

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА СТОЙКОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН

М.В. Мельникова\*, Е.Б. Шустов, Л.Г. Кубарская, А.В. Бельская, А.А. Бондаренко,  
А.С. Мелехова, Е.П. Подольская, К.А. Краснов

ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»  
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

При исследовании различных режимов введения лабораторным животным установлены дозы и длительность введения, при которых комплексы биологически активных веществ (БАВ) водорослей *F. vesiculosus* и *S. latissima* проявляют умеренную цитопротекторную активность (15 и 30 мг/кг для *S. latissima*, 60 и 120 мг/кг для *F. vesiculosus*; трёхдневное введение). Для комплекса БАВ *F. vesiculosus* характерна более высокая в сравнении с комплексом БАВ *S. latissima* активность в отношении осмотической резистентности эритроцитов, в то время как комплекс БАВ ламинарии характеризовался более высокой активностью в отношении перекисной резистентности эритроцитов. Указанные особенности подчёркивают целесообразность совместного применения этих экстрактов. При трёхдневном совместном введении комплексов БАВ *F. vesiculosus* и *S. latissima* в дозах 60 и 15 мг/кг соответственно была определена высокая мембранопротекторная и антиоксидантная активность. Однако увеличение дозы или длительности введения снижает степень положительного влияния комплексов БАВ на стойкость эритроцитарных мембран.

**Ключевые слова:** эритроциты, гемолиз, мембранопротекторные свойства, антиоксидантная активность, биологически активные вещества, бурые водоросли

**Финансирование:** работа была проведена в рамках Государственного задания Федерального медико-биологического агентства № 388-00113-21-00 (код 64.003.21.800).

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Мельникова М.В., Шустов Е.Б., Кубарская Л.Г., Бельская А.В., Бондаренко А.А., Мелехова А.С., Подольская Е.П., Краснов К.А. Изучение влияния биологически активных веществ бурых водорослей на стойкость эритроцитарных мембран. *Биомедицина*. 2021;17(3E):151–155.  
<https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-151-155>

Поступила 19.04.2021

Принята после доработки 24.06.2021

Опубликована 20.10.2021

## EFFECTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM BROWN ALGAE ON THE RESISTANCE OF ERYTHROCYTE MEMBRANES

Margarita V. Melnikova\*, Evgeniy B. Shustov, Larisa G. Kubarskaya, Alisa V. Belskaya,  
Anastasiya A. Bondarenko, Aleksandra S. Melekhova, Ekaterina P. Podolskaya,  
Konstantin A. Krasnov

Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

A study of different modes of administration of bioactive substances (BAS) of algae *F. vesiculosus* and *S. latissima* to laboratory animals allowed the authors to establish the doses and duration of administration,

at which the complexes under study show moderate cytoprotective activity (15 and 30 mg/kg for *S. latissima*, 60 and 120 mg/kg for *F. vesiculosus*; three-day administration). It was found that the complex of BAS *F. vesiculosus* is characterized by a higher activity with respect to erythrocyte osmotic resistance compared to the complex of BAS *S. latissima*. At the same time, the complex of BAS laminaria is characterized by a higher activity with respect to erythrocyte peroxide resistance. The above features emphasize the feasibility of combined use of these extracts. At three-day combined administration of complexes of BAS *F. vesiculosus* and *S. latissima* at doses of 60 and 15 mg/kg, respectively, their high membrane-protective and antioxidant activity was determined. However, a higher dose or longer administration of the BAS complexes negatively affects the resistance of erythrocyte membranes.

**Keywords:** erythrocyte, hemolysis, membrane-stabilizing action, antioxidative activity, bioactive substances, brown algae

**Funding:** this work was performed in the framework of State task of the Federal Medical and Biological Agency No. 388-00113-21-00 (number 64.003.21.800).

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Melnikova M.V., Shustov E.B., Kubarskaya L.G., Belskaya A.V., Bondarenko A.A., Melekhova A.S., Podolskaya E.P., Krasnov K.A. Effects of Biologically Active Substances from Brown Algae on the Resistance of Erythrocyte Membranes. *Journal Biomed.* 2021;17(3E):151–155. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-17-3E-151-155>

Submitted 19.04.2021

Revised 24.06.2021

Published 20.10.2021

## Введение

Биологическая активность многих соединений зависит от их способности влиять на регуляцию процессов перекисного окисления липидов, а также воздействовать на структурное состояние клеточных мембран. Модельной биологической системой исследования механизмов развития окислительных повреждений клеточных мембран являются эритроциты крови [2]. Эритроциты чувствительны к окислительным повреждениям вследствие значительного содержания полиненасыщенных жирных кислот в липидах мембран и наличия гемоглобина, являющегося потенциальным промотором окислительных процессов. В связи с этим для оценки мембранопротекторного действия исследуемых стандартизированных по содержанию маркерного каротиноида фукоксантина экстрактов бурых водорослей Белого моря были изучены показатели, характеризующие стойкость эритроцитарных мембран.

## Материалы и методы

В работе были использованы белые беспородные крысы-самцы возрастом 3 мес. массой 200–220 г, источник получения — питомник «Рапполово», Ленинградская обл. Продолжительность карантина составила 14 дней. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утверждёнными постановлением главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Выделение комплексов биологически активных веществ (БАВ) из водорослей *F. vesiculosus* и *S. latissima* осуществляли по оригинальной методике, разработанной в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова

ФМБА России [3]. Исследуемые образцы комплексов БАВ водорослей вводили внутривенно с помощью зонда в течение 3 и 28 дней. Забор крови осуществлялся на 4-й и 29-й дни после начала введения. В исследовании использовались 3 уровня доз (половинная, однократная и пятикратная), рассчитанные исходя из процентного содержания фукоксантина в комплексах БАВ *F. vesiculosus* и *S. latissima*, 1 и 4% соответственно.

Перекисную и осмотическую резистентность эритроцитов определяли, модифицировав способ, описанный в работе [1]. Эритроциты двукратно отмывали в физ. р-ре, готовили 3 экспериментальные пробы. Для этого к 5% суспензии эритроцитов добавляли: 0,068% перекись водорода, дистиллированную воду с добавкой буфера, забуференный физ. р-р. На последнем этапе в каждую из проб добавляли 0,2% р-ра азида натрия. Затем пробы инкубировали 1 ч при температуре 37°C и центрифугировали 10 мин при 2000 g, надосадочную жидкость добавляли к трансформирующему раствору и определяли величину оптической плотности  $E_{541}$  спектрофотометрически.

## Результаты и их обсуждение

Спонтанный гемолиз эритроцитов — это маркер их повреждения токсическими или иными неблагоприятными воздействиями на организм животного. Осмотическая резистентность эритроцитов обратно пропорциональна уровню гемолиза, вызванного инкубацией эритроцитов в дистиллированной воде с добавкой буфера. Показатель осмотической резистентности (ПОР) определяет интегральную устойчивость эритроцитарных мембран к повреждению, вызванному градиентом осмотически активных веществ, и может отражать активность энергопродуцирующих механизмов клетки.

В ходе работы установлено, что только экстракт фукуса в дозе 120 мг/кг повышал осмотическую резистентность эритроцитов,

что может отражать его влияние на энергозависимые механизмы ионного транспорта и проявлять мембранопротекторное действие. Более низкие дозы комплексов БАВ не оказывали статистически достоверного положительного влияния на этот показатель. Длительное введение обоих экстрактов в пятикратной дозе снижало осмотическую резистентность эритроцитов.

Перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ) на организменном уровне может отражать устойчивость к окислительному стрессу. Её уровень определяется балансом проокислительных и антиоксидантных факторов, воздействующих на мембраны эритроцитов, соотношением насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидном бислое мембран, количеством макроэргических фосфатных связей, поддерживающих заряд клеточной мембраны и доступность мест свободнорадикального окисления липидов к воздействию активных форм кислорода.

Комплекс БАВ ламинарии содержит в своём составе липотропные компоненты, способные встраиваться в фосфолипидный бислой мембран эритроцитов и повышать её устойчивость к перекисному окислению, что проявляется повышением ПРЭ в дозе 15 мг/кг при трёхдневном введении. Длительное введение в пятикратной дозе снижало ПРЭ практически в 2 раза для обоих экстрактов.

Интегральный показатель — стойкость мембран эритроцитов (СМЭ) — объединяет влияние на два показателя (осмотическую и перекисную резистентность), корреляционный анализ выявляет наличие взаимодействия только с перекисной резистентностью ( $r=0,44$ ), что отражает несколько больший вклад этого показателя. Корреляционные связи между осмотической резистентностью и перекисной отсутствуют ( $r=-0,16$ ), что требует анализировать эти показатели как независимые (самостоятельные).

## Выводы

Комплекс БАВ *F. vesiculosus* в дозе 120 мг/кг способен повышать осмотическую резистентность эритроцитов, что может отражать его влияние на уровень АТФ-зависимых процессов поддержания градиентов осмотически активных веществ в живой клетке. Комплекс БАВ *S. latissima* в дозе 15 мг/кг при курсовом введении способен повышать уровень перекисной резистентности эритроцитов, что отражает спо-

собность его компонентов накапливаться в клеточных мембранах и препятствовать в них активному протеканию процессов свободнорадикального окисления липидов, ведущих к нарушениям целостной структуры и функции эритроцитарных мембран. Определена высокая мембранопротекторная и антиоксидантная активность при совместном введении в течение 3 дней комплексов БАВ *F. vesiculosus* и *S. latissima* в дозах 60 и 15 мг/кг соответственно.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Михайлов С.С., Романчук Л.А., Фактор Э.А. *Способ определения перекисной резистентности эритроцитов*. Патент РФ 2134420 С1, МПК G 01 N 33/50. 1997. [Mikhaylov S.S., Romanchuk L.A., Faktor E.A. *Sposob opredeleniya perekisnoy rezistentnosti eritrotsitov* [Method for determination of erythrocyte peroxide resistance]. Patent RF 2134420 S1, МПК G 01 N 33/50. 1997. (In Russian)].
2. Подосиновикова Н.П., Краснов К.А., Бондаренко А.А., Александрова М.Л., Зайцева М.А., Халаман В.В. Изучение токсичности и безопасности липофильных экстрактов беломорских бурых водорослей — фукуса пузырчатого и ламинарии сахаристой на модели *Daphnia magna Straus*. *Токсикологический вестник*. 2020;4:49–55. [Podosinikov N.P., Krasnov K.A., Bondarenko A.A., Alexandrova M.L., Zaytseva M.A., Khalaman V.V. *Izucheniye toksichnosti i bezopasnosti lipofil'nykh ekstraktov belomorskikh burykh vodorosley — fukusa puzyrchatogo i laminarii sakharistoy na modeli Daphnia magna Straus* [Studying the toxicity and safety of the lipophilic extracts of belomorian brown algae — fucus vesiculosus and saccharina latissima on the *Daphnia magna Straus* model]. *Toksikologicheskii vestnik* [Toxicology Bulletin]. 2020;4:49–55. (In Russian)].
3. Шевченко О.Г., Шишкина Л.Н. Анализ метода окислительного гемолиза эритроцитов крови для оценки антиоксидантной и мембранопротекторной активности природных и синтетических соединений. *Успехи современной биологии*. 2014;134(2):133–148. [Shevchenko O.G., Shishkina L.N. *Analiz metoda oksislitel'nogo gemoliza eritrotsitov krovi dlya otsenki antioksidantnoy i membranoprotektrnoy aktivnosti prirodnnykh i sinteticheskikh soedineniy* [Analysis of a method for oxidative hemolysis of blood erythrocytes to assess the antioxidant and membrane-protective activities of natural and synthetic compounds]. *Uspekhi sovremennoy biologii* [Advances in modern biology]. 2014;134(2):133–148. (In Russian)].

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Мельникова Маргарита Викторовна\***, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
e-mail: [margarita10108@mail.ru](mailto:margarita10108@mail.ru)

**Шустов Евгений Борисович**, д.м.н., проф., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;

e-mail: [shustov-msk@mail.ru](mailto:shustov-msk@mail.ru)

**Кубарская Лариса Георгиевна**, к.б.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;

e-mail: [larkub@yandex.ru](mailto:larkub@yandex.ru)

**Margarita V. Melnikova\***, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: [margarita10108@mail.ru](mailto:margarita10108@mail.ru)

**Evgeniy B. Shustov**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: [shustov-msk@mail.ru](mailto:shustov-msk@mail.ru)

**Larisa G. Kubarskaya**, Cand. Sci. (Biol.), Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: [larkub@yandex.ru](mailto:larkub@yandex.ru)

**Бельская Алиса Владимировна**, ФГБУ  
«Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [belskayaalisa@gmail.com](mailto:belskayaalisa@gmail.com)**

**Бондаренко Анастасия Александровна**, ФГБУ  
«Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [bondarenko-nastua@yandex.ru](mailto:bondarenko-nastua@yandex.ru)**

**Мелехова Александра Сергеевна**, ФГБУ  
«Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [melehovaalexandra@gmail.com](mailto:melehovaalexandra@gmail.com)**

**Подольская Екатерина Петровна**, к.х.н.,  
ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова ФМБА  
России»;  
**e-mail: [ek.podolskaya@gmail.com](mailto:ek.podolskaya@gmail.com)**

**Краснов Константин Андреевич**, к.х.н., ФГБУ  
«Научно-клинический центр токсикологии  
имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;  
**e-mail: [krasnov\\_tox@mail.ru](mailto:krasnov_tox@mail.ru)**

**Alisa V. Belskaya**, Golikov Research Clinical  
Center of Toxicology of the Federal Medical and  
Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [belskayaalisa@gmail.com](mailto:belskayaalisa@gmail.com)**

**Anastasiya A. Bondarenko**, Golikov Research  
Clinical Center of Toxicology of the Federal  
Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [bondarenko-nastua@yandex.ru](mailto:bondarenko-nastua@yandex.ru)**

**Aleksandra S. Melekhova**, Golikov Research  
Clinical Center of Toxicology of the Federal  
Medical and Biological Agency of Russia;  
**e-mail: [melehovaalexandra@gmail.com](mailto:melehovaalexandra@gmail.com)**

**Ekaterina P. Podolskaya**, Cand. Sci. (Chem.),  
Golikov Research Clinical Center of Toxicology  
of the Federal Medical and Biological Agency  
of Russia;  
**e-mail: [ek.podolskaya@gmail.com](mailto:ek.podolskaya@gmail.com)**

**Konstantin A. Krasnov**, Cand. Sci. (Chem.),  
Golikov Research Clinical Center of Toxicology  
of the Federal Medical and Biological Agency  
of Russia;  
**e-mail: [krasnov\\_tox@mail.ru](mailto:krasnov_tox@mail.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author