

УДК 577.121+615.324

МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ МОРСКОЙ БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕССА

© 2025 г. Н. Ф. Кушнерова^{а, *}, С. Е. Фоменко^а, В. Г. Спрыгин^а, Т. В. Момот^б

^аТихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, 690041 Россия

^бПервый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва, 119991 Россия

*e-mail: natasha50@mail.ru

Поступила в редакцию 06.05.2024

После доработки 09.07.2024

Принята к публикации 11.07.2024

Исследовано влияние липидного экстракта, выделенного из таллома морской бурой водоросли *Sargassum pallidum*, и коммерческого препарата сравнения «Омега-3» на биохимические показатели мембран эритроцитов крыс при экспериментальном стрессе (вертикальная фиксация за дорсальную шейную складку на 24 ч). Стрессовое воздействие сопровождалось увеличением диаметра и среднего объема эритроцитов, снижением осмотической резистентности к изменению концентрации NaCl. В мембране эритроцитов отмечалось увеличение уровня холестерина и изменение количественных характеристик фракций фосфолипидов и входящих в их состав жирных кислот, что обусловило появление модифицированных молекулярных фракций фосфолипидов. Проведена коррекция полученных изменений липидным экстрактом *S. pallidum* и препаратом сравнения «Омега-3». По своей биологической эффективности экстракт саргассума не уступал эталонному препарату «Омега-3», но по способности восстанавливать размерные характеристики эритроцитов, а также соотношению фосфолипидных фракций в мембранах эритроцитов и величин их жирнокислотного состава превосходил таковой. Фармакологический эффект липидного экстракта саргассума, по нашему мнению, обусловлен более широким спектром нейтральных и фосфолипидных фракций, полиненасыщенных жирных кислот семейств n-3 и n-6, что обеспечивает эффективную репарацию мембран эритроцитов. Таллом морской бурой водоросли может использоваться как сырье для получения препаратов со стресс-протекторными и липид-корригирующими свойствами.

Ключевые слова: *Sargassum pallidum*, стресс, эритроциты, холестерин, фосфолипиды, жирные кислоты

DOI: 10.31857/S0233475525010071, **EDN:** utuntv

ВВЕДЕНИЕ

Стрессовое воздействие (психоэмоциональный фактор, переохлаждение, перегревание, тяжелая физическая нагрузка и др.) оказывает на современного человека значительное влияние. При длительном воздействии стресса в организме формируются стрессорные заболевания, или болезни адаптации (гипертоническая болезнь, атеросклероз, язвы желудочно-кишечного тракта и др.). Начало изучению влияния стресса на организм животных и человека было положено Г. Селье [1, 2], в работах которого показано стресс-индуцируемое увеличение надпочечников, инволюция тимико-лимфатической

системы, изъязвления слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки (триада). Под действием различных стрессовых факторов происходит высвобождение из надпочечников в кровь «гормонов стресса» — катехоламинов, при окислении которых в печени цитохромом P-450 увеличивается индукция свободных супероксиданионов, образуются семихиноновые радикалы адреналина и возрастает концентрация гидроксил-радикалов, которые формируют свободно-радикальные реакции [3]. При длительном стрессовом воздействии происходит истощение системы антиоксидантной защиты, включается механизм перекисного окисления липидов (ПОЛ)

[4] и формируется оксидативный стресс [5, 6], который сопровождается окислением белков, липидов и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [7]. Однако наряду с исследованиями системы «перекисное окисление липидов—антиоксидантная защита» следует обратить внимание на физиолого-биохимические нарушения структуры и функции эритроцитов [8, 9]. Ответом на ПОЛ в фосфолипидах мембран эритроцитов отмечается увеличение насыщенных и моноеновых жирных кислот, уменьшение уровня полиненасыщенных жирных кислот и индекса ненасыщенности [10]. Трансформация в соотношении жирных кислот в фосфолипидах мембран при стрессе нарушает работу мембраносвязанных ферментов, рецепцию гормонов, а также снижает лабильность эритроцитов при прохождении через микроциркулярное русло [11, 12]. При окислительном стрессе происходит нарушение липидной асимметрии мембраны (выход фосфатидилсерина в верхний монослой), что ведет к гемолизу эритроцитов [7]. В условиях умеренной гипотермии во внутреннем монослое мембран эритроцитов крыс происходит изменение в содержании фосфатидилсерина и фосфатидилинозита, а также в соотношении насыщенных, моноеновых и ПНЖК в составе фосфолипидов [13]. У крыс при изнуряющем плавании до потопления в фосфолипидах мембран эритроцитов отмечаются изменения в количественном отношении ненасыщенных жирных кислот [14]. У студентов, переживающих экзаменационный стресс, отмечалось снижение устойчивости эритроцитов к действию гемолизирующего воздействия, что связано со структурной перестройкой мембраны [15]. На основании вышеизложенного следует, что в условиях стресса возникает необходимость в профилактике возможных метаболических нарушений.

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию морских водорослей, содержащих широкий комплекс биологически активных веществ (БАВ), которые могут использоваться в фармацевтической промышленности для профилактики и/или лечения многих заболеваний, а также как функциональные ингредиенты для инновационных продуктов [16, 17]. Сырьевая база привлекает своей доступностью и высокой самовозобновляемостью, а также большой биомассой. Отмечается невысокая сложность технологий выделения БАВ, а выделенные вещества чаще всего имеют низкую токсичность [18]. Вторичные метаболиты морских водорослей представлены не только полифенольными структурами (флоротаннины — полимеры

флороглюцина), но и липидными соединениями, в частности, мембранообразующими — фосфатидилхолином и фосфатидилэтаноламином, в состав которых входят эссенциальные ПНЖК семейства n-3 [19]. В литературе представлены работы по использованию ПНЖК семейства n-3 в условиях экспериментального стресса и формирования ряда патологий на животных. Так, Ю.С. Сидоровой и соавт. [20] отмечалось, что при истощающей физической нагрузке (бег по беговой дорожке с регулируемой скоростью и наклоном) введение крысам в рацион докозагексаеновой кислоты с астаксантином способствовало увеличению фагоцитарной активности нейтрофилов и сохранению антиоксидантного статуса организма. Омега-3 ПНЖК (эйкозапентаеновая и докозагексаеновая жирные кислоты) показали свою эффективность как противовоспалительные средства при посттравматическом стрессе у крыс (принудительное плавание) [21]. Известны работы, в которых было показано, что при экспериментальной атерогенной гиперлипидемии введение в рацион крыс липосомальной формы эссенциальных ПНЖК (12.2% от общего количества жирных кислот) снижало содержание общего холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и повышало уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) до значений у интактных животных [22]. Липидный комплекс из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* способствовал снятию состояния дислипидемии и гиперхолестеринемии в плазме крови крыс, а также восстанавливал фосфолипидный состав мембран эритроцитов при экспериментальном стрессе [23]. Также этот липидный комплекс показал выраженный антиоксидантный и гепатозащитный эффект, который превосходил таковой у препарата сравнения «Эссенциале», при интоксикации четыреххлористым углеродом [24]. Водно-спиртовой экстракт из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* восстанавливал размерные характеристики эритроцитов и показатели антиоксидантной защиты печени крыс на модели токсического гепатита [25]. Сульфатированный полисахарид фукоидан, выделенный из морской бурой водоросли *Cystoseira myrica*, обладал антикоагулянтными и антиоксидантными свойствами *in vitro* [26]. Рядом авторов показана эффективность приема липидных экстрактов из морских водорослей при некоторых заболеваниях у людей. Липидные комплексы из *Ulva rigida* и *Codium tomentosum* обладают профилактическими свойствами при хроническом воспалении и имеют потенциал в качестве функционального ингредиента пищевых продуктов [27].

Омега-3 ПНЖК были эффективны при дислипидемии у ВИЧ-позитивных пациентов. В плазме крови таких больных снижалось количество триацилглицеринов (ТАГ) и возрастал уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) без изменений уровня общего холестерина, холестерина липопротеинов очень низкой и низкой плотности, а также аполипопротеинов В и А1 в сыворотке крови [28]. У людей с риском сердечно-сосудистых заболеваний Омега-3 ПНЖК из водорослей снижали в плазме крови уровень ТАГ и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) [29]. Из морской бурой водоросли *Sargassum muticum* и красной водоросли *Solieria chordalis* были выделены липидные экстракты, которые показали высокую антирадикальную активность [30]. На основании вышеизложенного следует, что препараты из морских водорослей имеют широкий спектр своего фармакологического действия. Однако этот сырьевой ресурс в настоящее время не имеет широкого применения.

В профилактике нарушений структурной организации мембран эритроцитов перспективным направлением является использование липидных экстрактов из морских водорослей. К таковым следует отнести липидный экстракт из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh, широко распространенной в заливе Петра Великого Японского моря. Водоросль относится к отделу Phaeophyta – бурые водоросли, порядок *Fucales* – фукусовые, семейство *Sargassaceae*. Окраска таллома от оливково-желтого до темно-бурой. Цвет обусловлен присутствием пигмента фукоксантина, имеющего бурый цвет. Это многолетнее, кустистое растение до 2–2.5 м высотой [31]. Растет на каменистом, илисто-песчаном или песчано-каменистом грунте на глубине до 10 м. В составе таллома *S. pallidum* присутствует высокое содержание веществ липидной природы. Фосфолипидный состав представлен фосфатидилглицерином, фосфатидилэтаноламином и фосфатидилинозитом [32]. В состав гликолипидов и фосфолипидов входят ПНЖК семейств n-6 и n-3, на долю которых приходится до 40% всех жирных кислот (арахионовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая жирные кислоты) [32, 33], что обеспечивает фармакологические свойства липидного комплекса. Подробный липидный состав экстракта из таллома *S. pallidum* был представлен в наших ранее опубликованных работах [34, 35]. В составе общих липидов экстракта (26.0 ± 0.2 мг/г сухой ткани) присутствовали общие гликолипиды (10.8 ± 0.1 мг/г сухой ткани), общие нейтральные

липиды (12.6 ± 0.1 мг/г сухой ткани), общие фосфолипиды (2.60 ± 0.02 мг/г сухой ткани). Нейтральные липиды представлены следующими классами: ТАГ, холестерин (ХС), диацилглицерины+моноацилглицерины (ДАГ+МАГ), свободные жирные кислоты (СЖК), эфиры холестерина (ЭХС). В ряду фосфолипидных классов присутствовали фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилинозит (ФИ). Среди жирных кислот следует отметить, что содержание насыщенных жирных кислот составляло 19.8% от суммы всех жирных кислот, моноеновых – 12.6%, ПНЖК – 67.6%, из которых сумма кислот семейства n-6 составляла 46.5%, а кислот семейства n-3 – 21.1%. Качественные характеристики липидного состава экстракта согласуются с литературными данными [32, 36]. Таким образом, липидный экстракт из таллома *S. pallidum* имеет широкие возможности применения в качестве препарата с мембранопротекторными свойствами, в частности, для восстановления нарушенной липидной составляющей мембран эритроцитов при стрессе. Также до сих пор многие вопросы мембраностабилизирующего действия липидного экстракта саргассума в условиях стресса остаются не изучены.

Цель работы – оценка изменений липидного состава мембран эритроцитов крыс при экспериментальном стрессе и возможность коррекции липидным экстрактом из таллома морской бурой водоросли *Sargassum pallidum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы водоросли *Sargassum pallidum* собирали в летний период в прибрежных водах бухты Алексеева, о-в Попова, зал. Петра Великого (Японское море). Выборка водорослей составляла 15 талломов. Водоросли тщательно очищали от эпифитов и частиц песка, промывали сначала морской, затем водопроводной водой, после чего отжимали и погружали в кипящую воду на 2 мин для инактивации ферментов. Далее таллом сушили при температуре, не превышающей 50°C, после чего измельчали с помощью лабораторной мельницы до размеров частиц 0.5–1 мм. Получение липидного экстракта осуществляли общепринятым методом для выделения липидов из растительного и животного сырья смесью хлороформ : метанол (1:2 по объему) [37]. Липидный экстракт представляет собой маслообразную массу зелено-коричневого цвета.

Эксперимент проводили на беспородных белых крысах-самцах массой тела 150 ± 3 г, полученных из питомника филиала «Столбовая»

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Исследования на животных выполнены в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и требованиями ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Животные были адаптированы в виварии в течение 7 сут до начала эксперимента (карантин). Во время этого периода осуществляли ежедневный осмотр внешнего состояния крыс и в эксперимент были взяты животные без признаков отклонений в состоянии здоровья. Животные получали питьевую воду без ограничений и корм ежедневно в одно и то же время в режиме свободного доступа. После прохождения карантина крыс произвольно распределяли на интактных (контроль), потреблявших на протяжении всего эксперимента сбалансированный рацион, и крыс, подвергавшихся стрессу. Острый стресс моделировали путем вертикальной фиксации животных за дорсальную шейную складку на 24 ч [38]. Препараты вводили в желудок через зонд дважды: непосредственно перед вертикальной фиксацией и через 6 ч после первого введения. Стандартизацию липидного экстракта саргассума проводили по сумме общих липидов. Липидный экстракт саргассума и препарат сравнения Омега-3 (Now Foods, США) вводили в дозе 1 г/кг массы животного [39]. Животным контрольной группы и группы «стресс» вводили в той же дозе вазелиновое масло категории «медицинское», которое является химически инертным и не оказывает влияния на результаты эксперимента [40].

В ходе исследования были выделены четыре группы по 10 животных в каждой: 1-я группа — контроль; 2-я группа — стресс (вертикальная фиксация); 3-я группа — стресс + липидный экстракт саргассума; 4-я группа стресс + Омега-3. Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (European Convention, Страсбург, 1986).

Эритроциты из крови, взятой в вакуумные пробирки с зеленой крышкой Vacuette, выделяли общепринятым методом центрифугирования. Для получения мембранной массы эритроциты вносили в дистиллированную воду, где происходил их полный гемолиз. Полученную мембранную массу трижды отмывали охлажденным до +4°C изотоническим раствором NaCl с последующим центрифугированием, каждый раз удаляя надосадочную жидкость. Для определения среднего объема

и среднего диаметра эритроцитов использовали автоматический гематологический анализатор Abacus (Diatron, Австрия). Для оценки осмотической резистентности эритроцитов использовали метод определения к изменению концентрации NaCl [41]. Экстракты общих липидов из мембран эритроцитов готовили по методу Фольча [42], количество общих липидов в экстракте определяли весовым методом. Суспензию силикагеля марки «КСК» (ООО «Лабхимос», Россия) и пластинки размером 6 × 6 см для двумерной микротонкослойной хроматографии фосфолипидов и нейтральных липидов готовили по методу В.И. Светашева и В.Е. Васьковского [43]. Для разделения фосфолипидов на фракции использовали системы растворителей, описанные Роузером [44]. Для обнаружения холинсодержащих фосфолипидов (фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин) использовали реактив Драгендорфа [45]; липиды проявлялись в виде оранжевых пятен на желтом фоне. Для обнаружения фосфолипидов, содержащих аминогруппу (фосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин), пластинки опрыскивали 5% раствором нингидрина в ацетоне [44] с последующим нагреванием в течение 2–3 мин над парами воды до появления розовых пятен на белом фоне. Фосфолипиды, содержащие гидроксильные группы (фосфатидилинозит), обнаруживали с помощью периодатного реактива Шиффа [46], пятна липидов имели розово-сиреневый цвет. Для проявления всех фосфолипидных фракций применяли молибдатный реактив [47]. Липиды проявлялись в виде синих пятен на белом фоне. Для количественного определения каждой фракции использовали 10% раствор серной кислоты в метаноле с последующим нагреванием. Разделение нейтральных липидов для выделения фракции холестерина в липидном экстракте из мембран эритроцитов осуществляли методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [48]. Количество отдельных фракций фосфолипидов рассчитывали по методу В.Е. Васьковского и соавт. [47] с принятым алгоритмом их количественного определения и выражали в процентах от общей суммы фосфолипидов и нейтральных липидов соответственно. Определение жирнокислотного состава липидного экстракта мембран эритроцитов проводили методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ). Метилловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) получали при использовании метода переэтерификации липидов [49] и далее очищали с помощью ТСХ, используя систему гексан : диэтиловый эфир (95:5 по объему). МЭЖК анализировали на газовом хроматографе

«ЛХМ-2000» (ОАО «Хроматограф», Россия) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярная колонка HP-5-MS с 5% фенилметилсилоксаном (30 м × 0.25 мм, Agilent, США), газ-носитель — гелий. Температура инжектора 180°C. Идентификацию МЭЖК проводили путем сравнения времени удерживания и путем сравнения с известными стандартами [50]. Результаты выражали в процентах от суммы жирных кислот.

Количественные данные обрабатывали с использованием статистического пакета InStat 3.0 (GraphPad, Software Inc., США) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Данные приводили в виде среднего значения ± ошибка среднего ($M \pm m$) при $n = 10$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Стресс — вертикальная фиксация крыс за дорсальную шейную складку в течение 24 ч, которая сопровождалась известными атрибутами стресса: снижение массы селезенки на 29% (0.15 ± 0.01 мг по сравнению с 0.21 ± 0.01 мг в контроле, $p < 0.01$), увеличение массы надпочечников на 53% (3.17 ± 0.03 мг по сравнению с 2.07 ± 0.02 мг в контроле, $p < 0.001$), появление язвенных поражений слизистой оболочки желудка (2.6 ± 0.1 шт/животное, в контроле — 0).

Отмечалось увеличение среднего диаметра (СДЭ) и среднего объема эритроцитов (СОЭр) (табл. 1). Так, СДЭ превышал контрольные значения на 12% (7.23 ± 0.05 мкм против 6.35 ± 0.02 мкм в контроле; $p < 0.001$), СОЭр — на 33% (76 ± 3 мкм³ против 51 ± 3 мкм³; $p < 0.001$). Начало гемолиза эритроцитов при внесении их в растворы NaCl от 0.8 до 0.3% происходило при концентрации $0.55 \pm 0.01\%$ NaCl, т.е. раньше, чем в контроле ($0.45 \pm 0.02\%$ NaCl). Окончание гемолиза также было раньше, чем в контроле ($0.45 \pm 0.01\%$ NaCl против $0.35 \pm 0.01\%$ NaCl в контроле), что указывает на пониженную устойчивость мембран эритроцитов к гемолизирующему воздействию. Содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) в мембране эритроцитов было ниже на 20% ($52 \pm 2\%$ по сравнению с $65 \pm 2\%$ в контроле, $p < 0.001$), тогда как уровень холестерина (ХС) вырос на 16% ($25.7 \pm 0.7\%$ по сравнению с $22.1 \pm 0.8\%$ в контроле, $p < 0.001$). В связи с этим увеличилось значение коэффициента ХС/ОФЛ до 0.49 ± 0.02 ($p < 0.001$) по сравнению с 0.34 ± 0.02 в контроле.

Как видно из табл. 2, под действием стресса в мембранах эритроцитов происходят изменения в величинах фосфолипидных фракций: снижение уровня фосфатидилхолина (ФХ) на 7% ($p < 0.01$) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) на 15% ($p < 0.01$) при одновременном увеличении лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на 17–18% ($p < 0.05$ – 0.01). Данный факт обусловлен активацией фосфолипазы A₂ при стрессе [51]. Отмечалось повышенное содержание сфингомиелина

Таблица 1. Физиологические и биохимические показатели эритроцитов крыс и их коррекция липидным экстрактом саргассума и Омега-3 при экспериментальном стрессе ($M \pm m$)

Показатели	1-я группа контроль	2-я группа стресс	3-я группа стресс + саргассум	4-я группа стресс + Омега-3
Средний диаметр эритроцитов (СДЭ, мкм)	6.35 ± 0.02	7.23 ± 0.05^3	6.6 ± 0.1^b	6.6 ± 0.1
Средний объем эритроцитов (СОЭр, мкм ³)	51 ± 3	76 ± 3^3	56 ± 2^b	57 ± 2
Осмотическая резистентность (% NaCl)	0.45 ± 0.01 0.35 ± 0.01	0.55 ± 0.01^3 0.45 ± 0.02^3	0.45 ± 0.02^b 0.35 ± 0.01^b	0.45 ± 0.02 0.35 ± 0.01
Общие фосфолипиды (% от общих липидов)	65 ± 2	52 ± 2^3	66 ± 2^b	66 ± 2^b
Холестерин (% от общих липидов)	22.1 ± 0.8	25.7 ± 0.7^3	21.2 ± 0.5^b	21.9 ± 0.7^6
Холестерин/фосфолипиды	0.34 ± 0.02	0.49 ± 0.02^3	0.32 ± 0.01^b	0.33 ± 0.02^b

Примечание. Различия статистически достоверны при: ¹ — $p < 0.05$; ² — $p < 0.01$; ³ — $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ^a — $p < 0.05$; ^b — $p < 0.01$; ^b — $p < 0.001$ по сравнению со 2-й группой.

Таблица 2. Биохимические показатели мембран эритроцитов крыс и их коррекция липидным экстрактом саргассума и Омега-3 при экспериментальном стрессе (% , $M \pm m$)

Фосфолипиды	1-я группа контроль	2-я группа стресс	3-я группа саргассум	4-я группа Омега-3
ФХ	36.0 ± 0.6	33.4 ± 0.6^2	36.4 ± 0.6^6	35.2 ± 0.6^a
ЛФХ	8.8 ± 0.1	10.4 ± 0.4^2	8.2 ± 0.4^6	9.0 ± 0.3^a
СМ	14.5 ± 0.7	16.4 ± 0.5^1	14.4 ± 0.4^6	15.2 ± 0.3^a
ФЭ	18.1 ± 0.5	15.4 ± 0.6^2	18.3 ± 0.6^6	18.3 ± 0.6^6
ЛФЭ	7.5 ± 0.4	8.8 ± 0.4^1	7.3 ± 0.3^6	7.6 ± 0.3^a
ФС	5.7 ± 0.2	4.8 ± 0.2^2	5.7 ± 0.2^6	5.5 ± 0.1^a
ФИ	5.4 ± 0.2	6.4 ± 0.2^2	5.6 ± 0.1^B	5.0 ± 0.1^B
ФК	4.03 ± 0.16	4.50 ± 0.09^1	4.13 ± 0.08^6	4.27 ± 0.05^a
ХС	20.4 ± 0.5	21.8 ± 0.3^3	19.3 ± 0.4^B	20.1 ± 0.5^B
ЛФХ/ФХ	0.24 ± 0.02	0.31 ± 0.02^1	0.22 ± 0.01^B	0.26 ± 0.01^a
ФХ/СМ	2.48 ± 0.12	2.02 ± 0.08^2	2.53 ± 0.11^6	2.30 ± 0.07^a
$\frac{\text{ФЭ+ФС}}{\text{ФХ+СМ}}$	0.47 ± 0.02	0.40 ± 0.02^1	0.47 ± 0.02^a	0.47 ± 0.02^a
$\frac{\text{ФК+ФС+ФЭ+ФИ}}{\text{ФХ+СМ}}$	0.66 ± 0.01	0.62 ± 0.01^1	0.66 ± 0.01^a	0.66 ± 0.01^a

Примечание. Различия статистически достоверны при: ¹ – $p < 0.05$; ² – $p < 0.01$; ³ – $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ^a – $p < 0.05$; ⁶ – $p < 0.01$; ^B – $p < 0.001$ по сравнению со 2-й группой. ФХ – фосфатидилхолин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ФК – фосфатидная кислота, ХС – холестерин.

(СМ) на 13% ($p < 0.05$), что является компенсаторной реакцией на снижение уровня ФХ. Значение фосфатидилсерина (ФС) было ниже контроля на 16% ($p < 0.01$), тогда как выше контроля отмечались уровни фосфатидилинозита (ФИ) (на 19%, $p < 0.01$) и фосфатидной кислоты (ФК) (на 12%, $p < 0.05$). Изменения в соотношении метаболически активных фракций фосфолипидов (ФС, ФИ и ФК) предполагают изменение активности мембраносвязанной Na^+, K^+ -АТФ-азы [52]. При анализе жирнокислотных спектров основных структурных фосфолипидов мембран эритроцитов при стрессе отмечались достоверные отличия от контроля (табл. 3, 4). Так, в составе фосфатидилхолина (табл. 3) возросла сумма насыщенных жирных кислот до 46% (в контроле – 43%). Это обусловлено ростом значений миристиновой кислоты на 17% ($p < 0.001$), пальмитиновой и стеариновой кислот в среднем на 5–8% ($p < 0.05$). Следует отметить увеличение значения мононенасыщенной пальмитолеиновой кислоты на 16% ($p < 0.001$). В ряду ПНЖК семейства n-6 отмечалось снижение линолевой кислоты на 8% ($p < 0.05$) и арахидоновой кислоты на 15% ($p < 0.01$). Снижение содержания в ряду ПНЖК

семейства n-3 – линоленовой кислоты на 10% ($p < 0.05$), эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот – в среднем на 11% ($p < 0.001$) явилось причиной падения суммы ненасыщенных жирных кислот до 54% (в контроле – 57%), что способствовало росту индекса насыщенности до 0.82 (в контроле – 0.75).

В составе фосфатидилэтаноламина эритроцитарных мембран (табл. 4) сумма насыщенных жирных кислот увеличилась до 51% (в контроле – 49%) за счет роста значения миристиновой кислоты на 10% ($p < 0.01$) и пальмитиновой кислоты – на 4% ($p < 0.05$). В ряду мононенасыщенных жирных кислот отмечалось увеличение пальмитолеиновой (на 17%, $p < 0.001$) и олеиновой (на 11%, $p < 0.05$) жирных кислот. В ряду ПНЖК семейства n-6 следует отметить уменьшение величины линолевой кислоты на 9% ($p < 0.05$), а в ряду ПНЖК семейства n-3 – эйкозапентаеновой кислоты – на 17% ($p < 0.001$) и докозагексаеновой кислоты – на 31% ($p < 0.001$). В результате отмечалось снижение суммы ненасыщенных жирных кислот до 49% (в контроле – 51%) и рост индекса насыщенности до 1.00 (в контроле – 0.96).

Таблица 3. Содержание основных видов жирных кислот в фосфатидилхолине мембран эритроцитов крыс и их коррекция липидным экстрактом саргассума и Омега-3 при экспериментальном стрессе (% от суммы всех фракций, $M \pm m$)

Жирные кислоты	1-я группа контроль	2-я группа стресс	3-я группа стресс + саргассум	4-я группа стресс + Омега-3
Миристиновая (14:0)	1.16 ± 0.02	1.36 ± 0.02^3	1.13 ± 0.02^b	1.24 ± 0.03^b
Пальмитиновая (16:0)	27.9 ± 0.5	29.2 ± 0.5^1	27.9 ± 0.4^a	27.9 ± 0.4^a
Стеариновая (18:0)	13.9 ± 0.4	15.0 ± 0.4^1	14.0 ± 0.2^a	14.3 ± 0.2
Пальмитолеиновая (16:1)	2.16 ± 0.02	2.50 ± 0.02^3	2.13 ± 0.02^b	2.10 ± 0.02^b
Олеиновая (18:1)	18.6 ± 0.5	19.4 ± 0.4	18.3 ± 0.4	18.1 ± 0.4^a
Линолевая (18:2 n-6)	19.6 ± 0.5	18.0 ± 0.4^1	19.2 ± 0.3^a	19.2 ± 0.4^a
Арахидоновая (20:4 n-6)	11.8 ± 0.4	10.0 ± 0.4^2	11.8 ± 0.4^b	11.8 ± 0.4^b
Линоленовая (18:3 n-3)	1.24 ± 0.02	1.11 ± 0.01^3	1.26 ± 0.02^b	1.24 ± 0.02^b
Эйкозапентаеновая (20:5 n-3)	1.25 ± 0.02	1.11 ± 0.01^3	1.28 ± 0.02^b	1.28 ± 0.02^b
Докозагексаеновая (22:6 n-3)	2.57 ± 0.03	2.28 ± 0.02^3	3.01 ± 0.02^b	2.84 ± 0.02^b
Сумма насыщенных	43.0 ± 0.3	46.0 ± 0.3^3	43.0 ± 0.3^b	43.0 ± 0.3^b
Сумма ненасыщенных	57.0 ± 0.2	54.0 ± 0.3^3	57.0 ± 0.3^b	57.0 ± 0.3^b
Индекс насыщенности	0.75 ± 0.02	0.82 ± 0.02^1	0.75 ± 0.02^a	0.75 ± 0.02^a
20:4 n-6 / 18:2 n-6	0.60 ± 0.02	0.55 ± 0.01^1	0.62 ± 0.02^b	0.61 ± 0.02^a
20:4 n-6 / 20:5 n-3	9.42 ± 0.08	9.00 ± 0.07^3	9.23 ± 0.05^a	9.20 ± 0.06^a

Примечание. Различия статистически достоверны при: ¹ – $p < 0.05$; ² – $p < 0.01$; ³ – $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ^a – $p < 0.05$; ^b – $p < 0.01$; ^b – $p < 0.001$ по сравнению со 2-й группой.

На основании вышеизложенного следует, что влияние стресса сопровождалось изменениями как в соотношении фосфолипидных фракций в мембране эритроцитов, так и в жирнокислотном составе ФХ и ФЭ как основных структурных единиц мембран. По нашему мнению, изменение жирнокислотного состава фосфолипидов может предполагать появление их модифицированных молекулярных видов. Возможно, это способствовало изменению размерных характеристик эритроцитов и снижению устойчивости клеток к гемолизирующему воздействию.

Было проведено сравнение размерных характеристик эритроцитов и значений ОФЛ и ХС

в их мембранах в 3-й и 4-й группах с соответствующими величинами во 2-й группе «стресс» (табл. 1). Так, введение липидного экстракта саргассума (3-я группа) и препарата сравнения Омега-3 (4-я группа) в период вертикальной фиксации сопровождалось снижением среднего диаметра и среднего объема эритроцитов по сравнению с соответствующими величинами при стрессе без препаратов. При этом величина СДЭ равнозначна в обеих группах снизилась на 9% ($p < 0.001$), а СОЭр – на 25–26% ($p < 0.001$). Осмотическая резистентность эритроцитов к снижению концентрации NaCl сохранялась на уровне контрольных величин и составляла

Таблица 4. Содержание основных видов жирных кислот в фосфатидилэтаноламине мембран эритроцитов крыс и их коррекция липидным экстрактом саргассума и Омега-3 при экспериментальном стрессе (% от суммы всех фракций, $M \pm m$)

Жирные кислоты	1-я группа контроль	2-я группа стресс	3-я группа стресс + саргассум	4-я группа стресс + Омега-3
Миристиновая (14:0)	1.27 ± 0.02	1.40 ± 0.02^3	1.20 ± 0.02^a	$1.22 \pm 0.01^{b,1}$
Пальмитиновая (16:0)	29.7 ± 0.5	31.0 ± 0.4^1	29.6 ± 0.5^1	29.8 ± 0.4^a
Стеариновая (18:0)	17.7 ± 0.4	18.2 ± 0.3	17.7 ± 0.4	18.0 ± 0.4
Пальмитолеиновая (16:1)	4.13 ± 0.04	4.85 ± 0.03^3	4.17 ± 0.02^b	4.50 ± 0.02^b
Олеиновая (18:1)	8.6 ± 0.3	9.5 ± 0.2^1	8.6 ± 0.3^a	8.9 ± 0.2
Линолевая (18:2 n-6)	8.6 ± 0.3	7.8 ± 0.2^1	8.5 ± 0.2^a	8.4 ± 0.2
Арахидоновая (20:4 n-6)	23.2 ± 0.4	22.0 ± 0.4^1	23.3 ± 0.4^a	22.9 ± 0.4
Линоленовая (18:3 n-3)	1.46 ± 0.02	1.35 ± 0.02^2	1.48 ± 0.01^b	1.39 ± 0.01^1
Эйкозапентаеновая (20:5 n-3)	1.60 ± 0.02	1.33 ± 0.01^3	1.63 ± 0.02^b	1.57 ± 0.01^b
Докозагексаеновая (22:6 n-3)	3.75 ± 0.03	2.57 ± 0.02^3	3.85 ± 0.02^b	3.74 ± 0.02^b
Сумма насыщенных	49.0 ± 0.2	51.0 ± 0.3^3	48.0 ± 0.2^b	49.0 ± 0.3^a
Сумма ненасыщенных	51.0 ± 0.3	49.0 ± 0.3^3	52.0 ± 0.3^b	51.0 ± 0.3^a
Индекс насыщенности	0.96 ± 0.01	1.00 ± 0.01^2	0.92 ± 0.01^b	0.96 ± 0.02^a
20:4 n-6 / 18:2 n-6	2.72 ± 0.03	2.82 ± 0.02^1	2.72 ± 0.03^a	2.74 ± 0.03^a
20:4 n-6 / 20:5 n-3,	14.5 ± 0.6	16.5 ± 0.7^1	14.3 ± 0.6^a	14.6 ± 0.5^a

Примечание. Различия статистически достоверны при: ¹ – $p < 0.05$; ² – $p < 0.01$; ³ – $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ^a – $p < 0.05$; ^b – $p < 0.01$; ^b – $p < 0.001$ по сравнению со 2-й группой.

в обеих группах $0.45 \pm 0.02\%$ в начале гемолиза и $0.35 \pm 0.01\%$ при его завершении. Эти значения статистически достоверно отличались от таковых во 2-й группе в среднем на 22% (начало гемолиза, $p < 0.001$) и 29% (завершение гемолиза, $p < 0.001$). Следует отметить равнозначное увеличение ОФЛ в 3-й и 4-й группах в среднем на 32% ($p < 0.001$). Уровень ХС в 3-й группе снизился на 21% ($p < 0.001$), а в 4-й группе – на 18% ($p < 0.01$). Коэффициент ХС/ОФЛ снизился в обеих опытных группах на 41% ($p < 0.001$).

При сравнении величин фосфолипидных фракций в мембранах эритроцитов крыс в 3-й и 4-й группах с соответствующими в группе

«стресс» следует отметить повышение уровня ФХ в среднем на 9% ($p < 0.01$) и 5% ($p < 0.05$) соответственно, а также ФЭ – равнозначно в среднем на 19% ($p < 0.01$) (табл. 2). Одновременно было выявлено снижение количества лизофракций: ЛФХ – на 11% ($p < 0.01$) и 14% ($p < 0.05$), ЛФЭ – на 17% ($p < 0.01$) и 13% ($p < 0.05$). Значение СМ снизилось на 12% ($p < 0.01$) и 7% ($p < 0.05$). В ряду метаболически активных фракций фосфолипидов следует отметить увеличение уровня ФС на 20% ($p < 0.01$) и 14% ($p < 0.01$) соответственно. Величина ФИ снизилась на 14% ($p < 0.05$) и 22% ($p < 0.001$), а ФК – на 8% ($p < 0.05$) и 5% ($p < 0.001$).

Введение липидного экстракта саргассума и Омега-3 сопровождалось общей тенденцией к восстановлению содержания жирных кислот в составе ФХ и ФЭ до контрольных величин. В то же время при сравнении со 2-й группой отмечались достоверные различия (табл. 3, 4). Так, в составе ФХ следует отметить снижение уровня миристиновой кислоты на 17% и 9% ($p < 0.01$ – 0.001), пальмитиновой кислоты на 5% ($p < 0.05$) и стеариновой кислоты на 5–7% ($p < 0.05$) (табл. 3). В ряду мононенасыщенных жирных кислот был снижен уровень пальмитолеиновой кислоты на 15–16% ($p < 0.001$) и олеиновой кислоты на 6% ($p < 0.05$). В то же время в обеих группах равнозначно возрос уровень линолевой кислоты (семейство $n-6$) на 6% ($p < 0.05$) и арахидоновой кислоты на 18% ($p < 0.01$). Среди ПНЖК семейства $n-3$ в составе ФХ было статистически достоверно увеличен уровень линоленовой кислоты в среднем на 14% ($p < 0.001$) при введении экстракта саргассума и на 12% ($p < 0.001$) при введении Омега-3. Отмечался равнозначный рост уровня эйкозапентаеновой кислоты на 15% ($p < 0.001$), тогда как содержание докозагексаеновой кислоты в составе ФХ возросло на 32% ($p < 0.001$) и 25% ($p < 0.001$) в 3-й и 4-й группах соответственно. Сумма насыщенных жирных кислот в обеих группах снизилась до 43%, а сумма ненасыщенных жирных кислот возросла до 57%, что обусловило снижение индекса насыщенности до 0.75.

В составе ФЭ эритроцитарных мембран крыс при введении препаратов отмечалась аналогичная направленность изменений величин жирных кислот, как и в составе ФХ (табл. 4). Сравнение полученных значений жирных кислот в составе ФЭ (3-я и 4-я группы) с таковыми величинами во 2-й группе (стресс) следует отметить снижение насыщенных жирных кислот: миристиновой – на 13–14% ($p < 0.001$), пальмитиновой – на 4% ($p < 0.05$) и стеариновой – на 2–3%. В ряду моноеновых жирных кислот значение пальмитолеиновой кислоты снизилось в обеих экспериментальных группах в среднем на 14% ($p < 0.001$), олеиновой кислоты – на 10% ($p < 0.05$) при введении экстракта саргассума и на 6% при введении Омега-3. Уровни линолевой кислоты (семейство $n-6$) увеличились при введении экстракта саргассума на 10% ($p < 0.001$), а при введении Омега-3 – на 7%. При этом содержание линоленовой кислоты в составе ФЭ достоверно возросло в 3-й группе на 10% ($p < 0.001$), а в 4-й группе – на 3%. При исследовании показателей жирных кислот семейства $n-3$ следует отметить увеличение эйкозапентаеновой кислоты на 23%

($p < 0.001$) в 3-й группе и на 18% ($p < 0.001$) в 4-й группе. Содержание докозагексаеновой кислоты наиболее значимо выросло при введении экстракта саргассума (на 50%, $p < 0.001$), тогда как при введении Омега-3 – на 46% ($p < 0.001$). Сумма насыщенных жирных кислот при введении экстракта саргассума снизилась до 48%, тогда как при введении Омега-3 – до 49%. Сумма ненасыщенных жирных кислот возросла в 3-й группе до 52%, а в 4-й группе – до 51%, в результате индекс насыщенности составил 0.92 и 0.96 соответственно. Сравнение содержания жирных кислот в составе ФЭ с соответствующими в контроле показало статистически достоверные отличия при введении Омега-3 в уровнях миристиновой кислоты (снижение на 6%, $p < 0.05$) и линоленовой кислоты (снижение на 5%, $p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Стрессовое воздействие (вертикальная фиксация крыс за дорсальную шейную складку) сопровождалось проявлениями основных атрибутов стресса (увеличение массы надпочечников, снижение массы селезенки, язвы на слизистой желудка), а также увеличением среднего объема и среднего диаметра эритроцитов, снижением осмотической резистентности к гемолизирующему воздействию. Эти нарушения обусловлены изменениями липидной составляющей мембран эритроцитов (перераспределение фосфолипидных фракций и жирных кислот в их составе). Известно, что при стрессе формируется дислипидемия [4], при которой повышается уровень ЛПНП в крови, что способствует встраиванию холестерина из ЛПНП в мембраны эритроцитов, приводящее к увеличению их размеров и изменению формы: происходит превращение двояковогнутых дисков в сфероциты и эхиноциты, что обуславливает их повышенный гемолиз [53].

Рост отношения ХС/ФЛ при стрессе приводит к изменению текучести липидной фазы [54]. Учитывая асимметрию структуры биомембран, мы провели расчет соотношения ФХ/СМ (наружный монослой) и обнаружили снижение этого значения, что также подтверждает увеличение микровязкости [55]. Расчет отношения величин ЛФХ/ФХ показал достоверное его увеличение в эритроцитарных мембранах этой группы животных. Данный факт можно расценить как следствие активации фосфолипазных реакций, сопровождающихся накоплением лизоформ фосфолипидов. Следует отметить модификацию фосфолипидного матрикса и во внутреннем монослое мембранного бислоя эритроцитов, что

свидетельствует о разбалансировке липидной составляющей и возникновении в нем структурно-функциональных нарушений. Подтверждением является расчет коэффициента асимметрии $(\Phi\Theta + \Phi\text{С}) / (\Phi\text{Х} + \text{СМ})$ (отношение суммы фосфолипидов с меньшей насыщенностью к сумме фосфолипидов с большей насыщенностью), который показал его снижение при стрессе у крыс. При расчете коэффициента окисляемости, который характеризует отношение легкоокисляемых фосфолипидов к трудноокисляемым фосфолипидам $(\Phi\text{К} + \Phi\text{С} + \Phi\Theta + \Phi\text{И}) / (\Phi\text{Х} + \text{СМ})$, отмечалось его снижение, что является критерием повышения жесткости мембраны [56]. Также известно, что снижение величин метаболически активных фракций ($\Phi\Theta$, $\Phi\text{С}$), необходимых для функционирования мембраносвязанных ферментов (Na^+ , K^+ -АТФ-аза, ферменты дыхательной цепи митохондрий и др.), сопровождается снижением транспортной функции и энергетического обмена [56]. Повышение уровня $\Phi\text{К}$ свидетельствует также об активации специфических фосфолипаз, так как эта структура является основой для синтеза $\Phi\text{Х}$ и $\Phi\Theta$, значения которых были снижены. При исследовании жирнокислотных спектров в составе основных структурных фосфолипидов мембран ($\Phi\text{Х}$ и $\Phi\Theta$) отмечалась общая закономерность: увеличение индекса насыщенности, который обусловлен снижением величин полиненасыщенных жирных кислот (семейств n-6 и n-3) и повышением суммы насыщенных жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой и стеариновой). Эти изменения являются результатом угнетения активности ферментов элонгаз и десатураз, которое тормозит процессы синтеза полиненасыщенных жирных кислот. Данное заключение было сделано на основе расчета коэффициентов соотношения величин жирных кислот, которые могут характеризовать активность этих ферментов (табл. 3, 4). Так, соотношение величин 20:4 n-6 / 18:2 n-3 характеризует $\Delta 6$ - и $\Delta 5$ -десатуразу и элонгазу, а соотношение величин 20:4 n-6 / 20:5 n-3 характеризует $\Delta 5$ -десатуразу [57]. Также следует отметить рост значений мононенасыщенных жирных кислот (пальмитолеиновой и олеиновой), т.е. воздействие стресса сопровождается появлением новых молекулярных видов фосфолипидов. Нарушения в структуре фосфолипидов мембран эритроцитов и их соотношение в фосфолипидной составляющей при стрессе может являться основополагающим фактором в становлении стрессовых заболеваний [58]. Полученные результаты определяют необходимость профилактики стресса с использованием БАВ

природного происхождения. К ним следует отнести липидный экстракт саргассума, содержащий в своем составе широкий спектр БАВ (фосфолипидные классы, насыщенные, мононенасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты семейств n-6 и n-3) и препарат сравнения Омега-3 (моноеновые, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая жирные кислоты), которые могут обеспечить восстановление нарушенных мембранных структур эритроцитов, т.е. входящие в его состав липидные фракции могут активно вовлекаться в процесс регуляции физиологических и биохимических реакций организма.

Известно, что ценность БАВ из морских гидробионтов обусловлена, прежде всего, свойствами входящих в них ПНЖК семейства n-3. Применение рациона с морскими липидами, по-видимому, приводит к встраиванию ПНЖК в фосфолипидные лизоформы и их восстановлению в главные структурные компоненты биомембран – $\Phi\text{Х}$ и $\Phi\Theta$. В результате отмечается увеличение значений этих классов фосфолипидов по сравнению с соответствующими величинами в группе «стресс» и снижение уровней ЛФХ и ЛФЭ. Кроме того, ПНЖК способны снижать активность фосфолипаз [59]. Так как ПНЖК взаимодействуют с ХС с участием фермента ЛХАТ (лецитин-холестерин-ацилтрансфераза), то происходит его утилизация из мембран в виде эфиров ХС. Также в результате активации реакций этерификации происходит преобразование ТАГ в фосфолипиды, что нормализует соотношение холестерин/фосфолипиды. В обеих группах крыс отмечалось снижение содержания СМ, в результате чего возросло соотношение $\Phi\text{Х}/\text{СМ}$. Снижение уровня $\Phi\text{К}$, по нашему мнению, обусловлено синтезом фосфолипидных классов, в частности $\Phi\text{Х}$ и $\Phi\Theta$. Аналогичная направленность изменений в составе фосфолипидов в мембранах эритроцитов отмечалась и при введении препарата сравнения Омега-3. Следовательно преобразования в структурной организации мембран отразились на восстановлении размерных характеристик эритроцитов и осмотической устойчивости до контрольных значений в обеих группах с применением препаратов.

Сравнивая значения исследованных физиологических параметров эритроцитов и биохимических показателей их мембран при введении липидного экстракта саргассума и препарата сравнения Омега-3 в условиях стресса отмечались наиболее значимые эффекты у липидного экстракта саргассума. Известно, что в состав препарата Омега-3, выделенного из ценных пород рыб, преимущественно входят эйкозапентаеновая

и докозагексаеновая жирные кислоты, а также моновенасыщенные жирные кислоты. В составе липидного экстракта саргассума присутствует 5 фракций нейтральных липидов (МАГ, ДАГ, ТАГ, СЖК, ЭХС) как метаболитов для биохимических реакций, 3 фракции фосфолипидов (ФЭ, ФГ, ФИ), жирные кислоты семейства n-3 (α -линоленовая, стеарионовая и эйкозапентаеновая, докозагексаеновая), n-6 (линолевая, эйкозатриеновая и арахидоновая) и моновенасыщенные жирные кислоты (пальмитолеиновая, цис-вакценовая, олеиновая). Следует отметить, что в липидном экстракте саргассума и в препарате сравнения Омега-3 содержание эссенциальных жирных кислот составляло 300 мг в 1 г общих липидов. Однако более широкий спектр липидных структур в составе экстракта саргассума, по-видимому, мог способствовать более высокой биологической активности по сравнению с таковой у препарата Омега-3.

На основании полученных результатов можно предположить, что изучение экстрактов, в состав которых входят «морские» липиды, может служить перспективным направлением для исследования морских гидробионтов с целью получения препаратов со стресс-протекторными и липид-корректирующими свойствами.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ТОИ ДВО РАН по теме «Эколого-биогеохимические процессы в морских экосистемах: роль природных и антропогенных факторов» (0211-2021-0014). Регистрационный № 121-21500052-9.

Соответствие принципам этики. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены и одобрены Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 20 от 15.09.2022 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Селье Г. 1960. *Очерки об адаптационном синдроме*. М.: Медгиз. 254 с.
2. Селье Г. 1982. *Стресс без дистресса*. М.: Прогресс. 124 с.
3. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. 2008. *Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания*. Новосибирск: АРТА. 284 с.
4. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. 2016. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе. *Гиг. санитар.* **7**, 678–681.
5. Хадарцев А.А., Наумова Э.М., Валентинов Б.Г., Грачев Р.В. 2022. Эритроциты и окислительный стресс. *Вестн. нов. мед. технол.* **29** (1), 93–100.
6. Caro A.A., Cederbaum A.I. 2004. Oxidative stress, toxicology and pharmacology of CYP2E1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44**, 27–42.
7. Миндукшев И.В., Судницына Ю.С., Скверчинская Е.А., Андреева А.Ю., Добрылко И.А., Сенченкова Е.А., Кривченко А.И., Гамбарян С.П. 2019. Ингибирование реакций эритроцитов на осмотический, аммонийный и окислительный стресс в условиях гипоксии. *Биол. мембраны*. **36** (5), 358–372.
8. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Момот Т.В. 2017. Изменение липидного состава мембран эритроцитов у водолазов, работающих на малых и средних глубинах. *Мед. труда и пром. экол.* **3**, 41–46.
9. Orrico F., Laurance S., Lopez A.C., Lefevre S.D., Thomson L., Moller M.N., Ostuni M.A. 2023. Oxidative stress in healthy and pathological red blood cells. *Biomolecules*. **13**, 1262.
10. Hashemi S., Amani R., Cheraghian B., Neamatpour S. 2020. Stress and anxiety levels are associated with erythrocyte fatty acids content in young women. *Iran J. Psychiatry*. **15** (1), 47–54.
11. Horobin J.T., Sabapathy S., Simmonds M.J. 2020. Red blood cell tolerance to shear stress above and below the subhemolytic threshold. *Biomech. Model. Mechanobiol.* **19**, 851–860.
12. Besedina N.A., Skverchinskaya E.A., Shmakov S.V., Ivanov A.S., Mindukshev L.V., Bukatin A.S. 2022. Persistent red blood cells retain their ability to move in microcapillaries under high levels of oxidative stress. *Commun. Biol.* **5**, 659.
13. Раджабова З.Г., Забелинский С.А., Чеботарева М.А., Шуколюкова Е.П., Кличханов Н.К., Кривченко А.И. 2020. Влияние умеренной гипотермии на фосфолипидный состав мембран эритроцитов крыс. *Биол. мембраны*. **37** (2), 134–148.
14. Забелинский С.А., Чеботарева М.А., Шуколюкова Е.П., Никитина Е.Р., Кривченко А.И. 2019. Жирнокислотный состав фосфолипидов эритроцитов крысы при стрессе (длительное плавание). *Журн. эволюц. биохимии и физиол.* **55** (1), 37–42.
15. Гасасаева Р.М., Каяева А.А., Эседулаева З.Г. 2014. Изменение состояния мембран эритроцитов у студентов, переживающих экзаменационный стресс. *Успехи соврем. естествозн.* **8**, 15–17.
16. Lopes D., Rey F., Leal M.S., Lillebø A.I., Calado R., Domingues M.R. 2021. Bioactivities of lipid extracts and complex lipids from seaweeds: Current knowledge and future prospects. *Mar. Drugs*. **19**, 686.

17. Wang B., Chen Z.-S., Jiang Z., Zhang Z. 2023. Editorial: Biological macromolecules from marine organisms: Isolation, characterization and pharmacological activities. *Front. Mar. Sci.* **10**, 1326516.
18. Cheng-Sánchez I., Sarabia F. 2018. Chemistry and biology of bioactive glycolipids of marine origin. *Mar. Drugs*. **16** (9), 294–346.
19. Agatonovic-Kustrin S., Kustrin E., Gegechkori V., Morton D.W. 2019. High-performance thin-layer chromatography hyphenated with microchemical and biochemical derivatizations in bioactivity profiling of marine species. *Mar. Drugs*. **17**(3), 148–160.
20. Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Петров Н.А., Макаренко М.А., Саркисян В.А., Мазо В.К., Коденцова В.М., Бессонов В.В., Кочеткова А.А. 2015. Физиолого-биохимическая оценка обогащения рациона крыс докозагексаеновой кислотой и астаксантином. *Вопр. питания*. **5**, 46–55.
21. Alquraan L., Alzoubi K., Hammad H., Rababah S.Y., Mayyas F. 2019. Omega-3 fatty acids prevent post-traumatic stress disorder-induced memory impairment. *Biomolecules*. **9**, 100.
22. Ламажапова Г.П., Сынгеева Э.В., Козлова Т.С., Дашиева Ж.С. 2017. Разработка липосомальной формы концентрата полиненасыщенных жирных кислот: возможные пути использования при производстве функциональных пищевых продуктов. *Вопр. питания*. **86** (1), 76–84.
23. Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. 2020. Влияние липидного комплекса экстракта из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kanno et Matsubara) Makienko на биохимические показатели плазмы крови и мембран эритроцитов при экспериментальном стрессе. *Биол. моря*. **46** (4), 1–8.
24. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. 2022. Влияние липидного комплекса из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* на метаболические реакции печени при экспериментальном токсическом гепатите. *Изв. РАН. Сер. биол.* **1**, 5–14.
25. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Лесникова Л.Н., Мерзляков В.Ю. 2019. Липидный состав и мембранопротекторное действие экстракта из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* (L.). *Химия растит. сырья*. **3**, 41–51.
26. Dhahri M. 2023. *Cystoseira myrica*: From beach-cast seaweed to fucoidan with antioxidant and anticoagulant capacity. *Front. Mar. Sci.* **10**, 408.
27. Jaworowska A., Murtaza A. 2023. Seaweed derived lipids are a potential anti-inflammatory agent: A review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. **20**, 730.
28. Fogacci F., Strocchi E., Veronesi M., Borghi C., Cicero A.F.G. 2020. Effect of Omega-3 polyunsaturated fatty acids treatment on lipid pattern of HIV patients: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Mar. Drugs*. **18**, 292.
29. Bernstein A.M., Ding E.L., Willett W.C., Rimm E.B. 2012. A meta-analysis shows that docosahexaenoic acid from algal oil reduces serum triglycerides and increases HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in persons without coronary heart disease. *J. Nutr.* **142**, 99–104.
30. Terme N., Boulho R., Kucma J.-P., Bourgoignon N., Bedoux G. 2018. Radical scavenging activity of lipids from seaweeds isolated by solid-liquid extraction and supercritical fluids. *OCL*. **25** (5), 505.
31. Титлянов Э.А., Титлянова Т.В. 2012. *Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование*. Владивосток: Дальнаука. 377 с.
32. Хотимченко С.В. 2003. *Липиды морских водорослей-макрофитов и трав: структура, распределение, анализ*. Владивосток: Дальнаука. 234 с.
33. Sanina N.M., Goncharova S.N., Kostetsky E.Y. 2004. Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes. *Phytochemistry*. **65** (6), 721–730.
34. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н. 2021. Липидный комплекс из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh как гиполипидемическое и антиоксидантное средство при высокожировой диете в эксперименте. *Химия растит. сырья*. **4**, 381–392.
35. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Лесникова Л.Н., Мерзляков В.Ю., Момот Т.В. 2019. Сравнительное исследование липидного состава, содержания полифенолов и антирадикальной активности некоторых представителей морских водорослей. *Физиол. растений*. **66** (6), 452–460.
36. Sanina N.M., Goncharova S.N., Kostetsky E.Y. 2008. Seasonal changes of fatty acid composition and thermotropic behavior of polar lipids from marine macrophytes. *Phytochemistry*. **69**, 1517–1527.
37. Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem. Physiol.* **37** (8), 911–917.
38. Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Фоменко С.Е., Рахманов Ю.А. 2005. Влияние стресса на состояние липидного и углеводного обмена печени, профилактика. *Гиг. санитар.* **5**, 17–21.
39. Новгородцева Т.П., Караман Ю.К., Бивалькевич Н.В., Жукова Н.В. 2010. Использование биологически активной добавки к пище на основе липидов морских гидробионтов в эксперименте на крысах. *Вопр. питания*. **79** (2), 24–27.
40. Саратиков А.С., Ратькин А.В., Фролов В.Н., Чуралин В.С. 2004. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на токсичность циклофосфана. *Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии*. **2**, 43–47.

41. Меньшиков В.В. 1987. *Лабораторные методы исследования в клинике*. Справочник. М.: Медицина. 368 с.
42. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* **226**, 497–509.
43. Svetashev V.I., Vaskovsky V.E. 1972. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *J. Chromatogr.* **67** (2), 376–378.
44. Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. 1967. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids. In: *Lipid Chromatographic Analysis*. Eds Marinetti G.V. New York: Marcel Dekker. **1**, p. 99–162.
45. Wagner H., Horhammer L., Wolff F. 1961. Thin-layer chromatography of phosphatides and glycolipides. *Biochem. Z.* **334**, 175–184.
46. Кейтс М. 1975. *Техника липидологии*. М.: Мир. 221 с.
47. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. 1975. An universal reagent for phospholipid analysis. *J. Chromatogr.* **114** (1), 129–141.
48. Amenta J.S. 1964. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.* **5** (2), 270–272.
49. Carreau J.P., Dubacq J.P. 1978. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *J. Chromatogr.* **151** (3), 384–390.
50. Christie W.W. 1988. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography: A reappraisal. *J. Chromatogr.* **447**, 305–314.
51. Adibhatla R.M., Hatcher J.F. 2008. Phospholipase A2, reactive oxygen species and lipidperoxidation in CNS pathologies. *BMB reports.* **41**, 560–567.
52. Альбертс Б., Джонсон А., Льюис Д., Рэфф М., Робертс К., Уолтер П. 2013. *Молекулярная биология клетки*. М.-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований. 808 с.
53. Leclercq L. 2016. Interactions between cyclodextrins and cellular components: Towards greener medical applications? *Beilstein. J. Org. Chem.* **12**, 2644–2662.
54. Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.Н., Богданова О.В., Дмитриева Л.А., Шулунов А.А. 2017. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы). *ISO4.* **2** (5), 43–49.
55. Broncel M., Chojnowska-Jezierska J., Koter-Mikhalak M., Franiak I. 2005. Erythrocyte fluidity in patients with hyperlipidemia during statins therapy. *Pol. Arch. Med. Wewn.* **113** (6), 531–535.
56. Шевченко О.Г., Шишкина Л.Н. 2011. Сравнительный анализ состава фосфолипидов эритроцитов крови различных видов мышевидных грызунов. *Журн. эволюц. биохимии и физиол.* **47** (2), 151–156.
57. Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Светашев В.И. 2002. *Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях*. Владивосток: Дальнаука. 296 с.
58. Титов В.Н. 2002. *Атеросклероз как патология полиеновых жирных кислот. Биологические основы теории атерогенеза*. М.: Фонд «Клиника XXI века». 495 с.
59. Asztalos I.B., Gleason J.A., Sever S., Gedik R., Asztalos B.F., Horvath K.V. 2016. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: A randomized clinical trial. *Metabolism.* **65** (11), 1636–1640.

Membrane-protective Properties of Lipid Extract from Marine Brown Alga *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh under Experimental Stress Conditions

N. F. Kushnerova^{1, *}, S. E. Fomenko¹, V. G. Sprygin¹, T. V. Momot²

¹*Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, 690041 Russia*

²*Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University),
Moscow, 119991 Russia*

*e-mail: natasha50@mail.ru

The effect of lipid extract isolated from the thallus of the marine brown alga *Sargassum pallidum* and a commercial reference preparation "Omega-3" on biochemical parameters of rat erythrocyte membranes under experimental stress was studied. Stress exposure (vertical fixation by the dorsal neck fold for 24 h) was accompanied by an increase in erythrocyte diameter and average volume, as well as a decrease in osmotic resistance to changes of NaCl concentration. The erythrocyte membrane exhibited an increase in cholesterol levels and alterations in the quantitative characteristics of phospholipid classes and their constituent fatty acids, which resulted in the appearance of modified molecular fractions of phospholipids. The correction of these changes was achieved through the administration of the lipid extract of *S. pallidum* and the reference preparation "Omega-3". The *S. pallidum* extract demonstrated comparable biological efficiency to the reference preparation "Omega-3", yet exhibited superior efficacy in restoring the dimensional characteristics of erythrocytes, as well as the ratio of phospholipid fractions in erythrocyte membranes and the values of their fatty acid composition. The pharmacological effect of the *S. pallidum* lipid extract is believed to be due to a wider range of neutral and phospholipid classes, as well as polyunsaturated fatty acids of n-3 and n-6 families, which provide effective repair of erythrocyte membranes. We believe that *S. pallidum* thallus can be used as a raw material for the preparations with stress-protective and lipid-correcting properties.

Keywords: *Sargassum pallidum*, stress, erythrocytes, cholesterol, phospholipids, fatty acids