

УДК 577.125.8+615.322(272.4)

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ МОРСКОЙ КРАСНОЙ ВОДОРОСЛИ *Ahnfeltia tobuchiensis* НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

© 2022 г. В. Г. Спрыгин*, @, Н. Ф. Кушнерова*, С. Е. Фоменко*

*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,
ул. Балтийская, 43, Владивосток, 690041 Россия

@E-mail: vgs2006@mail.ru

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.

После доработки 06.06.2020 г.

Принята к публикации 06.06.2020 г.

Исследовано влияние липидного комплекса, выделенного из водно-этанольного экстракта таллома морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* (ЛКА) на биохимические показатели крови и печени мышей при интоксикации четыреххлористым углеродом. Показано, что применение ЛКА оказывало выраженный антиоксидантный и гепатозащитный эффект, который превосходил таковой у препарата сравнения “Эссенциале®” по способности восстанавливать массу животных, удельную массу печени, активность АЛАТ, показатели липидного обмена и снижать перекисное окисление липидов. Гепатозащитный эффект ЛКА обусловлен действием входящих в его состав фосфолипидов и гликолипидов морского происхождения, характеризующихся высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот группы n-3.

Ключевые слова: *Ahnfeltia tobuchiensis*, морские липиды, n-3 ПНЖК, четыреххлористый углерод, гепатопротекторы, печень, липидный обмен, антиоксидантная система

DOI: 10.31857/S1026347022010140

Печень в организме человека и животных осуществляет важную роль в регуляции различных биохимических процессов, среди которых особо выделяются функции метаболизирования, секреции, хранения и детоксикации эндогенных и экзогенных ксенобиотиков (Madrigal-Santillan *et al.*, 2014). Наиболее часто повреждения печени реализуются через химические механизмы, приводящие к дегенеративным изменениям токсической природы. Ввиду важности функций, осуществляемых органом, заболевания печени представляют собой одну из главных угроз здоровью, оставаясь окончательно нерешенной проблемой во всем мире. По данным ВОЗ, смертность от заболеваний печени имеет устойчивую тенденцию к росту, и в ближайшие 10–20 лет вырастет в два раза. Поэтому лечение и профилактика заболеваний печени является одним из важнейших направлений современной медицины. Одной из групп лекарственных средств, которые используются для этих целей, являются гепатопротекторы. В связи с этим поиск эффективных и безвредных препаратов данной группы не теряет своей актуальности.

К числу наиболее хорошо изученных гепатопротекторов относятся эссенциальные фосфолипиды (ФЛ), в связи с этим в терапии гепатопато-

логий им отводится особое место (Ушкалова, 2003). Важным аспектом биологической активности, проявляемой ФЛ, являются их жирнокислотные заместители. В настоящее время основным источником получения препаратов эссенциальных ФЛ являются соевые бобы. Полученные из них субстанции содержат в качестве активного ингредиента полиненасыщенный фосфатидилхолин (1,2-дилинолеилфосфатидилхолин), в котором в качестве жирнокислотных остатков содержатся молекулы линолевой кислоты, относящейся к группе n-6, которые при окислении дают начало целому ряду активных метаболитов, способствующих развитию провоспалительных процессов в организме. В то же время показано, что жирные кислоты, относящиеся к группе n-3, в частности, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты, имеют большой потенциал применения для сохранения здоровья человека ввиду высокой эффективности при терапии различных патологий, включая атеросклероз, тромбоз, артрит, рак, а также различные заболевания печени (Jump *et al.*, 2015).

Одним из наиболее богатых источников получения n-3 кислот являются морские водоросли. Эти кислоты в значительных количествах входят

в состав полярных липидов водорослей — гликолипидов (ГЛ) и ФЛ (Хотимченко, 2003). Несмотря на то, что относительное содержание липидов в морских водорослях не так велико, большая прибрежная масса и быстрое самовозобновление определяет их как весьма важный источник этих функциональных метаболитов.

В качестве сырьевого источника биологически активных липидных комплексов большой интерес представляют собой красные водоросли, отряд Rhodophyta. Их отличает, с одной стороны, высокое содержание эйкозапентаеновой кислоты (Khotimchenko, Vaskovsky, 1990) в составе полярных липидов, а с другой — преобладающая доля фосфатидилхолина (ФХ) в составе фосфолипидной фракции липидов водоросли (Хотимченко, 2003). При этом известно, что ФХ является одним из основных структурных компонентов биологических мембран в организме животных и человека. Все это предполагает высокую фармакологическую активность липидов красных водорослей и, в частности, их гепатозащитное действие. В то же время исследований, посвященных изучению данной проблемы, в литературе почти не встречается, за исключением единичных работ (Bupesh *et al.*, 2012). Таким образом, представляется актуальным получение новых знаний о биологической активности липидной фракции красных водорослей. В качестве объекта исследования нами была выбрана промысловая морская красная водоросль *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kannoet Matsubara, Makienko), распространенная в морях Дальнего Востока (Титлянов, Титлянова, 2012), которая ранее не была исследована в данном аспекте.

Целью настоящей работы явилось изучение гепатозащитных свойств липидного комплекса, выделенного из водно-этанольного экстракта таллома морской красной водоросли *A. tobuchiensis* (Kannoet Matsubara, Makienko) при интоксикации четыреххлористым углеродом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы водоросли *A. tobuchiensis* собирали в августе—сентябре 2019 г. в заливе Петра Великого Японского моря (пролив Старка, о. Попова). Выборка водорослей составляла 100 талломов. Слоевища очищали от эпифитов и донного бентоса, промывали сначала морской, затем дистиллированной водой. После этого сырье отжимали и погружали в кипящую воду на 2 мин для инактивации ферментов. Обработанные таким способом водоросли сушили до суховоздушного состояния. Высушенный таллом измельчали с помощью лабораторной мельницы до размеров частиц 0.5—1 мм и экстрагировали 70%-ным этиловым спиртом методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л из 1 кг сухого сырья. Для выделения липидной составляющей экстракта и исследования ее состава,

экстракт предварительно освобождали от спирта путем упаривания под вакуумом на ротаторном испарителе при температуре не выше 37°C. Полученную маслообразную массу экстрагировали смесью хлороформ: метанол (2:1 по объему) в соответствии с общепринятым методом для выделения липидов из растительного и животного сырья (Folch *et al.*, 1957). Хлороформный экстракт промывали 0.73%-ным раствором хлористого калия в соотношении 1 : 0.2 (по объему). После разделения фаз хлороформный слой, содержащий липиды, отделяли на делительной воронке и упаривали под вакуумом на ротаторном испарителе ($t < 37^\circ\text{C}$) до отсутствия запаха хлороформа. Общее содержание липидов определяли весовым методом. Стандартизацию липидной композиции экстракта *A. tobuchiensis* проводили по суммарному содержанию полярных липидов (гликолипиды и фосфолипиды), которые являются мембраноактивной фракцией и составляют 56% липидного комплекса. Острую токсичность полученного липидного комплекса, которую проводили по методу Кербера (Фисенко, 2000), составила более 2000 мг/кг, что позволяет отнести полученную субстанцию к 4 классу токсичности (как малоопасные).

Качественный анализ липидного комплекса осуществляли с помощью двумерной микротонкослойной хроматографии (ТСХ) на стеклянных пластинках 6 × 6 см с силикагелем марки “КСК”. Количество общих ГЛ определяли по методу Васковского и Хотимченко (Vaskovsky, Khotimchenko, 1982). Фракционное разделение ФЛ проводили, используя следующие системы растворителей: в первом направлении — хлороформ : метанол : аммиак (28%) (65 : 25 : 4 по объему), во втором — хлороформ : метанол : ледяная уксусная кислота : вода (70 : 30 : 2.5 : 1 по объему) (Vaskovsky, Terekhova, 1979). Для проявления фракций ФЛ применяли молибдатный реактив (Vaskovsky *et al.*, 1975), для ГЛ — антроновый реагент (Van Gent *et al.*, 1973). Специфическое обнаружение липидов, содержащих аминогруппу (фосфатидилэтаноламин), обнаруживали 0.2%-ным раствором нингидрина в ацетоне (Rouser *et al.*, 1967), холинсодержащих — с помощью реактива Драгендорфа (Кейтс, 1975). ФЛ, содержащие гидроксильную группу (фосфатидилинозит, ФИ), обнаруживали с помощью периодатного реактива Шиффа (Кейтс, 1975). В качестве неспецифического реагента использовали 10%-ный раствор серной кислоты в метаноле с последующим нагреванием пластинок до появления темных пятен. Количество общих ФЛ в экстракте и индивидуальных фракций на хроматограммах определяли спектрофотометрически с помощью универсального молибдатного реактива (Vaskovsky *et al.*, 1975).

Определение жирнокислотного состава липидного комплекса проводили методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ). Метилловые эфиры жир-

ных кислот (МЭЖК) получали переэтерификацией липидов по методу Карреу и Дюбак (Carreau, Dubaso, 1978), и очищали с помощью ТСХ, используя систему гексан : диэтиловый эфир (95 : 5 по объему). Зону МЭЖК удаляли с пластинки и элюировали с силикагеля гексаном. Элюат упаривали, МЭЖК переращивали в определенном объеме гексана и анализировали методом ГЖХ на газовом хроматографе “ЛХМ-2000” с пламенно-ионизационным детектором. ГЖХ-анализ МЭЖК проводили на капиллярной колонке (25–30 м), внутренний диаметр 0.25 мм. Анализ проводили при температуре 220°C с фазой HP-5-MS с 5%-ным фенилметилсилоксаном. Температура инжектора 180°C. Газ-носитель — гелий, скорость потока 50 мл/мин. Идентификацию МЭЖК проводили сравнением времен удерживания со стандартами МЭЖК по значениям “углеродных чисел” (Christie, 1988). Результаты выражали в процентах от суммы жирных кислот.

Эксперимент проводили на беспородных белых мышах-самцах массой тела 25–30 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе питания. Экспериментальную модель острого токсического гепатита (интоксикация четыреххлористым углеродом — ЧХУ) на животных (мышах) и введение препаратов осуществляли согласно руководству для проведения доклинических испытаний (Венгеровский и др., 2005). Для создания острого гепатита животным вводили подкожно (в дорсальную шейную складку) 2 мл/кг ЧХУ в 50%-ном масляном растворе (оливковое масло) ежедневно в течение 4 сут. Далее животные получали в течение 7 сут внутрижелудочно через зонд липидный комплекс анфельции в дозе 80 мг на кг массы животного, что соответствует рекомендованной терапевтической дозе для препаратов липидной природы (Венгеровский и др., 2005). Суммарное содержание мембранно-активной фракции полярных липидов составляло 45 мг в 80 мг липидного комплекса анфельции. Перед введением липидный комплекс разводили в вазелиновом масле соответствующего объема таким образом, чтобы необходимая доза исследуемого препарата содержалась в 0.2 мл. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество вазелинового масла. В качестве препарата сравнения использовали известный гепатопротектор “Эссенциале®” (“Sanofi”, Франция), изготовленный на основе фосфатидилхолина соевых бобов (производитель Германия), который вводили в виде раствора в вазелиновом масле тем же способом и в той же дозе.

Животные были разделены на 5 групп по 10 мышей в каждой: 1 группа — контроль; 2 группа — введение ЧХУ в течение 4 сут; 3-я группа — введение ЧХУ в течение 4 сут с последующей отменой в течение 7 сут; 4-я группа — введение ЧХУ в течение 4 сут с последующим введением липидного

комплекса *A. tobuchiensis* в течение 7 сут; 5-я группа — введение ЧХУ в течение 4 сут с последующим введением эссенциале в течение 7 сут. 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” (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 13 от 10.10.2018 г.).

Фармакологическую эффективность исследуемого липидного комплекса и препарата сравнения “Эссенциале” оценивали по их влиянию на весовые характеристики и биохимические показатели крови и печени в условиях интоксикации ЧХУ. В плазме крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) (“Ольвекс Диагностика”, Россия). Состояние антиоксидантной системы животных оценивали по активности глутатионредуктазы (ГР) (Goldberg, Spooner, 1983), глутатионпероксидазы (ГП) (Burk *et al.*, 1980) в крови животных. В печени мышей исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) (Paoletti *et al.*, 1986), антирадикальную активность (АРА) (Re *et al.*, 1999), уровень восстановленного глутатиона (Г-SH) (Новгородцева и др., 2003) и содержание малонового диальдегида (МДА) (Гончаренко, Латинова, 1985). Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда (Bradford, 1976). Экстракты общих липидов из ткани печени готовили общепринятым методом (Folch *et al.*, 1957). Фракционное распределение ФЛ и их количественное определение проводили методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле (Svetashev, Vaskovsky, 1972; Vaskovsky *et al.*, 1975) с использованием системы растворителей, предложенных Роузером с соавт. (Rouser *et al.*, 1967). Количественное содержание отдельных фракций выражали в процентах от общей суммы ФЛ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Instat 3.0 (Graph Pad Software Inc. USA, 2005), включающего функцию проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий для межгрупповых сравнений в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-тест множественных сравнений Даннета или непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни, а также *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Суммарное содержание общих липидов в экстракте составляло 15.35 ± 0.22 мг/г сухой ткани, из которых гликолипиды составляли 30.30% (4.64 ± 0.34 мг/г сухой ткани), нейтральные липиды —

Таблица 1. Жирнокислотный состав липидного комплекса *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kanno et Matsubara, Makienko) (в % от суммы всех фракций)

Жирные кислоты	Показатели
14:0	2.00 ± 0.17
16:0	19.53 ± 0.65
18:0	4.97 ± 0.14
16:1 n-7	3.70 ± 0.11
18:1 n-7	1.50 ± 0.03
18:1 n-9	19.66 ± 1.68
18:2 n-6	1.70 ± 0.07
18:3 n-3	0.50 ± 0.02
20:4 n-6	26.24 ± 0.68
20:5 n-3	20.20 ± 0.43
Σ НЖК	26.50
Σ МНЖК	24.85
Σ ПНЖК	48.64
Σ n-6 ПНЖК	27.94
Σ n-3 ПНЖК	20.70
n-6/ n-3	1.35

Примечание. НЖК — насыщенные жирные кислоты, МНЖК — мононенасыщенные жирные кислоты, ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты.

44.0% (6.76 ± 0.43 мг/г сухой ткани), фосфолипиды — 25.7% (3.95 ± 0.23 мг/г сухой ткани). Среди нейтральных липидов в липидном комплексе преобладали триацилглицерины ($43.45 \pm 2.35\%$). Также в его составе присутствовали моноацилглицерины + диацилглицерины ($15.16 \pm 0.56\%$), свободные жирные кислоты ($13.31 \pm 0.38\%$), свободные стеринны ($13.21 \pm 0.89\%$), эфиры стериннов ($10.95 \pm 0.44\%$). Кроме неполярных липидов в составе липидного комплекса присутствуют четыре класса фосфолипидов: фосфатидилхолин ($64.8 \pm 1.72\%$), фосфатидилглицерин ($20.85 \pm 1.62\%$), фосфатидилэтаноламин ($8.20 \pm 0.12\%$), фосфатидилинозит ($6.15 \pm 0.13\%$). Это согласуется с литературными данными (Kostetsky *et al.*, 2004). Фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилглицерин (ФГ) наряду с фосфатидилэтаноламином (ФЭ) являются наиболее значимыми структурными компонентами мембран, обеспечивающими структурно-пространственную организацию мембранного матрикса и функционирование мембранных структур.

Жирно-кислотный состав липидного комплекса экстракта *A. tobuchiensis* отличался высокой степенью ненасыщенности (табл. 1), что соответствует известным в литературе данным (Fomenko *et al.*, 2019). Из насыщенных жирных кислот (НЖК) доминировала пальмитиновая кислота (16:0), содержание которой составляло 20.0%. Мононенасыщенные жирные кислоты были представлены паль-

митолеиновой (16 : 1 n-7) и олеиновой (18 : 1 n-9) кислотами, суммарное содержание которых составляло 24.9%. Среди основных идентифицированных жирных кислот преобладали полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Следует отметить, что их содержание приближалось к 50% от общей суммы жирных кислот. Характерной особенностью красных водорослей является высокое содержание эйкозапентаеновой и арахидоновой кислот (Хотимченко, Гусарова, 2004). В исследуемом образце соотношение арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот или n-6/n-3 составляло 1.35, что является важным показателем, отражающим фармакологический потенциал липидного комплекса, как источника кислот n-3. Согласно рекомендации ВОЗ, при величине данного коэффициента в продуктах питания меньше 10, можно говорить об использовании их для предотвращения нарушений сердечно-сосудистой и гепатобилиарной систем.

В основе механизма гепатотоксичности ЧХУ лежит формирование оксидативного стресса, инициируемого свободнорадикальными метаболитами, включающими трихлорметил- и трихлорметилпероксид радикалы, которые образуются в процессе восстановительной дегалоизации с участием СУР2Е1 (Weber *et al.*, 2003). Трихлорметил-радикал образует ковалентные связи с компонентами клетки, такими как Г-SH, что приводит к его истреблению. При этом пероксильное производное инициирует процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) с последующим образованием вторичных продуктов перекисаации, таких как МДА. В результате нарушается пространственный матрикс и целостность биологических мембран с последующей гибелью клеток (Boll *et al.*, 2001; Weber *et al.*, 2003).

После 4-х суток введения ЧХУ (2 группа) масса животных снизилась на 42% (19.43 ± 0.57 г против 33.40 ± 0.88 г в контроле; $p < 0.001$) при одновременном увеличении удельной массы печени на 34% (7.98 ± 0.30 г/100 г массы тела против 5.96 ± 0.20 в контроле; $p < 0.001$). В печени отмечалась сплошная зернистость жировых включений, т.е. проявлялась выраженная жировая инфильтрация, характерная при интоксикации ЧХУ.

Изменения биохимических параметров в крови и печени мышей представлены в табл. 2. Как видно из таблицы количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в три раза ($p < 0.001$). О развитии токсического гепатита в данной экспериментальной модели свидетельствует повышение активности в крови маркерного фермента печени АлАТ в 4 раза ($p < 0.001$), обусловленное выходом фермента из гепатоцитов в кровь в результате нарушения целостности мембранного матрикса. Увеличение количества МДА в 2.9 раза ($p < 0.001$) при введении ЧХУ отражает

Таблица 2. Влияние липидного комплекса *Ahnfeltia tobuchiensis* и эссенциале на биохимические показатели плазмы крови и печени мышей после интоксикации четыреххлористым углеродом ($M \pm m$)

Показатели	1 группа Контроль (интактные)	2 группа ЧХУ	3 группа Отмена ЧХУ	4 группа Отмена ЧХУ + + анфельция	5 группа Отмена ЧХУ + + эссенциале
Общие липиды, мг/г	20.37 $\pm$ 1.03	80.48 $\pm$ 2.37 ³	69.37 $\pm$ 1.93 ³	23.47 $\pm$ 1.32 ^B	28.35 $\pm$ 1.24 ^{3, B, *}
АлАТ, Ед/л	25.17 $\pm$ 1.03	125.24 $\pm$ 3.67 ³	72.36 $\pm$ 2.20 ³	26.53 $\pm$ 1.24 ^B	35.87 $\pm$ 1.36 ^{3, B, ***}
Малоновыйдиальдегид, нмоль/г	160 $\pm$ 21	473 $\pm$ 43 ³	392 $\pm$ 26 ³	200 $\pm$ 23 ^B	252 $\pm$ 18 ^{2, B}
Глутатионредуктаза, нмоль/мин/мл плазмы	88.21 $\pm$ 4.26	39.68 $\pm$ 3.25 ³	50.32 $\pm$ 2.54 ³	85.33 $\pm$ 2.86 ^B	65.31 $\pm$ 4.07 ^{3, B, ***}
Глутатионпероксидаза, нмоль/мин/мл плазмы	139 $\pm$ 5	110 $\pm$ 4 ³	106 $\pm$ 6 ³	161 $\pm$ 4 ^{2, B}	134 $\pm$ 5 ^{B, ***}
Супероксидисмутаза, Ед/мг белка	21.43 $\pm$ 0.52	12.88 $\pm$ 0.43 ³	14.56 $\pm$ 0.58 ³	21.78 $\pm$ 0.68 ^B	19.56 $\pm$ 0.63 ^{1, B, *}
Восстановленный глутатион, мкмоль/г	4.70 $\pm$ 0.15	3.13 $\pm$ 0.14 ³	2.81 $\pm$ 0.11 ³	5.11 $\pm$ 0.20 ^B	4.46 $\pm$ 0.10 ^{B, *}
Антирадикальная активность, мкмольтролокса/г	6.70 $\pm$ 0.31	3.43 $\pm$ 0.19 ³	3.68 $\pm$ 0.21 ³	6.33 $\pm$ 0.30 ^B	5.47 $\pm$ 0.28 ^{2, B, *}

Примечание. Здесь и в табл. 3 различия статистически значимы при: ^{1, a, *} — $p < 0.05$; ^{2, B} — $p < 0.01$; ^{3, B, ***} — $p < 0.001$. Цифры справа — сравнение с контрольной группой, буквы справа — сравнение с 3-й группой (отмена), звездочки справа — сравнение с 4-й группой.

высокую активность перекисного окисления жирных кислот мембранных ФЛ, что также обуславливает повышение проницаемости мембран гепатоцитов.

В результате увеличения интенсивности свободно-радикальных процессов отмечается рассогласование параметров системы антиоксидантной защиты. Это выражается в снижении активности ферментов глутатионного звена — ГР на 55% ($p < 0.01$) и ГП на 21% ($p < 0.001$) в крови на фоне снижения в печени пула Г-SH на 33% ($p < 0.01$) и активности СОД на 40% ($p < 0.001$). Полученные результаты указывают на истощение антиоксидантной системы защиты организма, что согласуется со снижением уровня АРА печени на 49% ($p < 0.001$).

В фосфолипидном спектре печени под действием токсического агента и нарастающей активности процессов ПОЛ наблюдалось достоверное снижение содержания основных структурных фосфолипидов — ФХ на 5% ($p < 0.05$) и ФЭ на 12% ($p < 0.001$) (табл. 3). Одновременно отмечалось увеличение их лизоформ — лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 70% ($p < 0.001$) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на 58% ($p < 0.001$). Известно, что при активации свободнорадикальных процессов, в первую очередь, подвергаются окислению ПНЖК ФЛ мембран, что и вызывает уменьшение содержания их основных структурных компонентов, в частности, ФХ и ФЭ. Накопление лизофракций ФЛ в мембране гепатоцитов способствует повышению ее проницаемости. Увеличение количе-

ства лизофракций обусловлено не только усилением процессов ПОЛ, но и повышением активности фосфолипаз (Ryu *et al.*, 2000) в результате нарушения кальциевого обмена под действием ЧХУ. Данный факт подтверждается увеличением количества фосфатидной кислоты (ФК) в два раза ($p < 0.001$), связанное с активацией фосфолипазы D при интоксикации ЧХУ (Day *et al.*, 1993). Увеличение содержания данного фосфолипида в мембранном матриксе, учитывая его избирательную ионофорную функцию по отношению к кальцию, приводит к росту потока данного катиона внутрь гепатоцитов, что способствует нарушению его обмена. Уменьшение количества фосфатидилинозита (ФИ) на 23% ($p < 0.05$) и фосфатидилсерина (ФС) на 17% ($p < 0.01$), являющихся метаболически активными фракциями, предполагает снижение активности мембраносвязанных транспортных АТФаз (Cornelius *et al.*, 2015). Компенсаторным механизмом на повышение проницаемости мембран является увеличение количества сфингомиелина (СМ) на 52% ($p < 0.001$), являющегося совместно с холестерином ее стабилизатором. Снижение количества дифосфатидилглицерина (ДФГ) на 75% ($p < 0.001$), являющегося маркером митохондрий, определяет нарушения в системе функционирования ферментов дыхательной цепи и угнетение процессов синтеза АТФ.

Через 7 сут после отмены ЧХУ (3 группа) в печени и крови подопытных животных большинство биохимических параметров не нормализовалось,

Таблица 3. Влияние липидного комплекса *Ahnfeltia tobuchiensis* и эссенциале на содержание фосфолипидных фракций печени мышей после интоксикации четыреххлористым углеродом ($M \pm m$)

Фракции	1 группа Контроль (интактные)	2 группа ЧХУ	3 группа Отмена ЧХУ	4 группа Отмена ЧХУ + + анфельция	5 группа Отмена ЧХУ + + эссенциале
Фосфатидилхолин	44.65 ± 0.70	42.35 ± 0.65 ¹	40.47 ± 0.53 ³	44.33 ± 0.66 ^B	44.77 ± 0.51 ^B
Лизофосфатидилхолин	2.37 ± 0.27	4.03 ± 0.31 ³	5.60 ± 0.26 ³	2.48 ± 0.24 ^B	3.25 ± 0.33 ^{1, B}
Сфингомиелин	6.87 ± 0.35	10.42 ± 0.68 ³	11.00 ± 0.59 ³	7.56 ± 0.46 ^B	7.98 ± 0.40 ^{1, B}
Фосфатидилэтаноламин	26.80 ± 0.48	23.64 ± 0.51 ³	23.51 ± 0.53 ³	26.96 ± 0.49 ^B	24.89 ± 0.61 ^{1, *}
Лизофосфатидилэтаноламин	3.49 ± 0.23	5.53 ± 0.31 ³	5.83 ± 0.29 ³	3.33 ± 0.21 ^B	3.87 ± 0.25 ^B
Фосфатидилсерин	5.34 ± 0.19	4.45 ± 0.23 ²	4.06 ± 0.21 ³	5.40 ± 0.28 ^B	5.10 ± 0.26 ^B
Фосфатидилинозит	6.14 ± 0.43	4.73 ± 0.51 ¹	4.65 ± 0.39 ¹	6.27 ± 0.48 ^a	6.30 ± 0.42 ^a
Фосфатидная кислота	1.38 ± 0.15	4.12 ± 0.28 ³	4.28 ± 0.31 ³	1.35 ± 0.19 ^B	2.00 ± 0.20 ^{1, B, *}
Дифосфатидилглицерин	2.96 ± 0.14	0.73 ± 0.04 ³	0.60 ± 0.11 ³	2.32 ± 0.25 ^{1, B}	1.84 ± 0.16 ^{3, B}

что свидетельствует о продолжающемся токсическом стрессе и недостаточности собственных защитных сил организма противостоять действию токсиканта. Известно, что значительная часть ЧХУ, попадая в организм, депонируется в жировой ткани с периодом полувыведения более суток (Sanzgiri *et al.*, 1997). Это позволяет предположить, что при отмене токсиканта, выделение депонированного в жировой ткани ЧХУ обеспечивает дальнейшее развитие токсической патологии. Масса тела животных оставалась на 30% ниже контроля ($23.50 \pm \pm 1.95$ г; $p < 0.001$), при этом удельная масса печени была достоверно выше на 21% (7.22 ± 0.28 г/100 г массы тела; $p < 0.01$). При осмотре печени наблюдали выраженную жировую инфильтрацию, что подтверждается увеличением количества общих липидов в 2.4 раза ($p < 0.001$) (табл. 2) по сравнению с таковым в контроле. О сохранении токсического гепатита в данной группе животных свидетельствует достоверно высокая активность маркерного фермента печени АЛАТ (в 1.87 раза; $p < 0.001$) и увеличение количества МДА в 2.4 раза ($p < 0.001$), что определяет продолжающийся процесс ПОЛ. Активность ГР и ГП оставалась сниженной на 43 и 24% ($p < 0.001$), соответственно, что привело к дальнейшему истощению пула Г-SH (снижение на 40%; $p < 0.001$). Сохранялась более низкая, чем у интактных животных, активность СОД (на 32%; $p < 0.001$) и значение уровня АРА (на 45%, $p < 0.001$). Анализ фракционного состава ФЛ печени в период отмены ЧХУ показал, что содержание ЛФХ превышало контрольный уровень в 2.4 раза ($p < 0.001$), а содержание ЛФЭ — на 67% ($p < 0.001$) (табл. 3). Это свидетельствует о дальнейшем усилении ПОЛ и активности фосфолипаз, на что указывает и рост содержания ФК в 3.1 раза ($p < 0.001$) по сравнению с контро-

лем. Содержание основного структурного компонента мембран гепатоцитов — ФХ стало еще ниже, чем таковое во 2-ой группе, а по сравнению с контролем достоверно снизилось на 10% ($p < 0.01$). Также еще ниже, чем во 2-ой группе, было количество ФИ, ФС иДФГ, необходимых для функционирования мембраносвязанных ферментов. Обращает на себя внимание тот факт, что количество СМ стало еще выше (на 60% по сравнению с контролем, $p < 0.01$), обусловленное компенсаторной реакцией на нарушение проницаемости мембран. Данные по анализу исследованных биохимических параметров печени указывает на продолжающиеся и углубляющиеся нарушения метаболических реакций даже в отсутствии поступления токсического агента (период отмены).

При введении животным липидного комплекса анфельции в период отмены ЧХУ (4 группа) наблюдалось восстановление исследуемых биохимических показателей до контрольных значений. Масса тела мышей составляла 34.50 ± 1.52 г, а удельная масса печени — 5.68 ± 0.14 г/100 г массы тела. В то же время при сравнении полученных результатов с таковыми в 3-й группе (отмена токсиканта) отмечалось снижение количества общих липидов печени на 66% ($p < 0.01$), МДА — на 49% ($p < 0.01$) на фоне повышения АРА на 72% ($p < 0.001$), что указывает на снижение свободно-радикальных реакций в организме мышей. Активность СОД возросла на 50% ($p < 0.001$), активность ферментов глутатионового звена (ГР и ГП) увеличилась на 70 и 52% ($p < 0.01$), соответственно, а содержание Г-SH — в 1.8 раза ($p < 0.01$). В то же время активность ГП превышала контрольные значения на 16% ($p < 0.05$), а ГР — на 9%. Данный эффект может быть обусловлен способностью п-3 кислот, в частности эйкозапентаеновой кислоты,

активировать индукцию СОД в печени в условиях оксидативного стресса (Garrel *et al.*, 2012), а также предохранять от окисления пул восстановленного глутатиона (Patten *et al.*, 2013).

Введение липидного комплекса анфельции в период отмены сопровождалось снижением количества лизофракций фосфолипидов: ЛФХ — на 56% ($p < 0.001$) и ЛФЭ — на 43% ($p < 0.001$), а также СМ — на 31% ($p < 0.001$). По нашему мнению, данный феномен связан со способностью $n-3$ кислот снижать активность фосфолипаз (Asztalos *et al.*, 2016). Полученные результаты указывают на восстановление структурно-функциональных свойств мембран гепатоцитов и нормализацию проницаемости липидным комплексом анфельции, что определяет его как мембраностабилизатор. В пользу этого свидетельствует сохранение активности маркерного фермента печени АлАТ на уровне контроля, а по сравнению с 3-й группой следует отметить снижение активности в 3 раза ($p < 0.01$).

При введении препарата сравнения эссенциале (5-я группа) направленность изменений изученных биохимических показателей была сопоставима с таковой у животных 4-й группы, но отличалась по степени выраженности и достоверным отличиям ряда показателей от контрольных величин. Масса тела животных и удельная масса печени статистически достоверно не отличались от контроля и составляли 31.14 ± 1.55 г и 6.09 ± 0.16 г/100 г массы тела, соответственно. В то же время, содержание общих липидов превышало таковое у животных контрольной группы на 20% ($p < 0.001$), что в совокупности с наличием жировых включений в печени определяло сохранение жировой инфильтрации. Также отмечалась сниженная активность ГР в крови (на 26%, $p < 0.001$) и АРА (на 18%, $p < 0.01$) в печени. Содержание МДА превышало контрольные показатели на 58% ($p < 0.001$), что указывает на сохраняющуюся активность свободно-радикальных процессов. Среди фосфолипидных фракций следует отметить увеличенные относительно контроля количества ЛФЭ и ФК на 37 и 45% ($p < 0.001$), соответственно, что определяет сохраняющуюся повышенную активность фосфолипаз. Кроме того, сохранялось достоверно более высокое содержание СМ (на 16%, $p < 0.05$) и низкое ДФГ (на 45%, $p < 0.001$).

Сравнивая полученные величины изученных биохимических параметров между 4-й и 5-й группами (табл. 3) следует отметить, что при введении эссенциале оставались повышенными количество общих липидов печени на 21% ($p < 0.05$) и активность АлАТ на 35% ($p < 0.001$), чем таковые при введении липидного комплекса анфельции. В системе антиоксидантной защиты активности СОД, ГР и ГП были достоверно снижены на 10%, 23% и 17% соответственно. Также были ниже на 14% ($p < 0.05$) значения АРА. Следует отметить бо-

лее низкое значение ФЭ (снижение на 8%, $p < 0.05$) и более высокое значение ФК (увеличение на 48%, $p < 0.05$).

Введение липидного экстракта из анфельции и эссенциале способствовало коррекции нарушений, вызванных интоксикацией ЧХУ. Биохимический механизм, по нашему мнению, определяется особенностью входящих в их состав эссенциальных липидов, доминирующим из которых является ФХ. Этот фосфолипид отличается высокой степенью биодоступности, в результате чего более 50% экзогенного ФХ депонируется в клеточных мембранах печени (Oette *et al.*, 1995), что и обуславливает его высокий терапевтический потенциал.

В нашем исследовании гепатозащитное действие липидного комплекса анфельции имело преимущества перед препаратом сравнения эссенциале. Основной причиной наблюдаемого фармацевтического эффекта является то, что биологической активности полиненасыщенного фосфатидилхолина соевых бобов, входящего в состав эссенциале, противопоставлен многокомпонентный комплекс полярных липидов из экстракта таллома анфельции. Большая эффективность комплекса обусловлена не только наличием в его составе известных классов ФЛ морского происхождения, обладающих репаративными свойствами, но также комплексом ГЛ, которые представляют собой важный источник ПНЖК. Жирно-кислотный состав липидного комплекса анфельции отличается высокой степенью ненасыщенности за счет присутствия в своем составе значительных количеств ПНЖК семейства $n-3$ (эйкозапентаеновая; 22:5) и $n-6$ (арахидоновая; 20:4), что согласуется с известными литературными данными (Kostetsky *et al.*, 2004). Эти жирные кислоты необходимы для преобразования лизофосфолипидов в основные структурные компоненты мембран — ФХ и ФЭ. ПНЖК способны напрямую включаться в структурные процессы восстановления основных фосфолипидов плазматических мембран гепатоцитов, так как в отличие от ПНЖК 18:3 $n-3$ (α -линоленовая) и 18:4 $n-3$ (стеариновая), входящих в состав эссенциале, не требуют предварительного процесса элонгации и десатурации и, которые ввиду крайней ограниченности взаимного превращения в организме человека, не вносят значимый вклад в пул длинноцепочечных $n-3$ кислот. Кроме этого известно, что эйкозапентаеновая кислота является эффективным антиоксидантом, способным поглощать пероксид-анион радикал в два раза активнее, чем линолевая кислота (Richard *et al.*, 2008), содержание которой в эссенциале составляет до 70%. Также из литературы известно, что $n-3$ кислоты способны напрямую снижать экспрессию прооксидантного фермента системы цитохрома P450—CYP2E1 (Huang *et al.*, 2015). Этот фермент является центральным звеном при обра-

зовании свободных радикалов из ЧХУ, а также при окислении арахидоновой кислоты с образованием провоспалительных метаболитов. При этом $n-3$ кислоты активируют биосинтез антиоксидантных белков по пути Nrf2/HO-1 (Maksymchuk *et al.*, 2015) и индукцию супероксиддисмутазы (Garrel *et al.*, 2012). В результате при окислительном стрессе $n-3$ ПНЖК препятствуют образованию супероксиданионов и гидроксил-радикалов, а также восстанавливают пул низкомолекулярных антиоксидантов, таких как Г-SH (Patten *et al.*, 2013).

Важным аспектом гепатозащитного действия $n-3$ кислот является, с одной стороны, их способность преимущественно встраиваться в фосфолипиды мембран, вытесняя арахидоновую кислоту (Maksymchuk *et al.*, 2015), более подверженную липопероксидации, а с другой предотвращать ее окисление в провоспалительные метаболиты по пути циклооксигеназы-2 и липоксигеназы-5 (Gonzalez-Periz *et al.*, 2006).

* * *

Показано, что комплекс липидов из морской красной водоросли *A. tobuchiensis*, содержащий мембрано-активную фракцию фосфо- и гликолипидов с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот семейства $n-3$, обладает выраженным антиоксидантным и гепатозащитным эффектом в условиях поражения печени ЧХУ. Оно выражается в восстановлении параметров системы антиоксидантной защиты, включая нормализацию активности СОД, ГП, ГР и восстановлении пула Г-SH, а также в снижении уровня перекисного окисления липидов и восстановлении антирадикальной активности печени. Кроме этого, липиды из экстракта анфельции способствует нормализации фракционного состава фосфолипидов мембран гепатоцитов и торможению выхода в кровь печеночных ферментов. Исследуемый комплекс липидов из анфельции не только не уступает по своей эффективности эталонному гепатопротектору “Эссенциале”, но и превосходит его по способности восстанавливать массу животных, удельную массу печени, активность АЛТ, показатели липидного обмена и процессов перекисного окисления, более эффективно устраняя последствия токсического стресса.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № 0271-2019-0004 (№ государственной регистрации АААА-А17-117030110038-5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств.

М.: ОАО “Издательство “Медицина”, 2005. С. 683–691.

Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. 1985. № 1. Р. 60–61.

Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 324 с.

Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы “Перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита” в биологических жидкостях. Владивосток: ДВГУ. 2003. 80 с.

Титлянов Э.А., Титлянова Т.В. Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. Владивосток: Дальнаука. 2012. 377 с.

Ушкалова Е.А. Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине // Фарматека. 2003. № 10. С. 40–46.

Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2000. 398 с.

Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. Владивосток: Дальнаука. 2003. 230 с.

Хотимченко С.В., Гусарова И.С. Красные водоросли залива Петра Великого как источник арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот // Биология моря. 2004. Т. 30. № 3. С. 215–218.

Asztalos I.B., Gleason J.A., Sever S., Gedik R., Asztalos B.F., Horvath K.V., Dansinger M.L., Lamon-Fava S., Schaefer E.J. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial // Metab. Clin. Exp. 2016. V. 65. № 11. P. 1636–1645.

Boll M., Weber L.W., Becker E., Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites // Z. Naturforsch. C. 2001. V. 56. № 7–8. P. 649–659.

Bradford M.M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. № 1–2. P. 248–254.

Bupesh G., Amutha C., Vasanth S., Manoharan N., Raja R.S., Krishnamoorthy R., Subramanian P. Hepatoprotective efficacy of hypnea muciformis ethanolic extract on CCl₄ induced toxicity in rats // Braz. Arch. Biol. Technol. 2012. V. 55. № 6. P. 857–863.

Burk R.F., Lawrence R.A., Lane J.M. Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as the result of paraquat and diquat administration. Effect of selenium deficiency // J. Clin. Invest. 1980. V. 65. № 5. P. 1024–1031.

Carreau J.P., Dubaco J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatogr. A. 1978. V. 151. № 3. P. 384–390.

Christie W.W. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography A reappraisal // J. Chromatogr. A. 1988. V. 447. P. 305–314.

- 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. V. 1848. № 9. P. 1729–743.
- Day C.P., Burt A.D., Brown A.S.M., Bennett M.K., Farrell D.J., James O.F.W., Yeaman S.J. Plasma-membrane form of phosphatidate phosphohydrolase – a possible role in signal-transduction during liver fibrogenesis // *Clin. Sci*. 1993. V. 85. № 3. P. 281–287.
- 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. V. 226. № 1. P. 497–509.
- Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova E.S., Lesnikova L.N., Merzlyakov V.Y., Momot T.V. Lipid composition, content of polyphenols, and antiradical activity in some representatives of marine algae // *Russ. J. Plant Physiol*. 2019. V. 66. № 6. P. 942–949.
- Garrel C., Alessandri J.-M., Guesnet P., Al-Gubory K.H. Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2012. V. 44. № 1. P. 123–131.
- Goldberg D.M., Spooner R.J. Assay of glutathione reductase // *Method. Enzymat. Anal.* – Deerfield Beach: Verlag Chemie. 1983. V. 3. P. 258–265.
- Gonzalez-Periz A., Planaguma A., Gronert K., Miquel R., Lopez-Parra M., Titos E., Horrillo R., Ferre N., Deulofeu R., Arroyo V., Rodes J., Claria J. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA // *Faseb J*. 2006. V. 20. № 14. P. 1844–1855.
- Huang W., Wang B., Li X.Y., Kang J.X. Endogenously elevated n-3 polyunsaturated fatty acids alleviate acute ethanol-induced liver steatosis // *Biofactors*. 2015. V. 41. № 6. P. 453–462.
- Jump D.B., Depner C.M., Tripathy S., Lytle K.A. Potential for dietary omega-3 fatty acids to prevent nonalcoholic fatty liver disease and reduce the risk of primary liver cancer // *Adv. Nutr*. 2015. V. 6. № 6. P. 694–702.
- Khotimchenko S.V., Vaskovsky V.E. Distribution of C20 polyenoic fatty-acids in red macrophytic algae // *Bot. Mar*. 1990. V. 33. № 6. P. 525–528.
- Kostetsky E.Y., Goncharova S.N., Sanina N.M., Shnyrov V.L. Season influence on lipid composition of marine macrophytes // *Bot. Mar*. 2004. V. 47. № 2. P. 134–139.
- Madrigal-Santillan E., Madrigal-Bujaidar E., Alvarez-Gonzalez I., Sumaya-Martinez M.T., Gutierrez-Salinas J., Bautista M., Morales-Gonzalez A., Gonzalez-Rubio M., Aguilar-Faisal J.L., Morales-Gonzalez J.A. Review of natural products with hepatoprotective effects // *World J. Gastroenterol*. 2014. V. 20. № 40. P. 14787–14804.
- Maksymchuk O., Shysh A., Chashchyn M., Moibenko O. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids alter fatty acid composition of lipids and CYP2E1 expression in rat liver tissue // *Int. J. Vitam. Nutr. Res*. 2015. V. 85. № 5–6. P. 322–328.
- Oette K., Kuhn G., Romer A., Niemann R., Gundermann K.J., Schumacher R. Absorption of di-linoleoylphosphatidylcholine after oral administration // *Arzneimittel-Forschung*. 1995. V. 45. № 8. P. 875–879.
- Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide-dismutase activity in tissue-extracts // *Anal. Biochem*. 1986. V. 154. № 2. P. 536–541.
- Patten A.R., Brocardo P.S., Christie B.R. Omega-3 supplementation can restore glutathione levels and prevent oxidative damage caused by prenatal ethanol exposure // *J. Nutr. Biochem*. 2013. V. 24. № 5. P. 760–769.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Radic. Biol. Med*. 1999. V. 26. № 9–10. P. 1231–1237.
- Richard D., Kefi K., Barbe U., Bausero P., Visioli F. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants // *Pharmacol. Res*. 2008. V. 57. № 6. P. 451–455.
- Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids // *Lipid Chromatographic Analysis*. N.Y.: Dekker, 1967. V. 1. P. 99–162.
- Ryu A., Itabe H., Mutoh M., Kudo I., Arai H., Inoue K. Enhanced degradation of phospholipids by phospholipase A2 in liver of carbon tetrachloride-treated rat // *J. Health Sci*. 2000. V. 46. № 4. P. 275–281.
- Sanzgiri U.Y., Srivatsan V., Muralidhara S., Dallas C.E., Bruckner J.V. Uptake, distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures // *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 1997. V. 143. № 1. P. 120–129.
- Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin-layer microchromatography of lipids // *J. Chromatogr*. 1972. V. 67. № 2. P. 376–3788.
- Van Gent C.M., Roseleur O.J., Van Der Bijl P. The detection of cerebrosides on thin-layer chromatograms with an anthrone spray reagent // *J. Chromatogr. A*. 1973. V. 85. № 1. P. 174–176.
- Vaskovsky V.E., Khotimchenko S.V. HPTLC of polar lipids of algae and other plants // *J. High Resol. Chromatogr*. 1982. V. 5. № 11. P. 635–636.
- Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // *J. Chromatogr*. 1975. V. 114. № 1. P. 129–141.
- Vaskovsky V.E., Terekhova T.A. HPTLC of Phospholipid mixtures containing phosphatidylglycerol // *J. Sep. Sci*. 1979. V. 2. № 11. P. 671–672.
- Weber L.W.D., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model // *Crit. Rev. Toxicol*. 2003. V. 33. № 2. P. 105–136.

Effect of Lipid Complex From Marine Red Algae *Ahnfeltia tobuchiensis* on the Metabolic Reactions of the Liver in Experimental Toxic Hepatitis

V. G. Sprygin^{1, #}, N. F. Kushnerova¹, and S. E. Fomenko¹

¹ *V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEBRAS, Vladivostok, 690041 Russia*

[#] *e-mail: vgs2006@mail.ru*

The effect of the lipid complex isolated from water-ethanol extract of thallus from the species red seaweed *Ahnfeltia tobuchiensis* (LCA) was studied on the biochemical parameter of blood and liver of mice at carbon tetrachloride impact. The administration of LCA was shown to offer a pronounced antioxidant and hepatoprotective effect, which exceeded that of "Essentiale®" referenced hepatoprotector in its ability to restore animal weight, specific liver mass, A1AT activity, lipid metabolism and reduce lipid peroxidation. The hepatoprotective effect of LCA is due to the action of its constituent phospholipids and glycolipids of marine origin, characterized by a high content of polyunsaturated fatty acids of group n-3.

Keywords: *Ahnfeltia tobuchiensis*, marine lipids, n-3 PUFA, carbone tetrachloride, hepatoprotectors, liver, lipids metabolism, antioxidant system