



Кушнерова Н.Ф.<sup>1</sup>, Рахманин Ю.А.<sup>2</sup>, Момот Т.В.<sup>3</sup>, Михайлова Р.И.<sup>2</sup>, Рыжова И.Н.<sup>2</sup>,  
Фоменко С.Е.<sup>1</sup>, Спрыгин В.Г.<sup>1</sup>, Другова Е.С.<sup>1</sup>, Мерзляков В.Ю.<sup>1</sup>, Лесникова Л.Н.<sup>1</sup>,  
Федянина Л.Н.<sup>3</sup>

## Оценка изменений биохимических показателей плазмы крови при гиперхолестеринном рационе с высокожировой нагрузкой

<sup>1</sup>ФГБУН «Тихоокеанский океанологический институт имени В.И. Ильичёва» ДВО РАН, 690041, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, 690950, Владивосток, Россия

**Введение.** Выполнено исследование липидного состава плазмы крови крыс при воздействии гиперхолестеринного рациона с высокожировой нагрузкой. Проведена профилактика нарушений биохимических показателей плазмы крови липидным комплексом из туники морского гидробионта *Halosynthia aurantium*.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводили на беспородных крысах-самцах массой тела  $200 \pm 3$  г. Экспериментальная модель гиперхолестеринного рациона с высокожировой нагрузкой с развитием дислипидемии была поставлена путём использования гипержировой диеты, состоящей из 2% холестерина и 20% говяжьего сала от общего состава рациона. Животные были разделены на 3 группы по 10 крыс в каждой: 1-я группа — контроль (стандартный рацион), 2-я группа — дислипидемия (гиперхолестеринный рацион с высокожировой нагрузкой), 3-я группа — дислипидемия + липидный комплекс асцидии.

**Результаты.** Показано, что влияние рациона сопровождалось ростом количества общих липидов в плазме крови крыс, холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), а также снижением общих фосфолипидов и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), что является показателем формирования дислипидемии. Увеличилось количество лизофракций фосфолипидов, что обусловлено активацией фосфолипаз. Снизилось количество эфиров жирных кислот и холестерина, что свидетельствует об угнетении процессов этерификации. Произошла разбалансировка в фосфолипидном спектре плазмы крови: снизилось количество метаболически активных фракций, необходимых для функционирования мембраносвязанных ферментов. Введение в рацион липидного комплекса из экстракта асцидии пурпурной сопровождалось выраженным профилактическим действием, которое проявлялось в нормализации исследованных биохимических параметров. Липидный комплекс, содержащий широкий спектр «морских» фосфолипидов и полиненасыщенных жирных кислот вида n-3, является важной основой для применения в качестве профилактического средства в условиях гиперхолестеринного рациона с высокожировой нагрузкой.

**Заключение.** Применение липидного комплекса, выделенного из туники асцидии пурпурной, может быть полезным и перспективным при дислипидемии и гиперхолестеринемии, что позволит проводить эффективную профилактику нарушений метаболических реакций при воздействии гиперкалорийного питания.

**Ключевые слова:** плазма крови; общие липиды; холестерин; фосфолипиды; нейтральные липиды; липидный комплекс; *Halosynthia aurantium*

**Для цитирования:** Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А., Момот Т.В., Михайлова Р.И., Рыжова И.Н., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н., Федянина Л.Н. Оценка изменений биохимических показателей плазмы крови при гиперхолестеринном рационе с высокожировой нагрузкой. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (6): 617–622. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-6-617-622>

**Для корреспонденции:** Кушнерова Наталья Федоровна, доктор биол. наук, профессор, зав. лаб. биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, 690041, Владивосток. E-mail: natasha50@mail.ru

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование:** Исследование выполнено за счёт бюджетных средств по программе: регистрационный номер АААА-А17-117030110038-5.

**Участие авторов:** Кушнерова Н.Ф. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Рахманин Ю.А. — редактирование; Момот Т.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста; Михайлова Р.И., Рыжова И.Н. — сбор литературных данных; Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Лесникова Л.Н., Федянина Л.Н. — сбор и обработка материала; Мерзляков В.Ю. — сбор и обработка материала, статистическая обработка. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Поступила 10.12.2020 / Принята к печати 10.03.2021 / Опубликована 28.06.2021

Natalya F. Kushnerova<sup>1</sup>, Yury A. Rakhmanin<sup>2</sup>, Tatiana V. Momot<sup>3</sup>, Rufina I. Mikhailova<sup>2</sup>,  
Irina N. Ryzhova<sup>2</sup>, Svetlana E. Fomenko<sup>1</sup>, Vladimir G. Sprygin<sup>1</sup>, Elena S. Drugova<sup>1</sup>,  
Valeriy Yu. Merzliakov<sup>1</sup>, Larisa N. Lesnikova<sup>1</sup>, Lydmila N. Fedyanina<sup>3</sup>

## Assessment of changes in blood plasma biochemical indices at hypercholesterol diet with a high fat load

<sup>1</sup>V.I. Iliev Pacific Oceanological Institute FEBRAS, Vladivostok, 690041, Russian Federation;

<sup>2</sup>Center of strategic planning and management of medicobiological risks to health, Moscow, 119991, Russian Federation;

<sup>3</sup>Far Eastern Federal University, School of biomedicine, Vladivostok, 690950, Russian Federation

**Introduction.** It was studied the lipid composition of the blood plasma of rats under the impact of a hyper cholesterol diet with a high fat load. It was carried out the prevention of disturbances in blood plasma biochemical parameters with a lipid complex from the tunic of the marine hydrobiont *Halosynthia aurantium*.

**Materials and methods.** The experiment was carried out with outbred male rats weighing  $200 \pm 3$  g. The experimental model of a hyper cholesterol diet with a high fat load with the development of dyslipidemia was set up by feeding the animals with a high fat diet consisting of 2% cholesterol and 20% beef fat from the total diet. The animals were divided into the following groups of 10 rats each: group 1 - control (standard diet), group 2 - dyslipidemia (hypercholesterol diet with high fat load), group 3 - dyslipidemia + lipid complex from ascidia.

**Results.** It was shown that the influence of the diet was accompanied by an increase in the amount of total lipids in the blood plasma of rats, cholesterol, low-density lipoproteins (LDL), as well as a decrease in total phospholipids and high-density lipoproteins (HDL), which is considered as an indicator of the formation of dyslipidemia. The contents of phospholipid lysofractions increased due to the activation of phospholipases. The amount of fatty acid esters and cholesterol esters decreased, which indicates the inhibition of esterification processes. The imbalance in the phospholipid spectrum of blood plasma occurred: the amount of metabolically active fractions required for the functioning of membrane-bound enzymes decreased. The addition of a lipid complex from the tunic of ascidian purple into the diet was accompanied by a pronounced prophylactic effect, which manifested itself in the normalization of the studied biochemical parameters. The lipid complex containing a wide range of "sea" phospholipids and polyunsaturated fatty acids of the n-3 type is an important basis for application as prophylactic in the conditions of a hypercholesterol diet with a high-fat load.

**Conclusion.** Application of the lipidic complexes containing the "sea" lipids allocated from a tunic of the ascidian purple can be useful and perspective at a dyslipidemia and a hypercholesterolemia that will allow to carry out effective prevention of violations of metabolic reactions at influence of hyper high-calorie food.

**Keywords:** blood plasma; total lipids; cholesterol; phospholipids; neutral lipids; lipid complex; *Halocynthia aurantium*

**For citation:** Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A., Momot T.V., Mikhailova R.I., Ryzhova I.N., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Drugova E.S., Merzliakov V.Yu., Lesnikova L.N., Fedyanina L.N. Assessment of changes in blood plasma biochemical indices at hypercholesterol diet with a high fat load. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2021; 100 (6): 617-622. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-6-617-622> (In Russ.)

**For correspondence:** Natalia F. Kushnerova, MD, Ph.D., DSci., professor, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute Far East Branch of RAS, Vladivostok, 690041, Russian Federation. E-mail: natasha50@mail.ru

#### Information about the authors:

Kushnerova N.F., <https://orcid.org/0000-0002-6476-0039>; Rakhmanin Yu.A., <https://orcid.org/0000-0003-2067-8014>; Momot T.V., <https://orcid.org/0000-0003-3873-0343>; Mikhailova R.I., <https://orcid.org/0000-0001-7194-9131>; Ryzhova I.N., <https://orcid.org/0000-0003-0696-5359>; Fomenko S.E., <https://orcid.org/0000-0002-0261-0190>; Merzliakov V.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-9536-3247>; Fedyanina L.N., <https://orcid.org/0000-0002-9849-8358>; Sprygin V.G., <https://orcid.org/0001-7400-909X>; Lesnikova L.N., <https://orcid.org/0000-0003-4187-230X>; Drugova E.S., <https://orcid.org/0000-0002-7472-5958>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Contributions of the authors:** *Kushnerova N.F.* – the concept and design of the study, writing a text; *Rakhmanin Yu.A.* – editing; *Momot T.V.* – the concept and design of the study, collection and processing of material, writing a text; *Mikhailova R.I., Ryzhova I.N.* – collection of literature data; *Fomenko S.E., Sprygin V.G., Drugova E.S., Lesnikova L.N., Fedyanina L.N.* – collection and processing of material; *Merzliakov V.Yu.* – collection and processing of material, statistical processing. *All co-authors* – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Received: December 10, 2021 / Accepted: March 03, 2021 / Published: June 28, 2021

## Введение

В настоящее время широко распространено среди населения нерациональное питание из-за избыточного потребления животного жира с высоким содержанием холестерина, что способствует развитию дислипидемии (ДЛП) [1]. При этом формируются заболевания, представленные не только атеросклерозом и ишемическими проявлениями, но и ожирением с метаболическими нарушениями. Высокожировой рацион является фактором риска развития заболеваний сердечно-сосудистой, гепатобилиарной систем, желудочно-кишечного тракта, причиной запуска в организме каскада нейроэндокринных и иммунометаболических адаптационных перестроек. Одной из причин также является малоподвижный образ жизни, частые стрессы, злоупотребление алкоголем и др. ДЛП страдает 65,2% мужчин и 62,1% женщин [2].

Коррекция ДЛП остаётся актуальной проблемой современной медицины. При ДЛП рекомендовано применение различных синтетических липид-снижающих препаратов. К таким средствам относятся статины, являющиеся ингибиторами ключевого фермента биосинтеза холестерина – ГМГ-КоА-редуктазы [3]. Основным недостатком эффективных гиполипидемических препаратов является их высокая стоимость и наличие в ряде случаев противопоказаний. При длительном применении, а также при использовании в больших дозах они способны вызывать ряд достаточно серьёзных неблагоприятных побочных эффектов, поэтому отдельным группам пациентов эти лекарственные средства противопоказаны. В связи с этим актуальным является поиск их альтернативы или замены немедикаментозными гиполипидемическими средствами на основе природного сырья, в частности биологически активными веществами из морских гидробионтов. На фоне истощения многих наземных растений, содержащих биологически активные вещества, использование неисчерпаемого источника достаточно дешёвых непищевых морских гидробионтов с биологически активными соединениями, характеризующимися химическим разнообразием и широкой гаммой физиологической активности, имеет большое значение для отечественной медицинской науки. В настоящее время изучаются препараты, получаемые из морских водорослей [4, 5], голотурий [6], полисахаридов асцидий [7], гепатопанкреаса камчатского краба [8] и других гидробионтов [9].

Наряду с традиционными объектами морского промысла (рыбы, моллюски, ракообразные, морские млекопитающие) большое значение придаётся новым объектам лова – гидробионтам непищевого назначения, к числу которых относится асцидия пурпурная *Halocynthia aurantium* (Pallas). Эта форма асцидий широко распространена в дальневосточных и арктических морях на глубине от 4 до 400 м. Размерный состав асцидии пурпурной залива Петра Великого Японского моря включает особи длиной от 6,5 до 27,5 см. Весовой состав представлен особями массой от 52 до 950 г. Толщина кожно-мышечного мешка от 2,4 до 5 мм [10]. Вещества, отвечающие за биологическое действие извлечений из асцидии, сконцентрированы преимущественно в её тунике. Водно-спиртовой экстракт (70%) из туники показал выраженные фармакологические свойства при интоксикации четырёххлористым углеродом [11], этиловым спиртом [12], стрессовом воздействии [13] и как противоопухолевые средства [14]. Экстракт из туники асцидии пурпурной (ТУ 9169-007-20783642-96) представляет собой жидкость светло-коричневого цвета со специфическим запахом исходного сырья и солоноватым вкусом. Известно, что в водно-спиртовом экстракте из туники обнаружено высокое содержание «морских» фосфолипидов, содержащих в своём составе преимущественно n-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) [11]. Липидный комплекс, выделенный из экстракта асцидии, представлен следующими фракциями фосфолипидов: фосфатидилхоллин – 52%, фосфатидилэтаноламин – 5,26%, фосфатидилсерин – 11,73%, сфингомиелин – 6,11%, фосфатидилинозит – 4,79%, дифосфатидилглицерин – 10%. В составе нейтральных липидов присутствуют триацилглицерины – 26,97%, диацилглицерины – 9,1%, свободные жирные кислоты – 16,98%, эфиры жирных кислот – 7,26%, жирные альдегиды – 5,74%, холестерин – 4,35%, эфиры холестерина – 5,71%. В ряду жирных кислот присутствуют пальмитиновая (16:0) – 23,8%, стеариновая (18:0) – 17,37%, пальмитолеиновая (16:1 n-9) – 5,7%, олеиновая (18:1 n-9) – 4,89%, линолевая (18:2 n-6) – 1,13%, эйкозатриеновая (20:3 n-6) – 1,20%, арахионовая (20:4 n-6) – 4,69%, α-линоленовая (18:3 n-3) – 15,85%, эйкозапентаеновая (20:5 n-3) – 10,98%, докозагексаеновая (22:6 n-3) – 5,76% жирные кислоты. Важно отметить, что в липидном комплексе содержит-

ся достаточно большое количество полиненасыщенных жирных кислот вида n-3 – 32,59%. Многокомпонентный состав липидного комплекса, выделенного из экстракта туники асцидии, обеспечивает широкий спектр его фармакологической активности, включающий регулирующее влияние на многочисленные нарушения гемостаза. В клинических и экспериментальных исследованиях препараты на основе липидов из морских гидробионтов обнаруживают гиполипидемическое действие, что актуально при несбалансированном питании. Однако их профилактическая роль изучена недостаточно.

Цель данной работы – оценка изменений биохимических показателей плазмы крови при влиянии гиперхолестеринового рациона с высокожировой нагрузкой и изучение возможности профилактики нарушений липидным комплексом из туники морского гидробионта асцидии пурпурной.

## Материалы и методы

Образцы асцидии пурпурной (*Halocynthia aurantium*) собирали в летний период в б. Западная, о-в Попова, зал. Петра Великого (Японское море), тщательно очищали от эпифитов и частиц песка, тунику отделяли от внутренностей и подошвы, промывали сначала морской, затем дистиллированной водой и сушили при температуре, не превышающей 50 °С. Выборка особей составляла 20 единиц. Высушенную тунику измельчали с помощью лабораторной мельницы до частиц размером 0,5–1 мм и экстрагировали 70% этиловым спиртом в соотношении 1 : 2 (по объёму сырья : экстрагент). Данный способ переработки морских гидробионтов позволяет извлекать основную часть липидного комплекса без полисахаридной составляющей [15].

Для выделения липидного комплекса водно-спиртовой экстракт туники асцидии предварительно освобождали от спирта путем упаривания на роторном испарителе при температуре не выше 37 °С. Полученную маслообразную массу экстрагировали смесью хлороформ : метанол (1 : 2 по объёму) в соответствии с общепринятым методом для выделения липидов из растительного и животного сырья [16]. Для разделения фаз к экстракту добавляли раствор хлористого натрия (0,73%) в количестве 20% от объёма. После разделения фаз хлороформный слой, содержащий липиды, отделяли на делительной воронке и упаривали на роторном испарителе до отсутствия запаха хлороформа. Общее содержание липидов определяли весовым методом.

Эксперимент проводили на беспородных белых крысах-самцах массой тела  $200 \pm 3$  г, полученных из питомника филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Исследования на животных выполнены в соответствии с приказом Минздравоохранения России от 01.04.2016 г. № 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. Во время этого периода осуществляли ежедневный осмотр внешнего состояния крыс, и в эксперимент были взяты животные без признаков отклонений в состоянии здоровья. Животных содержали по 2 особи в пластиковых клетках на подстилке из опилок при 20–22 °С и режиме освещения 12/12 ч. После прохождения карантина крыс произвольно распределяли на интактных (контроль), потреблявших на протяжении всего эксперимента сбалансированный общевиварный базовый стандартный рацион, и крыс, подвергавшихся моделированию алиментарной дислипидемии. Наиболее распространённой является модель экспериментальной гиперхолестеринемии с высокожировой нагрузкой, вызванной путём скармливания животным диеты с избыточным количеством холестерина и насыщенных жирных кислот. В связи с этим развитие алиментарной дислипидемии в нашем эксперименте осуществляли кормлением животных гипержировой

диетой, состоящей из базового стандартного рациона с добавлением 2% холестерина и 20% говяжьего сала от общего состава рациона в течение 30 сут [17]. Другой группе крыс в гипержировую диету добавляли липидный комплекс асцидии в дозе 1 г/кг массы животного [18]. Животные получали питьевую воду без ограничений и корм ежедневно в одно и то же время в режиме свободного доступа. Животные были разделены на 3 группы по 10 крыс в каждой: 1-я группа – контроль (интактные, стандартный базовый рацион), 2-я группа – дислипидемия (гипержировая диета), 3-я группа – дислипидемия + липидный комплекс асцидии. Животных выводили из эксперимента декапитацией под лёгким эфирным наркозом с соблюдением Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Дизайн эксперимента был одобрен Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН.

Плазму крови выделяли общепринятым методом центрифугирования. Содержание общего холестерина, общих фосфолипидов и липопротеинов в плазме крови определяли с помощью диагностических наборов «Ольвекс диагностикум» (Россия). Экстракты общих липидов из плазмы крови готовили по методу J. Folch и соавт. [16]. Для разделения фосфолипидных фракций применяли метод двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле на стеклянных пластинках размером  $6 \times 6$  см [19, 20] с использованием системы растворителей, предложенных G. Rouser и соавт. [21]. Идентификацию фосфолипидных фракций на хроматограммах проводили по методу Т. Кейтс [22], G. Rouser и соавт. [21], Н. Wagner и соавт. [23], V.E. Vaskovsky и соавт. [24]. Разделение нейтральных липидов и их количественную оценку проводили методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [25]. Идентификацию пятен нейтральных липидов осуществляли с помощью очищенных препаратов, выпускаемых отечественной промышленностью. Стандарты и пробы после хроматографирования обнаруживали парами йода. Количественное содержание отдельных фракций выражали в процентах от общей суммы нейтральных липидов и фосфолипидов соответственно.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета InStat 3,0 (GraphPad Software Inc. USA, 2005), включающего функцию 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.

## Результаты

При влиянии гипержировой диеты у крыс сформировалась выраженная картина дислипидемии, которая проявлялась в увеличении количества общих липидов в плазме крови на 84% ( $p < 0,001$ ), общего холестерина на 94% ( $p < 0,001$ ) при одновременном снижении общих фосфолипидов на 19% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с таковыми величинами в контроле (табл. 1).

Это обусловило рост значения соотношения холестерина/фосфолипиды более чем в 2 раза, который является показателем развития гиперхолестеринемии. Меняется количество содержащихся в крови липопротеинов: увеличивается уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) на 48% ( $p < 0,01$ ) и снижается значение липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) на 42% ( $p < 0,001$ ), что также подтверждает формирование дислипидемии.

При исследовании значений нейтральных липидов плазмы крови крыс при дислипидемии (табл. 2) по сравнению с таковыми величинами в контроле отмечалось увеличение количества триацилглицеринов на 16% ( $p < 0,001$ ),

Таблица 1 / Table 1

**Биохимические показатели плазмы крови крыс при дислипидемии и их коррекция липидным комплексом асцидии,  $M \pm m$**   
**Biochemical parameters of blood plasma of rats with dyslipidemia and their correction with the lipid complex of ascidian,  $M \pm m$**

Показатель Parameters		Группа / Group		
		1-я Контроль Control	2-я Дислипидемия Dyslipidemia	3-я Дислипидемия + липидный комплекс асцидии Dislipidemia + lipid complex of ascidian
Общие липиды, г/л	General lipids, g/l	4.62 ± 0.17	8.50 ± 0.33 <sup>3</sup>	4.75 ± 0.13 <sup>b</sup>
Общие фосфолипиды, ммоль/л	General Phospholipids, mmol/l	2.46 ± 0.07	2.00 ± 0.05 <sup>3</sup>	2.50 ± 0.06 <sup>b</sup>
Холестерин, ммоль/л	Cholesterol, mmol/l	2.82 ± 0.05	5.46 ± 0.07 <sup>3</sup>	3.14 ± 0.13 <sup>b</sup>
Холестерин / Фосфолипиды	Cholesterol / Phospholipids	1.15 ± 0.01	2.72 ± 0.03 <sup>3</sup>	1.26 ± 0.04 <sup>b</sup>
ЛПНП, ммоль/л	LDL, mmol/l	0.61 ± 0.04	0.90 ± 0.04 <sup>2</sup>	0.64 ± 0.03 <sup>b</sup>
ЛПВП, ммоль/л	HDL, mmol/l	1.72 ± 0.08	1.00 ± 0.04 <sup>3</sup>	1.70 ± 0.05 <sup>b</sup>

Примечание. Здесь и в табл. 2 различия статистически значимы при: <sup>1,a</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>2,b</sup> –  $p < 0,01$ ; <sup>3,b</sup> –  $p < 0,001$ . Цифры справа – по сравнению с контролем, буквы – по сравнению со 2-й группой.

Note. Here and in table 2 difference considered significant at: <sup>1,a</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>2,b</sup> –  $p < 0,01$ ; <sup>3,b</sup> –  $p < 0,001$ . The numbers on the right – versus control, letters – versus group 2.

Таблица 2 / Table 2

**Показатели нейтральных липидов и фосфолипидов в плазме крови крыс при дислипидемии и их коррекция липидным комплексом асцидии (% от суммы всех фракций,  $M \pm m$ )**

**Readings of neutral lipids and phospholipids in the blood plasma of rats with dyslipidemia and their correction by the lipid complex of ascidian (% of the sum of all fractions,  $M \pm m$ )**

Липидные фракции Lipid fractions		Группа / Group		
		1-я Контроль Control	2-я Дислипидемия Dyslipidemia	3-я Дислипидемия + липидный комплекс асцидии Dislipidemia + lipid complex of ascidian
<b>Нейтральные липиды / Neutral lipids</b>				
Триацилглицерины	Triacylglycerols	21.12 ± 0.52	24.41 ± 0.57 <sup>3</sup>	21.07 ± 0.60 <sup>b</sup>
Свободные жирные кислоты	Free fatty acids	5.68 ± 0.14	9.00 ± 0.38 <sup>3</sup>	6.03 ± 0.15 <sup>b</sup>
Эфиры жирных кислот	Esters of fatty acids	24.12 ± 0.57	21.82 ± 0.60 <sup>1</sup>	24.00 ± 0.55 <sup>a</sup>
Холестерин	Cholesterol	15.30 ± 0.33	18.27 ± 0.36 <sup>3</sup>	15.33 ± 0.28 <sup>b</sup>
Эфиры холестерина	Esters of cholesterol	24.46 ± 0.39	20.42 ± 0.36 <sup>3</sup>	25.05 ± 0.31 <sup>b</sup>
Остаточная фракция	Residual fraction	9.32 ± 0.68	6.08 ± 0.27	8.52 ± 0.45
<b>Фосфолипиды / Phospholipids</b>				
Фосфатидилхолин	Phosphatidylcholine	62.46 ± 0.58	58.23 ± 0.74 <sup>2</sup>	62.70 ± 0.61 <sup>b</sup>
Лизофосфатидилхолин	Lysophosphatidylcholine	7.79 ± 0.22	10.15 ± 0.29 <sup>3</sup>	7.81 ± 0.30 <sup>b</sup>
Сфингомиелин	Sphingomyelin	9.00 ± 0.25	10.87 ± 0.22 <sup>2</sup>	8.91 ± 0.10 <sup>b</sup>
Фосфатидилэтанолламин	Phosphatidylethanolamine	10.10 ± 0.51	8.50 ± 0.19 <sup>3</sup>	10.00 ± 0.11 <sup>b</sup>
Лизофосфатидилэтанолламин	Lysophosphatidylethanolamine	2.84 ± 0.12	4.24 ± 0.11 <sup>3</sup>	2.85 ± 0.17 <sup>b</sup>
Фосфатидилсерин	Phosphatidylserine	1.20 ± 0.02	1.40 ± 0.02 <sup>3</sup>	1.20 ± 0.02 <sup>b</sup>
Фосфатидилинозит	Phosphatidylinositol	3.50 ± 0.13	4.42 ± 0.15 <sup>3</sup>	3.43 ± 0.08 <sup>b</sup>
Дифосфатидилглицерин	Diphosphatidylglycerol	3.11 ± 0.05	2.19 ± 0.03 <sup>3</sup>	3.10 ± 0.06 <sup>b</sup>

холестерина – на 19% ( $p < 0,001$ ) и свободных жирных кислот – на 58% ( $p < 0,001$ ). В то же время количество эфиров жирных кислот снизилось на 10% ( $p < 0,05$ ), а эфиров холестерина – на 17% ( $p < 0,001$ ). Это свидетельствует об угнетении процессов этерификации при данном рационе питания. В фосфолипидном спектре отмечалось снижение основных структурных компонентов мембран: фосфатидилхолина (ФХ) – на 7% ( $p < 0,01$ ) и фосфатидилэтанолламина (ФЭ) – на 16% ( $p < 0,05$ ). Одновременно увеличилось количество их лизофракций: лизофосфатидилхолина (ЛФХ) – на 30% ( $p < 0,001$ ) и лизофосфатидилэтанолламина (ЛФЭ) – на 49% ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует об активации фосфолипаз [26].

Следует отметить увеличение количества сфингомиелина (СМ) на 21% ( $p < 0,01$ ), являющегося совместно с холестерином стабилизатором мембран. Среди метаболически

активных фракций обращает на себя внимание увеличение количества фосфатидилинозита (ФИ) на 26% ( $p < 0,001$ ) и фосфатидилсерина (ФС) – на 17% ( $p < 0,001$ ) при одновременном уменьшении дифосфатидилглицерина (ДФГ) – на 30% ( $p < 0,001$ ). Такие изменения предполагают снижение активности мембраносвязанных транспортных АТФаз и нарушения в системе функционирования ферментов дыхательной цепи [27].

При введении липидного комплекса асцидии отмечалась выраженная тенденция к восстановлению нарушенных рационом биохимических показателей плазмы крови. Как видно из табл. 1, сравнение величин биохимических показателей плазмы крови при введении липидного комплекса асцидии (3-я группа) с таковыми во 2-й группе (дислипидемия) показало снижение количества общих липидов на 44% ( $p < 0,001$ ). При этом количество общих фосфолипидов воз-

росло на 25% ( $p < 0,001$ ) (3-я группа), а количество холестерина снизилось на 42% ( $p < 0,001$ ). В результате соотношение холестерин/фосфолипиды снизилось на 54% ( $p < 0,001$ ). Значение ЛПНП в плазме крови крыс при введении липидного комплекса асцидии снизилось на 29% ( $p < 0,001$ ). Одновременно увеличился уровень ЛПВП на 70% ( $p < 0,001$ ). Таким образом, введение липидного комплекса асцидии сопровождалось выраженной тенденцией к снятию состояния дислипидемии.

При введении липидного комплекса асцидии одновременно с гиперхолестериновым рационом с высокожировой нагрузкой отмечалось восстановление нарушенных соотношений показателей нейтральных и фосфолипидных фракций плазмы крови (см. табл. 2). При сравнении исследованных величин в 3-й группе с таковыми во 2-й группе (дислипидемия) отмечалось снижение количества триацилглицеридов на 14% ( $p < 0,001$ ), свободных жирных кислот – на 33% ( $p < 0,001$ ), холестерина – на 16% ( $p < 0,001$ ). Также обращает на себя внимание увеличение количества эфиров жирных кислот на 10% ( $p < 0,05$ ) и эфиров холестерина – на 23% ( $p < 0,001$ ).

В фосфолипидном спектре следует отметить, что введение липидного комплекса асцидии по сравнению с таковыми величинами во 2-й группе сопровождалось увеличением количества ФХ на 8% ( $p < 0,001$ ) и ФЭ – на 18% ( $p < 0,001$ ). Следует отметить, что количество ЛФХ уменьшилось на 23% ( $p < 0,001$ ), ЛФЭ – на 33% ( $p < 0,001$ ). Одновременно было снижено количество СМ – на 18% ( $p < 0,001$ ), а количество ДФГ возросло на 42% ( $p < 0,001$ ). При этом количество ФС снизилось до контрольных значений, а ФИ – на 22% ( $p < 0,001$ ).

## Обсуждение

На основании полученных результатов следует, что говяжий жир, богатый триацилглицеринами, содержащими насыщенными жирными кислотами, а также высокие дозы холестерина обуславливают нарушение соотношения липидов в крови крыс; формируется дислипидемия. При этом меняются значения содержащихся в крови липопротеинов: увеличиваются величины липопротеинов низкой плотности, доставляющих липиды (в основном холестерин и жирные кислоты) от печени к клеткам и снижаются липопротеины высокой плотности, которые выводят холестерин из клеточных мембран в печень и этерифицируют его. То есть избыточное введение в рацион холестерина и насыщенных жиров способствует образованию атерогенных ЛПНП и, соответственно, в плазме крови отмечается их высокий уровень. Изменение фракционного состава липидов плазмы крови, в частности увеличение количества лизофракций фосфолипидов, при одновременном снижении основных структурных фосфолипидов (ФХ и ФЭ) и разбалансировки метаболически активных фракций (ФС, ФИ, ДФГ) приводит к изменению физико-химических свойств мембран, проницаемости и лабильности. При этом происходит переключение получения энергии с углеводного пути на липидный [28]. Такие биохимические

изменения, возможно, лежат в основе формирования метаболического синдрома.

Регуляция метаболизма с помощью биологически активных соединений является многоуровневой системной реакцией, направленной на все звенья биохимических процессов. Биологическое действие такого сложного природного комплекса, каким является липидный комплекс асцидии, приходится рассматривать как результирующую суммы всех компонентов его состава. Вместе с тем в настоящее время ценность лекарственных средств из морских гидробионтов в большинстве случаев ассоциируется со свойствами входящих в них прежде всего п-3 полиненасыщенных жирных кислот. В нашем эксперименте диета с морскими липидами, по-видимому, сопровождается встраиванием полиненасыщенных жирных кислот в лизофракции фосфолипидов и их преобразованием в основные структурные компоненты мембран – ФХ и ФЭ, что подтверждается ростом значений этих фракций и снижением лизофосфолипидов. Кроме того, известно, что полиненасыщенные жирные кислоты способны снижать активность фосфолипаз [29]. Также известно, что этерификация холестерина происходит преимущественно с ненасыщенными жирными кислотами [30] с участием фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы [31]. Данный биохимический механизм способствует утилизации холестерина из мембран и восстановлению соотношения липопротеинов в пользу увеличения ЛПВП. Активация метаболических реакций этерификации сопровождается ростом общих фосфолипидов за счёт их синтеза из триацилглицеридов, в результате чего снижается как уровень самих триацилглицеридов, так и соотношение холестерин/фосфолипиды в плазме крови. Таким образом, благодаря способности экзогенных «морских» липидов включаться в метаболизм можно предполагать их активное влияние на большинство жизненно важных процессов.

Биологическую активность липидного комплекса асцидии мы связываем с тем фактом, что в его составе присутствует 6 видов фосфолипидов (ФХ, ФЭ, СМ, ФС, ФИ, ДФГ) и жирные кислоты вида п-3 (линоленовая, эйкозопентаеновая, докозагексаеновая), а также п-6 (линолевая, эйкозатриеновая, арахидоновая). По-видимому, присутствие широкого спектра фосфолипидов и полиненасыщенных жирных кислот обоих видов обуславливает высокую биологическую активность липидного комплекса асцидии.

## Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении метаболических реакций при гиперхолестериновом рационе с высокожировой нагрузкой, что требует необходимость профилактической фармакокоррекции. Применение липидных комплексов, содержащих «морские» липиды, выделенные из морских гидробионтов, в частности из туники асцидии пурпурной, может быть полезным и перспективным при дислипидемии и гиперхолестеринемии, что позволяет проводить эффективную профилактику нарушений метаболических реакций при воздействии гиперкалорийного питания.

## Литература

(п.п. 4, 11, 12, 16, 19–21, 23–25, 27, 29 см. References)

- Новгородцева Т.П., Сомова Л.М., Гвозденко Т.А., Караман Ю.К., Бивалькевич Н.В. *Алиментарная дислипидемия: экспериментально-морфологические аспекты*. Владивосток; 2011.
- Бокерия Л.А., Оганов Р.Г. *Все о холестерине: национальный доклад*. М.; 2010.
- Мареев В.Ю. Аторвастатин в лечении больных ишемической болезнью сердца и дислипидемией и высоким общим риском (по результатам российского многоцентрового исследования АТЛАНТИКА): оценка безопасности. *Кардиология*. 2010; 50(9): 4–14.
- Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. 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. *Биология моря*. 2020; 46(4): 269–76. <https://doi.org/10.31857/S0134347520040051>
- Долматова Л.С., Тимченко Н.Ф. Исследование бактерио- и фунгистатических свойств липидной фракции и доклинические испытания сенсibilизирующей активности экстракта из дальневосточных видов голотурий. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2011; (1): 48–50.
- Пивненко Т.Н., Позднякова Ю.М., Есипенко Р.В., Петрова Е.С. Изучение состава и свойств полисахаридов микропорозка из туники асцидии пурпурной. *Успехи современного естествознания*. 2017; (9): 23–9. <https://doi.org/10.17513/use.36535>

8. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Касьянов С.П., Жукова Н.В., Караман Ю.К. Влияние липидов гепатопанкреаса камчатского краба на метаболизм эссенциальных жирных кислот в условиях экспериментальной дислипидемии. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2007; (3): 15–9.
9. Беседнова Н.Н. Морские гидробионты – потенциальные источники лекарств. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2014; (3): 4–10.
10. Матросова И.В., Лескова С.Е. Некоторые черты репродуктивной биологии асцидий пурпурной *Halocynthia aurantium* (Pallas). *Научные труды Дальрыбвтуза*. 2016; 39: 34–7.
13. Кривошапко О.А., Попов А.М. Лечебные и профилактические свойства липидов и антиоксидантов, выделенных из морских гидробионтов. *Вопросы питания*. 2011; 80(2): 4–8.
14. Имбс Т.И., Красовская Н.П., Ермакова С.П., Макарьева Т.Н., Шевченко Н.М., Звягинцева Т.Н. Сравнительное исследование химического состава и противораковой активности водно-этанольных экстрактов *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* и *Fucus evanescens*. *Биология моря*. 2009; 35(2): 140–6.
15. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Сизова Л.А. Морские водоросли – перспективный источник полифенольных антиоксидантов и комплексов эссенциальных фосфолипидов. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012; 14(1): 2299–302.
17. Миронов А.Н., ред. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. М.: Гриф и К; 2012.
18. Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А., Касьянов С.П., Кнышова В.В., Караман Ю.К. Использование биологически активной добавки к пище на основе липидов морских гидробионтов в эксперименте на крысах. *Вопросы питания*. 2010; 79(2): 24–7.
22. Кейтс М. *Техника липидологии*. Пер. с англ. М.: Мир; 1975.
26. Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Стресс и протеолитические ферменты лизосом. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2012; 11(4): 15–25.
28. Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А., Момот Т.В., Михайлова Р.И., Рыжова И.Н., Фоменко С.Е. и соавт. Оценка изменений липидного состава плазмы крови и мембран эритроцитов студентов в условиях учебной нагрузки и их профилактика. *Гигиена и санитария*. 2020; 99(2): 187–92. <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-2-187-192>
30. Крылов О.Ф., Любимов И.Б., Муляра А.Г. Фармакодинамика эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот. *Фармакология и токсикология*. 1991; 54(5): 67–71.
31. Калинин О.М., Перова Н.В., Зыкова В.П. Влияние диеты, обогащенной ω-3 полиненасыщенными жирными кислотами, на функциональную активность тромбоцитов и липидо-аполипопротеиновый спектр крови при впервые возникшей стенокардии. *Терапевтический архив*. 1990; 62(9): 77–82.

## References

1. Novgorodtseva T.P., Somova L.M., Gvozdenko T.A., Karaman Yu.K., Bival'kevich N.V. *Alimentary Dyslipidemia: Experimental and Morphological Aspects [Alimentarnaya dislipidemiya: eksperimental'no-morfologicheskie aspekty]*. Vladivostok; 2011. (in Russian)
2. Bokeriya L.A., Oganov R.G. *All About cholesterol: A National Report [Vse o kholesterine: natsional'nyy doklad]*. Moscow; 2010. (in Russian)
3. Mareev V.Yu. Atorvastatin in the treatment of high risk patients with ischemic heart disease and dyslipidemia. Safety assessment in the Russian multicenter study Atlantika. *Kardiologiya*. 2010; 50(9): 4–14. (in Russian)
4. Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova E.S., Momot T.V. Repair of erythrocyte membranes by the lipid fraction from brown seaweed *Sargassum pallidum* after experimental CCl<sub>4</sub>-induced toxic hepatitis. *Pharm. Chem. J.* 2020; 53(11): 1063–8. <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02123-z>
5. Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Momot T.V. The effect of lipid complex of extract from the marine red alga *Ahnfeltia tobuchensis* (Kanno et Matsubara) Makienko on the biochemical parameters of blood plasma and erythrocyte membranes during experimental stress exposure. *Biologiya morya*. 2020; 46(4): 277–83. <https://doi.org/10.31857/S0134347520040051>
6. Dolmatova L.S., Timchenko N.F. Studying bacteriostatic and fungostatic properties of lipid fraction and pre-clinical trials of sensitizing power of the far eastern holothurian extracts. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; (1): 48–50. (in Russian)
7. Pivnenko T.N., Pozdnyakova Yu.M., Esipenko R.V., Petrova E.S. The research of the composition and properties of polysaccharides from micro-powder of the tunics of purple ascidian. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2017; (9): 23–9. <https://doi.org/10.17513/use.36535> (in Russian)
8. Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Kas'yanov S.P., Zhukova N.V., Karaman Yu.K. Effect of lipids of hepatopancreas of Kamchatka crab on essential fatty acid metabolism under experimental hyperlipidemia. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2007; (3): 15–9. (in Russian)
9. Besednova N.N. Sea hydrobionts – potential sources of drugs. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*. 2014; (3): 4–10. (in Russian)
10. Matrosova I.V., Leskova S.E. Some features of the ascidian purple *Halocynthia aurantium* (Pallas) reproduction biology. *Nauchnye trudy Dal'rybvtuza*. 2016; 39: 34–7. (in Russian)
11. Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Lesnikova L.N. Experimental assessment of the efficiency of erythrocyte membrane repair by an extract of the tunic of the ascidian purple sea squirt in carbon tetrachloride poisoning. *Pharm. Chem. J.* 2013; 46(10): 606–11. <https://doi.org/10.1007/s11094-013-0855-z>
12. Thomas N.V., Kim S.K. Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2011; 32(3): 325–35. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.09.004>
13. Krivoshapko O.A., Popov A.M. Medical and prophylactic properties lipids and antioxidants derived from sea hydrobionts. *Voprosy pitaniya*. 2011; 80(2): 4–8. (in Russian)
14. Imbs T.I., Krasovskaya N.P., Ermakova S.P., Makar'eva T.N., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N. Comparative research of the chemical composition and antineoplastic activity water *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* and *Fucus evanescens* extracts. *Biologiya morya*. 2009; 35(2): 140–6. (in Russian)
15. Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Sizova L.A. Marine algae – perspective source of polyphenol antioxidants and essential phospholipid complexes. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2012; 14(1): 2299–302. (in Russian)
16. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226(1): 497–509.
17. Mironov A.N., ed. *Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Drugs. Part I [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya]*. Moscow: Griff i K; 2012. (in Russian)
18. Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A., Kas'yanov S.P., Knyshova V.V., Karaman Yu.K. Effect utilize of food biologically active additive on base the lipid marine hydrobionts under experimental cardio-vascular pathology rats. *Voprosy pitaniya*. 2010; 79(2): 24–7. (in Russian)
19. Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *J. Chromatography*. 1972; 67(2): 376–8. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)91245-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)91245-2)
20. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis. *J. Chromatography*. 1975; 114(1): 129–41. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)
21. Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures. *Lipid Chromatogr. Anal.* 1967; 1: 99–162.
22. Keyts M. *Techniques of Lipidology [Tekhnika lipidologii]*. Amsterdam: Elsevier; 1972.
23. Wagner H., Horhammer L., Wolff F. Thin-layer chromatography of phosphatides and glycolipides. *Biochem. Z.* 1961; 334: 175–84. (in German)
24. Vaskovsky V.E., Latyshev N.A. Modified jungnickels reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms. *J. Chromatography*. 1975; 115(1): 246–9. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)89042-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)89042-1)
25. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.* 1964; 5(2): 270–2.
26. Gusakova E.A., Gorodetskaya I.V. Stress and proteolytic enzymes of lysosomes. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2012; 11(4): 15–25. (in Russian)
27. Cornelius F., Habeck M., Kanai R., Toyoshima C., Karlsh S.J.D. General and specific lipid-protein interactions in Na,K-ATPase. *Biochim. Biophys. Acta Biomembranes*. 2015; 1848(9): 1729–43. <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2015.03.012>
28. Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A., Momot T.V., Mikhaylova R.I., Ryzhova I.N., Fomenko S.E., et al. Assessment of changes in the lipid composition of blood plasma and erythrocyte membranes in students under study load and their prevention. *Gigiena i Sanitariya [Hygiene and Sanitation, Russian journal]*. 2020; 99(2): 187–92. <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-2-187-192> (in Russian)
29. Asztalos I.B., Gleason J.A., Sever S., Gedik R., Asztalos B.F., Horvath K.V., et al. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial. *Metab. Clin. Exp.* 2016; 65(11): 1636–45. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.07.010>
30. Krylov O.F., Lyubimov I.B., Mulyar A.G. Pharmacodynamics of eicosapentaenic and docosahexaenic acids. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1991; 54(5): 67–71. (in Russian)
31. Kalinkina O.M., Perova N.V., Zykova V.P. Influence of a diet enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids on the functional activity of platelets and the lipid-apolipoprotein spectrum of blood in the case of new-onset angina pectoris. *Terapevticheskiy arkhiv*. 1990; 62(9): 77–82. (in Russian)