

УДК 616.13-004.6-085.37:615.322:582.272

К.В. Майстровский<sup>1</sup>, Т.С. Запорожец<sup>1</sup>, Л.Н. Федянина<sup>2</sup>, Т.К. Каленик<sup>2</sup>, Е.В. Моткина<sup>2</sup>, Т.И. Имбс<sup>3</sup>

<sup>1</sup>НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1), <sup>2</sup>Тихоокеанский государственный экономический университет (690091 г. Владивосток, Океанский пр-т, 19), <sup>3</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159)

## ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ФУКОИДАНА ИЗ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ *FUCUS EVANESCENS* НА ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ, ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У МЫШЕЙ

*Ключевые слова:* фукоидан, обмен липидов и углеводов, эксперимент.

На моделях алиментарной гиперхолестеринемии и аллоксанового диабета у мышей изучено влияние иммуномодулятора фукоидана из бурых водорослей *Fucus evanescens* на состояние антиоксидантной системы, липидный и углеводный обмен. Установлена способность данного полисахарида снижать уровень глюкозы и общего холестерина, нормализовать распределение холестерина между фракциями липопротеидов, снижать коэффициент атерогенности и стабилизировать уровень продуктов перекисного окисления липидов.

Нарушения липидного и углеводного обмена лежат в основе патогенеза многих заболеваний, и в первую очередь атеросклероза. К настоящему времени также получены доказательства патогенетической связи между изменениями обмена липидов, углеводов и системным воспалением, являющимся одним из важнейших и неотъемлемых компонентов атерогенеза [8–10]. В этой связи эффективность профилактических и лечебных мероприятий на всех стадиях атеросклероза во многом связана с коррекцией дислипидемий, нормализацией углеводного обмена и оксидантного статуса.

Основными гиполипидемическими препаратами на сегодняшний день являются ингибиторы синтеза холестерина (статины), фибраты, производные никотиновой кислоты. Постоянный или длительный прием этих препаратов замедляет процесс прогрессирования атеросклероза, однако высокая стоимость лечения и побочные эффекты диктуют поиск альтернативных решений. Одним из возможных подходов здесь может явиться использование биокорректоров, в том числе сульфатированных полисахаридов, обладающих многокомпонентным действием.

В экспериментах на животных показана способность фукоидана из *Laminaria japonica* значительно снижать уровень общего холестерина, триглицеридов и липопротеидов низкой плотности, увеличивать содержание липопротеидов высокой плотности в сыворотке крови при гиперхолестеринемии и гиперлипидемии, нормализовать процессы перекисного окисления, а также эффективно предотвращать формирование экспериментальной гиперхолестеринемии [11–13]. Результаты клинических испытаний

фукоидана у больных с гиперлипидемией [11] также свидетельствуют о гиполипидемических свойствах данного полисахарида.

Ранее мы показали, что фукоидан из бурой водоросли Охотского моря *Fucus evanescens* обладает иммуномодулирующими, противовоспалительными, антикоагулянтными свойствами [1]. Установлено также корректирующее влияние биологически активной добавки «Фуколам» на основе фукоидана из *F. evanescens* на систему гемостаза (снижение гиперкоагуляционного потенциала крови) и степень выраженности воспалительного процесса у пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей [3].

Целью настоящей работы явился анализ влияния фукоидана из *F. evanescens* на показатели антиоксидантной системы, липидного и углеводного обмена у мышей с экспериментальным аллоксановым диабетом и алиментарной гиперхолестеринемией.

**Материал и методы.** Объектом исследования явился фукоидан, выделенный из бурой водоросли *F. evanescens* оригинальным способом [2]. Эксперимент проведен на неинбредных мышах массой тела 18–20 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая» (по 20 животных в каждой из нижеописанных групп). Работа выполнена с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах.

Для исследования влияния фукоидана на состояние антиоксидантной системы и липидного обмена использовали модель алиментарной гиперхолестеринемии. Животных 1-й группы (интактный контроль) содержали на стандартном рационе вивария. Мыши 2-й группы (контроль гиперхолестеринемии) в течение 4 недель получали атерогенную диету: пшеничная каша, сливочное масло – 5% и свиное сало – 25% от веса пищи, а также эмульсию холестерина в растительном масле (через зонд) из расчета 0,4 г/кг массы тела. Мыши 3-й группы (опыт) на фоне атерогенной диеты в течение 4 недель получали перорально фукоидан (50 мг/кг массы).

В сыворотке крови, полученной при пункции сердца под эфирным наркозом, биохимическим методом с помощью набора реактивов фирмы «Ольвекс Диагностикум» (Россия) определяли содержание общего холестерина (ХС), триглицеридов, ХС

липопротеидов низкой, очень низкой и высокой плотности (ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП). Суммарную фракцию (ХС ЛПНП и ЛОНП) вычисляли из разницы концентраций общего ХС и ХС ЛПВП. Индекс атерогенности рассчитывали как отношение разности суммарной фракции ХС и ХС ЛПВП к ХС ЛПВП. Показатели перекисного окисления липидов оценивали, измеряя содержание малонового диальдегида в эритроцитах крови экспериментальных животных [4].

Исследование влияния фукоидана на уровень глюкозы проводили на модели диабета, индуцированного у мышей однократным внутрибрюшинным введением диабетогенной дозы аллоксана (17 мг/100 г массы). 1-я группа животных (интактный контроль) содержалась на стандартном рационе вивария; 2-я группа – мыши с аллоксановым диабетом; 3-я группа – мыши с аллоксановым диабетом, получавшие перорально в течение 3 недель фукоидан (50 мг/кг массы). Содержание глюкозы в сыворотке крови измеряли с помощью ферментативного колориметрического метода.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы Biostat и Excel. Для оценки значимости различий при нормальном распределении количественных признаков использовали t-критерий Стьюдента.

**Результаты исследования.** У мышей контрольной группы, получавших атерогенную диету, в сыворотке крови статистически значимо увеличивалось содержание триглицеридов и ХС в атерогенных классах (ЛПНП и ЛПОНП), а также увеличивался коэффициент атерогенности по сравнению с показателями у интактных животных. У мышей, получавших фукоидан, уровень общего ХС в сыворотке крови снижался, что приводило к увеличению относительного содержания липопротеидов высокой плотности и обеспечивало снижение коэффициента атерогенности крови (табл.).

При определении промежуточных продуктов перекисного окисления липидов у животных, содержащихся на атерогенной диете, статистически значимо увеличивалось содержание малонового диальдегида в эритроцитах по сравнению с показателями у интактных животных ( $10,3 \pm 0,4$  и  $8,3 \pm 0,2$  мкмоль/г гемоглобина соответственно). Была установлена способность препарата в условиях атерогенной нагрузки снижать уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов. У мышей, получавших фукоидан, отмечена тенденция к уменьшению концентрации малонового диальдегида в эритроцитах ( $8,9 \pm 0,5$  мкмоль/г гемоглобина).

При экспериментальном аллоксановом диабете прием фукоидана способствовал стабилизации углеводного обмена. Так, в сыворотке крови у мышей с аллоксановым диабетом наблюдалось увеличение уровня глюкозы по сравнению со здоровыми животными ( $12,1 \pm 1,2$  и  $7,9 \pm 0,3$  ммоль/л соответственно).

Таблица

Влияние фукоидана из *F. evanescens* на показатели липидного обмена у мышей с экспериментальной холестеринемией ( $M \pm m$ )

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Общий ХС, ммоль/л	$2,8 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,2^1$	$4,0 \pm 0,2^2$
ХС ЛПНП, ммоль/л	$0,66 \pm 0,06$	$1,80 \pm 0,27^1$	$1,01 \pm 0,1^2$
ХС ЛПОНП, ммоль/л	$0,37 \pm 0,03$	$0,54 \pm 0,03^1$	$0,43 \pm 0,04^2$
ХС ЛПВП, ммоль/л	$1,70 \pm 0,10$	$2,40 \pm 0,20^1$	$2,60 \pm 0,24$
Триглицериды, ммоль/л	$0,83 \pm 0,06$	$1,20 \pm 0,06^1$	$0,94 \pm 0,24^2$
КА <sup>3</sup>	$0,64 \pm 0,05$	$1,06 \pm 0,20^1$	$0,53 \pm 0,24^2$

<sup>1</sup> Различие с 1-й группой статистически значимо.

<sup>2</sup> Различие со 2-й группой статистически значимо.

<sup>3</sup> Коэффициент атерогенности.

У мышей с аллоксановым диабетом, получавших фукоидан, отмечена тенденция к уменьшению этого показателя ( $9,6 \pm 0,2$  ммоль/л).

**Обсуждение полученных данных.** Ключевым моментом в атеросклеротическом воспалении является снижение рецепторного поглощения клетками ХС ЛПНП и, как следствие, накопление его в крови и тканях с гликозилированием, ацетилизацией и оксидацией, а также с деградацией апопротеина в другие химические соединения [9, 10]. Модифицированные ЛПНП обладают выраженными провоспалительными и проатерогенными свойствами: стимулируют синтез молекул адгезии, хемокинов, факторов роста, увеличивают пролиферацию гладкомышечных клеток и деградацию коллагена, повышают коагуляционную способность крови.

По мнению В.В. Тергова и др. [7], изменение структуры ЛПНП происходит из-за снижения их содержания в составе сиаловых кислот, являющихся полифункциональными соединениями с сильными кислотными свойствами. В норме сиаловые кислоты в свободном виде не встречаются, а входят в состав различных углеводсодержащих веществ (гликопротеины, гликолипиды, олигосахариды). Занимая в их молекулах концевое положение, сиаловые кислоты оказывают значительное влияние на физико-химические свойства и биологическую активность этих соединений. В. Li et al. [11] полагают, что фукоиданы, действуя подобно сиаловым кислотам, увеличивают отрицательный заряд клеточной поверхности, способствуя связыванию холестерина и желчных кислот, ответственных за транспорт жиров из кишечника в кровь. Связывание желчных кислот в кишечнике приводит к стимуляции их образования в печени за счет деградации холестерина, поступающего сюда в виде атерогенных липопротеидов. В свою очередь снижение уровня общего холестерина и липопротеидов низкой плотности в крови способствует

поступлению в нее холестерина из тканей, в том числе из артерий [5].

Гипохолестеринемический эффект фукоидана может быть также обусловлен способностью полисахаридов слабее связывать гидрофильные желчные кислоты, способствуя увеличению в плазме относительного содержания гидрофобных желчных кислот, которые сильнее ингибируют активность холестерин-7-гидроксилазы в печени [9, 14]. Полученные результаты подтверждают и данные М.Я. Розкина и др. [6], показавших способность фукоиданов стимулировать липолиз путем активации фермента липопротеидлипазы.

Возможные механизмы гипогликемического эффекта фукоидана также могут быть связаны с замедлением всасывания глюкозы из кишечника в кровь, стимуляцией ферментов, ответственных за утилизацию глюкозы, а также стимуляцией высвобождения инсулина. Кроме того, липидопонижающий эффект фукоидана может обуславливать увеличение поглощения глюкозы периферическими тканями.

Таким образом, результаты исследования показывают, что фукоидан, полученный из *F. evanescens*, не только является иммуномодулятором, но и обладает уникальной многокомпонентной биологической активностью, обусловленной его структурными особенностями. Сочетание ранее обнаруженных противовоспалительных и иммуномодулирующих свойств фукоидана из *F. evanescens* с антикоагулянтной активностью, а также установленные в настоящей работе гиполипидемические, гипогликемические и антиоксидантные свойства делают перспективным его использование для улучшения гемореологии, микроциркуляции и снижения склонности к тромбозам, а также для нормализации липидного и углеводного обмена при атеросклерозе.

В современной мировой практике известны биопрепараты, по общему механизму действия аналогичные фукоидану, однако ограниченное присутствие на отечественном рынке и высокая стоимость делает их малодоступными для потребителей. В то же время уникальность химических структур, наличие сырьевой базы в Дальневосточном регионе, экологически чистые и экономичные технологии производства создают предпосылки для использования представленного выше биополимера в качестве основы для лекарственных препаратов и более широкого его применения в клинической практике.

#### Литература

1. Запорожец Т.С. Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробрионтов: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2006. 350 с.
2. Звягинцева Т.Н., Шевченко Н.М., Попивнич И.Б. и др. Способ получения водорастворимых полисахаридов бурых водорослей // Патент РФ № 2135518. Бюллетень. 1999. № 24. 3 с.
3. Майстровский К.В., Запорожец Т.С., Раповка Ю.В. и др. Коррекция гемостаза у больных облитерирующим

атеросклерозом сосудов нижних конечностей сульфатированным полисахаридом из бурой водоросли *Fucus evanescens*: материалы IV Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии в сердечно-сосудистой хирургии (с международным участием). М., 2009. С. 246.

4. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «перекисное окисление липидов—антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток: Изд-во Дальневосточного ун-та, 2003. 80 с.
5. Пискун Р.П., Пентюк А.А., Серкова В.К. и др. Энтеросорбенты в лечении атеросклероза // Эксперим. и клин. фармакол. 1998. Т. 61, № 2. С. 69–74.
6. Розкин М.Я., Левина М.Н., Ефимов В.С., Усов А.И. Антикоагулянтная и стимулирующая липолиз активность полисахаридов из бурых морских водорослей // Фармакол. и токсикол. 1991. Т. 54, № 5. С. 40–42.
7. Тертов В.В., Собенин И.А., Лазарева В.Л. и др. Взаимодействие множественно-модификационных (десульфированных) ЛПНП, выделенных из крови больных атеросклерозом, с клеточными рецепторами. // Бюлл. экспер. биол. и мед. 1994. № 1. С. 53–55.
8. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса // Биохимия. 2000. № 4. С. 3–10.
9. Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др. Фармакология некрахмальных полисахаридов // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1. С. 72–82.
10. Epstein F.H. Atherosclerosis – an inflammatory disease // N. Engl. J. Med. 1999. Vol. 340, No. 2. P. 115–126.
11. Li B., Lu F., Wei X., Zhao R. Fucoidan: Structure and Bioactivity // Molecules. 2008. No. 13. P. 1671–1695.
12. Li D.Y., Xu Z., Huang L.M. et al. Effect of fucoidan of *L. japonica* on rats with hyperlipidemia // Food. Sci. 2001. Vol. 22. P. 92–95.
13. Li D.Y., Xu Z., Zhang S.H. Prevention and cure of fucoidan of *L. japonica* on mice with hypercholesterolemia. // Food. Sci. 1999. Vol. 20. P. 45–46.
14. Sagawa T.I.H., Kato I. Fucoidan as functional foodstuff. Structure and biological potency // Japan J. Phycol. 2003. Vol. 51. P. 19–25.

Поступила в редакцию 14.04.2009.

#### EFFECTS OF IMMUNE RESPONSE MODULATING AGENT “FUCOIDAN” DERIVED FROM *FUCUS EVANESCENS* BROWN ALGAE ON THE PARAMETERS OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM, LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN MICE

K.V. Maistrovskiy<sup>1</sup>, T.S. Zapozhetskaya<sup>1</sup>, L.N. Fedyanina<sup>2</sup>, T.K. Kalenik<sup>2</sup>, E.V. Motkina<sup>2</sup>, T.I. Imbs<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Research Centre of Epidemiology and Microbiology of the RAMS, Siberian Branch (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), <sup>2</sup> Pacific State University of Economics (19 Okeanskiy Av. Vladivostok 690091 Russia), <sup>3</sup> Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159 100-Anniversary Av. Vladivostok 690022 Russia)

**Summary** – The models of alimentary hypercholesterolemia and alloxan diabetes in mice allowed to study effects of the immune response-modulating agent fucoidan derived from the brown algae *Fucus evanescens* on the state of antioxidative system, as well as identify capability of this polysaccharide to decrease levels of glucose and total cholesterol, normalize dissipation of this cholesterol between lipoprotein fractions, reduce atherogenicity factor, and stabilize lipid peroxidation level of the derivatives.

**Key words:** fucoidan, lipid and carbohydrate metabolism, experiment.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 97–99.