.5 раза ($p < 0.001$), общих липидов (ОЛ) почти на 70% ($p < 0.001$) наряду со снижением количества общих фосфолипидов (ОФЛ) на 22% ($p < 0.001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения в липидном спектре плазмы

крови влекут за собой изменения липидного состава в мембранах эритроцитов, что отмечалось также в исследованиях ряда авторов (Nava-Ocampo *et al.*, 1997). Так как зрелые эритроциты не способны синтезировать холестерин и свободные жирные кислоты *de novo*, вероятно, повышение холестерина происходит вследствие его встраивания в мембраны из липопротеинов плазмы. В свою очередь, повышение содержания ХС в плазме крови под действием CCl_4 происходит в результате усиления его биосинтеза из ацетил-СоА, образующегося посредством β -окисления жирных кислот в митохондриях (Boll *et al.*, 2001).

Таким образом, повреждающее действие CCl_4 в течение 4-х дней характеризовалось изменением количественного соотношения мембранных фосфолипидов, накоплением их окисленных форм и жирно-кислотных цепей, что может привести к нарушению структурной организации мембран эритроцитов, и как следствие повышается количество дегенеративно-измененных форм эритроцитов, что осложняет их прохождение по капиллярному руслу.

В период отмены CCl_4 (через 7 дней) при анализе исследованных параметров в эритроцитах и плазме крови мышей было выявлено, что

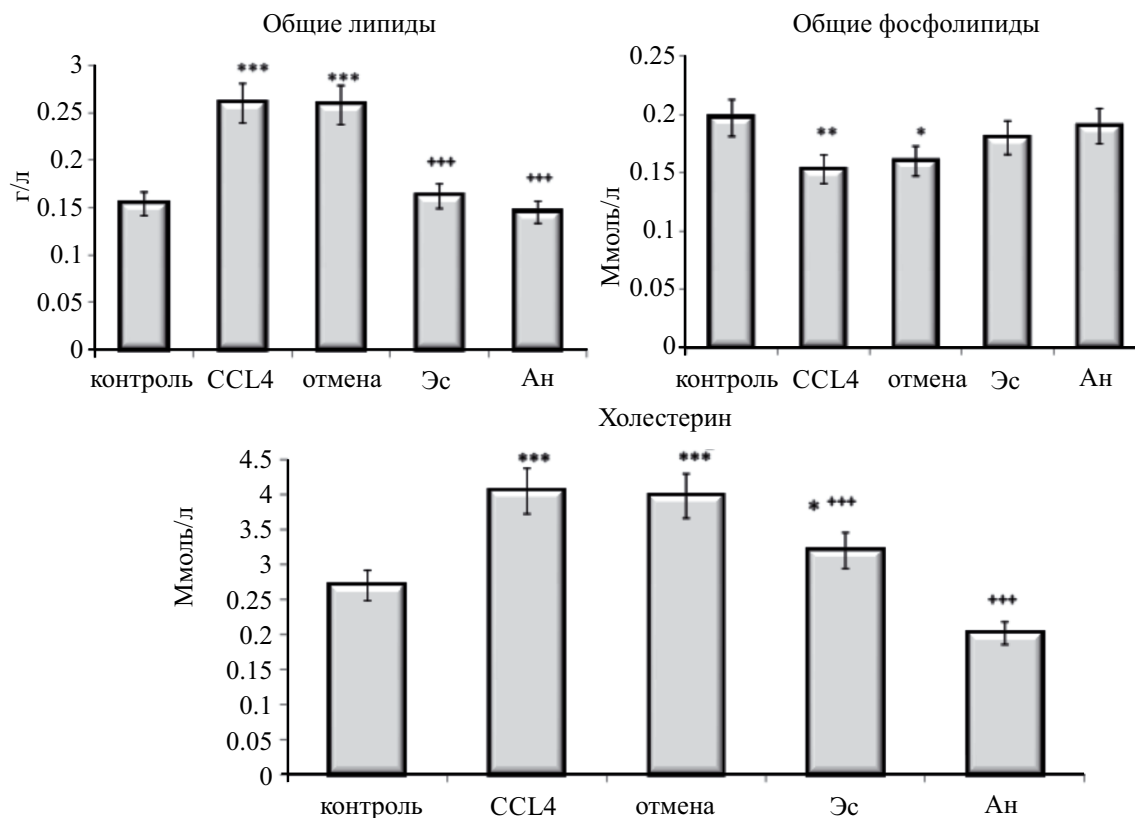


Рис. 3. Влияние липидного экстракта анфелиции и эссенциале на показатели липидного состава плазмы крови мышей при интоксикации CCl_4 .

последствия от действия токсиканта все еще сохранялись, так как большинство биохимических показателей не восстановилось. Согласно данным литературы (Sanzgiri *et al.*, 1997), период полувыведения CCl_4 составляет более суток, при этом основным местом его локализации является жировая ткань. Постепенный выход CCl_4 из жировой ткани приводит к дальнейшему развитию патологических процессов в организме, даже после отмены токсиканта.

Исследование липидного состава мембран эритроцитов в период отмены CCl_4 показало (таблица 1), что содержание ФХ и ФЭ оставалось ниже контроля в среднем на 10–11% ($p < 0.001$), а количество их лизофракций достоверно превышало контрольные показатели: ЛФХ на 60%, а ЛФЭ – на 15%. При этом уровень ФК оставался все еще пониженным на 37% ($p < 0.001$). Важно отметить, что количество СМ и ХС оставалось практически на уровне показателей 2-й группы (введение CCl_4) и превышало контрольные значения на 22% ($p < 0.001$) и 33% ($p < 0.001$) соответственно, что говорит о сохранении повышенной жесткости мембраны эритроцитов и снижении их микроциркуляции в период отмены CCl_4 .

Исследование липидного профиля плазмы крови в период отмены токсиканта выявило, что содержание ХС оставалось повышенным (на 47%; $p < 0.001$) при относительно пониженном уровне ОФЛ (на 19%; $p < 0.001$). При этом достоверно высоким оставалось количество ОЛ на уровне показателей мышей 2-й группы (введение CCl_4).

В период отмены CCl_4 (3-я группа) параметры антиоксидантной системы крови практически не отличались от показателей во 2-й группе мышей, подвергнутых интоксикации. При сравнении же с контрольной группой они характеризовались снижением активности СОД (на 45%, $p < 0.001$) и величины АРА (на 24%, $p < 0.001$) (рис. 2). Уровень МДА в 2.4 раза превышал начальные значения, что свидетельствует о продолжающемся процессе избыточного образования продуктов ПОЛ даже при отсутствии экзогенного поступления CCl_4 .

Таким образом, в период отмены CCl_4 (спустя 7 дней) в соответствии с полученными данными, не было выявлено сколько-нибудь заметного восстановления исследуемых показателей как в мембране эритроцитов, так и в плазме крови. Это может свидетельствовать о сохранении высокой активности процессов свободно-радикального окисления, повышенной фосфолипазной активности и снижении антиоксидантной защиты, что и обуславливает дестабилизацию мембранных структур эритроцитов.

Введение мышам в период отмены токсиканта липидных комплексов эссенциале и *A. tobuchiensis* (4-я и 5-я группы) характеризовалось относительным восстановлением ряда биохимических параметров, как в мембранах эритроцитов, так и плазме крови.

Так, при введении эссенциале (4-я группа) уровень ФК и ФЭ в мембранах эритроцитов по отношению к показателям 3-й группы (отмена CCl_4) был выше соответственно на 63% ($p < 0.001$) и 11% ($p < 0.01$) при одновременном снижении количества ЛФЭ на 9% ($p < 0.05$). Однако при сравнении с контролем показателей липидной составляющей мембран эритроцитов мышей, получавших эссенциале, отмечалось снижение количества ФХ на 7% ($p < 0.05$) при повышении уровня его лизоформ на 31% ($p < 0.01$), что говорит о сохранении все еще высокой фосфолипазной активности. Также достоверно высоким оставался уровень СМ и ХС на 7% ($p < 0.05$) и 14% ($p < 0.01$) соответственно.

В плазме крови животных под действием эссенциале (период отмены CCl_4) в показателях липидного спектра также отмечались подобные изменения: количество ХС превышало начальные значения на 18% ($p < 0.05$), а содержание ОФЛ было ниже на 9% ($p < 0.05$).

В то же время в системе антиоксидантной защиты у животных, получавших эссенциале, сохранялся дисбаланс: уровень АРА в плазме крови был снижен на 10% ($p < 0.05$) и повышено количество МДА на 18% ($p < 0.01$) по отношению к контрольным показателям (рис. 2), что характеризует повышенную активность процессов ПОЛ. Однако стоит отметить увеличение активности СОД, одного из ключевых ферментов антиоксидантной защиты, на 65% ($p < 0.001$) по отношению к показателям 3-й группы (отмена CCl_4) и приближение их к контрольным величинам.

При введении животных липидного экстракта *A. tobuchiensis* на фоне интоксикации CCl_4 (5-я группа) в содержании фосфолипидов эритроцитарных мембран не было выявлено достоверных отличий от контрольных величин. В то же время при сравнении их с соответствующими значениями в 3-й группе (отмена CCl_4), отмечено увеличение количества ФЭ на 12% ($p < 0.01$), ФХ на 10% ($p < 0.05$), ФК на 77% ($p < 0.001$) и снижение уровня ЛФХ на 28% ($p < 0.001$). По-видимому, введение липидного экстракта *A. tobuchiensis* на фоне интоксикации CCl_4 приводит к подавлению активности фосфолипаз и понижению процессов свободно-радикального окисления фосфолипидов. Снижение фосфолипазной активности, вероятно, обусловлено свойством длинноцепочечных жирных кислот семейства $n-3$, входящих в состав водорослей, подавлять их гиперактивность (Asztalos *et al.*, 2016).

Отмеченное выше значительное повышение уровня ФК имеет существенное значение для восстановления целостности мембран эритроцитов, нарушенных воздействием CCl_4 , так как ФК является основой для биосинтеза большинства фосфолипидных фракций. Также необходимо отметить достоверное уменьшение уровня СМ (на 18%; $p < 0.001$) и ХС (на 23%; $p < 0.001$), что может

свидетельствовать о снижении повышенной жесткости эритроцитарных мембран.

Вместе с тем выявленные количественные изменения липидного состава в мембране эритроцитов мышей, получавших водорослевый экстракт, согласуются с направленностью изменений в плазме крови, что еще раз свидетельствует об их взаимодействии. В плазме крови мышей аналогично, как и в мембранах эритроцитов, отмечалось снижение уровня ХС (на 17%; $p < 0.001$), а также установлено увеличение количества ОФЛ (на 18%; $p < 0.001$) и снижение содержания ОЛ (на 44%; $p < 0.001$) по отношению к показателям 3-й группы мышей в период отмены токсиканта.

Введение липидного экстракта *A. tobuchiensis* животным (5-я группа) на фоне интоксикации CCl_4 способствовало снижению значений МДА на 29% ($p < 0.001$) в плазме крови по сравнению с 3-й группой животных, не получавших препаратов, а также восстановлению уровня АРА и активности СОД до контрольных величин. Согласно исследованиям С. Гаррела и соавт. (Garrel et al., 2012), ПНЖК n-3 в условиях оксидативного стресса обладают способностью активизировать антиоксидантные ферменты, в том числе СОД. Полученные данные свидетельствуют о восстановлении антиоксидантной защиты организма и уменьшении активности процессов ПОЛ под действием липидного экстракта водоросли в условиях интоксикации CCl_4 .

Проведенное исследование показало, что липидный экстракт *A. tobuchiensis* и эталонный препарат эссенциале оказывают защитное действие на мембраны эритроцитов при интоксикации CCl_4 , проявляющееся в восстановлении фосфолипидного состава, препятствии их окислительной деструкции, уменьшении активности процессов перекисидации липидов. В то же время липидный комплекс анфельции проявил более выраженные мембранопротекторные и антиоксидантные свойства в отличие от эссенциале.

Сравнительный анализ действия исследованных препаратов при расчете статистической достоверности между 4-й и 5-й группами животных выявил достоверно значимые различия по ряду показателей. Так, в содержании липидных фракций мембран эритроцитов 4-й группы мышей, получавших эссенциале, установлены достоверные отличия в уровнях СМ и ХС от контрольных показателей, а также превышение на 8% ($p < 0.05$) и 10% ($p < 0.05$) соответственно аналогичных значений в 5-й группе животных, получавших липидный экстракт *A. tobuchiensis*. Также отмечено, что уровень ФК у животных 4-й группы (эссенциале) на 9% ($p < 0.05$) был ниже соответствующих значений в 5-й группе (анфельция).

Аналогичные различия биохимических показателей отмечались в плазме крови мышей 4-й и 5-групп. Так, содержание ХС и ОЛ у мышей

4-й группы, получавших эссенциале, превышали соответствующие значения у животных 5-й группы (анфельция) в среднем на 10–12% ($p < 0.05$). При сравнении исследованных параметров антиоксидантной системы в плазме крови (МДА, АРА, СОД) также было выявлено преимущество липидного экстракта *A. tobuchiensis* перед препаратом эссенциале.

Результаты проведенного комплексного исследования показывают, что липидный экстракт *A. tobuchiensis* по эффективности защитного действия не уступает, а по ряду показателей превосходит эталонный гепатопротектор эссенциале, как в отношении восстановления липидного матрикса мембран эритроцитов, так и концентрации липидов в плазме крови, а также показателей, характеризующих состояние антиоксидантной системы при токсическом воздействии CCl_4 .

Основная причина проявленных различий в биологической эффективности липидных комплексов из *A. tobuchiensis* и эссенциале может быть обусловлена преимущественно их различным составом. Как было отмечено выше, основными действующими веществами в эталонном препарате эссенциале являются фосфолипиды соевых бобов, доминирующим среди которых является фосфатидилхолин. В составе жирных кислот около 70% приходится на ПНЖК 18:2 n-6 (линолевая), также в небольших количествах содержится α -линоленовая и др. В то время как липидный экстракт *A. tobuchiensis* отличается более многокомпонентным составом, содержащим фракции нейтральных липидов, фосфолипидов и гликолипидов. В состав фосфолипидов входят четыре основных фракции: ФХ, ФЭ, ФГ и ФИ, которые наряду с гликолипидами являются основными источниками ПНЖК. В жирно-кислотном спектре липидного экстракта *A. tobuchiensis* преобладают ПНЖК семейства n-3 (эйкозопентаеновая, α -линоленовая) и n-6 (арахидоновая, линолевая), что подтверждается исследованиями авторов (Kostetsky et al., 2004).

Фосфолипиды, входящие в состав водоросли *A. tobuchiensis* и являющиеся основными структурными и функциональными компонентами всех биомембран, могут обеспечить восстановление целостности мембран, встраиваясь в эритроцитарные мембраны, поврежденные действием токсиканта. В свою очередь, ПНЖК липидной фракции водоросли *A. tobuchiensis* будут способствовать обновлению жирных кислот эритроцитарных мембран, окисленных в результате токсического действия четыреххлористого углерода. Кроме того, жирные кислоты липидного экстракта *A. tobuchiensis* вполне могут участвовать в процессе реацилирования образующихся в избытке лизофосфолипидов в основные фракции мембранных фосфолипидов. Данный процесс протекает путем встраивания жирных кислот в молекулы лизофракций фосфолипидов при участии ацилтрансферазы. Также липидный

экстракт *A. tobuchiensis* проявляет более выраженное антиоксидантное действие благодаря способности ПНЖК n-3, в частности эйкозопентаеновой кислоты, «гасить» свободные радикалы в несколько раз эффективнее, чем линолевая кислота семейства ПНЖК n-6 (Richard *et al.*, 2008), входящая в состав эссенциале.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышеизложенного следует, что липидный экстракт, полученный из морской красной водоросли *A. tobuchiensis*, обладает выраженными мембранопротекторными и антиоксидантными свойствами при токсическом воздействии CCl_4 . Выявленный эффект липидного экстракта *A. tobuchiensis* проявлялся в нормализации показателей как мембранных липидов, так и липидов плазмы крови. Также под действием липидного комплекса водоросли отмечалось восстановление параметров антиоксидантной системы в плазме крови, включая активность СОД, величину АРА и снижение активности процессов ПОЛ. Полиненасыщенные фосфолипиды, входящие в состав липидного экстракта *A. tobuchiensis*, встраиваются в поврежденные мембраны эритроцитов, обеспечивая их нормальное функционирование, восстановление структуры и проницаемости. Липидный комплекс из *A. tobuchiensis* не уступал по эффективности фосфолипидному препарату эссенциале, что обусловлено его многокомпонентным составом, включающим глико- и фосфолипиды с преобладанием длинноцепочечных жирных кислот семейств n-3 и n-6.

Использование экстрактов из морских водорослей, обогащенных липидной фракцией, в том числе из *A. tobuchiensis*, может быть полезным при создании биологически активных добавок и профилактических препаратов для снижения последствий токсического воздействия на организм и эритроциты в частности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева по теме «Экологические и биогеохимические процессы в экосистемах дальневосточных морей» (№ государственной регистрации 124022100077-0).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных проводились в соответствии с Руководством NIH по уходу

и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>). Протоколы экспериментов одобрены Этическим комитетом Тихоокеанского океанологического института им. Ильичева (протокол № 23 от 10 октября 2023 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беседнова Н.Н. Морские гидробионты – потенциальные источники лекарств. // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014. Т. 57, № 3. С. 4–10.
- Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Методические указания по изучению гепатопротекторной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств. М.: ОАО Издательство “Медицина”, 2005. С. 683–691.
- Грибанов Г.А. Особенность структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопр. мед. химии. 1991. Т. 37, № 4. С. 2–16.
- Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Богданова О.В., Дмитриева Л.А., Шулунов А.А. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы) // Acta biomedical scientifica. 2017. Т. 2, № 5(1). С. 43–49.
https://doi.org/10.12737/article_59e8bcd3d6fcb1.49315019
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
- Соколова Е.В., Барабанова А.О., Хоменко В.А., Соловьева Т.Ф., Богданович Р.Н., Ермак И.М. Изучение in vitro и ex vivo антиоксидантной активности каррагинанов – сульфатированных полисахаридов красных водорослей // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 150, № 10. С. 398–401.
- Суховерхов С.В., Кадникова И.А., Подкорытова А.В. Получение агара и агарозы из красных водорослей *Ahnfeltia tobuchiensis* // Прикл. биохим. микробиол. 2000. Т.36, № 2. С. 238–240.
- Титлянов Э.А., Титлянова Т.В. Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. Владивосток: Дальнаука, 2012. 377 с.
- Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. Владивосток: Дальнаука, 2003. 230 с.
- Ahmad F.F., Cowan D.L., Sun A.Y. Detection of free radical formation in various tissues after acute carbon

- tetrachloride administration in gerbil // *Life Sci.* 1987. V. 41. P. 2469–2475.
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(87\)90673-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90673-4)
- Akyuz F., Aydin O., Demir T.A., Kanbak G. The effects of CCl₄ on Na⁺/K⁺-ATPase and trace elements in rats // *Biol. Trace Elem. Res.* 2009. Vol. 132, № 1–3. P. 207–214.
<https://doi.org/10.1007/s12011-009-8395-9>
- Allen D., Hasanally D., Ravandi A. Role oxidized phospholipids in cardiovascular pathology // *Clin Lipidol.* 2013. V. 8. P. 205–215.
<https://doi.org/10.2217/clp.13.13>
- Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // *J. Lipid Res.* 1964. V. 5. P. 270–272.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)40251-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)40251-2)
- Asztalos I.B., Gleason J.A., Sever S., Gedik R., Asztalos B.F., Horvath K.V., Dansinger M.L., Lamon-Fava S., Schaefer E.J. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial // *Metab. Clin. Exp.* 2016. V. 65, № 11. P. 1636–1645.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.07.010>
- Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M. Simple determination of peroxyl radical-trapping capacity // *Biochem Mol Biol Int.* 1998. V. 46. P. 519–528.
<https://doi.org/10.1080/15216549800204042>
- Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959. V. 37, № 8. P. 911–917.
- Boll M., Weber L.W., Becker E., Stampfl A. Pathogenesis of carbon tetrachloride-induced hepatocyte injury bioactivation of CCl₄ by cytochrome P450 and effects on lipid homeostasis // *Z. Naturforsch C.J. Biosci.* 2001. V. 56 (1–2). P. 111–21.
<https://doi.org/10.1515/znc-2001-1-218>
- Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1978. N.Y.: Academic Press. V. 52. P. 302–310.
- Cumming D.S., Mchowat J., Schnellmann R.G. Phospholipase A₂s in cell injury and death // *J. pharmacol experim therapeutic.* 2000. V. 294. P. 793–799.
- Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova E.S., Lesnikova L.N., Merzlyakov V.Y., Momot T.V. Lipid composition, content of polyphenols, and antiradical activity in some representatives of marine algae // *Russ. J. Plant. Physiol.* 2019. V. 66, № 6. P. 942–949.
<https://doi.org/10.1134/S1021443719050054>
- Garrel C., Alessandri J.-M., Guesnet P., Al-Gubory K.H. Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2012. V. 44, № 1. P. 123–131.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.10.007>
- Jump D.B., Depner C.M., Tripathy S., Lytle K.A. Potential for dietary omega-3 fatty acids to prevent nonalcoholic fatty liver disease and reduce the risk of primary liver cancer // *Adv. Nutr.* 2015. V. 6. № 6. P. 694–702.
<https://doi.org/10.3945/an.115.009423>
- Khotimchenko S.V., Gusarova I.S. Red algae of peter the great bay as a source of arachidonic and eicosapentaenoic acids // *Russian Journal of Marine Biology.* 2004. V. 30, № 3. P. 183–187.
<https://doi.org/10.1023/B:RUMB.0000033953.67105.6b>
- Kostetsky E.Y., Goncharova S.N., Sanina N.M., Shnyrov V.L. Season influence on lipid composition of marine macrophytes // *Bot. Mar.* 2004. V. 47, № 2. P. 134–139. <http://dx.doi.org/10.1515/BOT.2004.013>.
- Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Momot T.V. The Effects of the lipid complex of extract from the marine red alga *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kanno et Matsubara) Makienko on the biochemical parameters of blood plasma and erythrocyte membranes during experimental stress exposure // *Russian Journal of Marine Biology.* 2020. Vol. 46, № 4. P. 277–283.
<http://dx.doi.org/10.1134/S1063074020040057>
- Manibusan M.K., Odin M., Eastmond D.A. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review // *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2007. Vol. 25, № 3. P. 185–209.
<https://doi.org/10.1080/10590500701569398>
- Massaccesi L., Galliera E., Romanelli M.M. C. Erythrocytes as markers of oxidative stress related pathologies // *Mech. Ageing Dev.* 2020. V. 191. P. 111333.
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111333>
- Menon V.V., Lele S.S. Nutraceuticals and bioactive compounds from seafood processing waste. In *Springer Handbook of Marine Biotechnology.* Springer: Berlin/Heidelberg. Germany. 2015. P. 1405–1425.
http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-53971-8_65
- Muriel P., Mourelle M. The role of membrane composition in ATPase activities of cirrhotic rat liver: effect of silymarin. *J Appl Toxicol.* 1990. V.10. P. 281–284.
<https://doi.org/10.1002/jat.2550100409>
- Nava-Ocampo A.A., Suster S., Muriel P. Effect of colchicine and ursodeoxycholic acid on hepatocyte and erythrocyte membranes and liver histology in experimentally induced carbon tetrachloride cirrhosis in rats // *European journal of clinical investigation.* 1997. V. 27. P. 77–84.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.1997.910615.x>
- Ohnishi ST. Importance of biological membranes in disease processes. In: Ohnishi ST, Ohnishi T, eds. *Cellular Membrane. A Key to Disease Processes.* Florida: CRC Press. 1993. P. 3–19.
- Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide-dismutase activity in tissue-extracts. *Analyt Biochem.* 1986. V. 154. P. 536–541.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(86\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(86)90026-6)
- Richard D., Kefi K., Barbe U., Bausero P., Visioli F. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants // *Pharmacol. Res.* 2008. V. 57, № 6. P. 451–455.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002>
- Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids //

- Lipid Chromatographic Analysis. New York: Dekker, 1967. V. 1. P. 99–162.
- Ruxton C.H.S., Calder P.C., Reed S.C., Simpson M.J.A. The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health // *Nutr Res Reviews*. 2005. V. 18. P. 113–129.
<https://doi.org/10.1079/nrr200497>
- Sanzgiri U.Y., Srivatsan V., Muralidhara S., Dallas C.E., Bruckner J.V. Uptake, distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997. V. 143, № 1. P. 120–129.
<https://doi.org/10.1006/taap.1996.8079>
- Shevchenko O.G., Shishkina L.N. Comparative analysis of phospholipid composition in blood erythrocytes of various species of mouse-like rodents // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2011. V. 47, № 2. P. 179–186.
<http://dx.doi.org/10.1134/S0022093011020071>
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E. Effect of a lipid complex from the marine red alga *Ahnfeltia* *tobuchiensis* on the metabolic responses of the liver under conditions of experimental toxic hepatitis // *Biology Bulletin*. 2021. V. 48, Suppl. 3. P. S10–S18.
<https://doi.org/10.1134/S1062359022010149>
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E. Drugova E.S., Lesnikova L.N., Merzlyakov V.Y. Lipid-correcting and antioxidant effects of the lipid complex from the red marine algae *Ahnfeltia tobuchiensis* under the conditions of a high-fat diet // *Biology Bulletin*. 2024. V. 51, № 1. P. 37–46.
<http://dx.doi.org/10.1134/S1062359023601982>
- Suleria H.A., Masci P., Gobe G., Osborne S. Current and potential uses of bioactive molecules from marine processing waste // *J. Sci. Food Agric.* 2016. V. 96. P. 1064–1067.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7444>
- Vasovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. Universal Reagent for Phospholipid Analysis // *J. Chromatography*. 1975. V. 114. P. 129–141.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)

Membrane-Protective effect of lipid extract of Marine Red Seaweed *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kanno et Matsubara) makienko under experimental carbone tetrachloride poisoning

S. E. Fomenko[#], N. F. Kushnerova, V. G. Sprygin

*Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far East Branch, Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, 690041 Russia
[#]e-mail: sfomenko@poi.dvo.ru*

Carbon tetrachloride (CCl₄) disrupts the stable operation of biological membranes, causing disturbances in the lipid bilayer, as well as changes in the properties of membrane lipids. The protective effect of lipid complex isolated from the marine red alga *Ahnfeltia tobuchiensis* and the reference drug “Essentiale” was investigated on the plasma membranes of mouse erythrocytes, obtained in the modeling of toxic hepatitis induced by CCl₄. The lipid extract from *A. tobuchiensis* was not inferior in efficiency to the phospholipid preparation essenciale in restoring the indices of both membrane lipids and blood plasma lipids, as well as in normalizing the parameters of antioxidant protection of the organism. The membrane-protective effect of algal extract is due to its multicomponent composition including glyco- and phospholipids with predominance of polyunsaturated fatty acids of n-3 and n-6 families.

Keywords: lipid extract, *Ahnfeltia tobuchiensis*, erythrocytes, antioxidant defence, mice