

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.133.64>**ВЛИЯНИЕ ЭТИЛОВОГО СПИРТА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И ЕГО
КОРРЕКЦИЯ ЛИПИДНЫМ КОМПЛЕКСОМ ИЗ ТУНИКИ МОРСКОГО ГИДРОБИОНТА *HALOCINTHIA
AURANTIUM***

Научная статья

Другова Е.С.^{1,*}, Кушнерова Н.Ф.², Мерзляков В.Ю.³, Фоменко С.Е.⁴, Спрыгин В.Г.⁵, Лесникова Л.Н.⁶, Момот Т.В.⁷¹ ORCID : 0000-0002-7472-5958;² ORCID : 0000-0002-6476-0039;³ ORCID : 0000-0002-9536-3247;⁴ ORCID : 0000-0002-0261-0190;⁵ ORCID : 0000-0001-7400-909X;⁶ ORCID : 0000-0003-4187-230X;⁷ ORCID : 0000-0003-3873-0343;^{1, 2, 3, 4, 5, 6} Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева, Владивосток, Российская Федерация⁷ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (drugova_e[at]poi.dvo.ru)

Аннотация

Введение липидного комплекса, выделенного из туники асцидии пурпурной (*Halocynthia aurantium*) после интоксикации этиловым спиртом способствовало восстановлению липидного состава мембран эритроцитов, показателей осмотической резистентности и размерных характеристик эритроцитов крыс за счет входящих в его состав природных фосфолипидов и жирных кислот, что и определяет мембранозащитный эффект препарата.

Цель работы: изучить влияние липидного комплекса, выделенного из туники асцидии пурпурной на липидный состав мембран эритроцитов крыс в условиях интоксикации этиловым спиртом.

Проведен эксперимент на белых крысах-самцах линии Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой: 1-я – контроль (интактные); 2-я – введение 33% этилового спирта в течение 7 дней; 3-я – введение 33% этилового спирта в течение 7 дней с последующей отменой в течение 7 дней; 4-я – введение липидного комплекса асцидии в течение 7 дней после 7-дневной интоксикации этиловым спиртом. Этанол (33%) вводили в дозе 7,5 мл/кг два раза в сутки, а липидный комплекс асцидии в дозе 0,2 мл/100 г массы.

Интоксикация этиловым спиртом сопровождалась нарушением липидного состава эритроцитарных мембран: увеличились значения холестерина, сфингомиелина, лизофракций фосфолипидов. Увеличивались размерные характеристики эритроцитов и снижалась их осмотическая резистентность. В период отмены этанола в течение 7 дней сохранялся макроцитоз, не наблюдалось полного восстановления липидной составляющей мембран эритроцитов. Введение липидного комплекса асцидии в период после отмены этанола способствовало восстановлению липидного спектра мембран эритроцитов, а также нормализовало физиологические характеристики эритроцитов крыс.

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении структурной организации мембран эритроцитов при интоксикации этиловым спиртом, что требует необходимости профилактической фармакокоррекции. Применение липидных комплексов, содержащих «морские» липиды, выделенные из морских гидробионтов, в частности из туники асцидии пурпурной, может быть полезным и перспективным в комплексной реабилитации больных алкоголизмом.

Ключевые слова: *Halocynthia aurantium*, эритроциты, фосфолипиды, нейтральные липиды, осмотическая резистентность.

**INFLUENCE OF ETHYL ALCOHOL ON THE LIPID COMPOSITION OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AND
ITS CORRECTION BY LIPID COMPLEX FROM THE TUNICATE OF THE MARINE HYDROBIONT
*HALOCINTHIA AURANTIUM***

Research article

Drugova Y.S.^{1,*}, Kushnerova N.F.², Merzlyakov V.Y.³, Fomenko S.Y.⁴, Sprigin V.G.⁵, Lesnikova L.N.⁶, Momot T.V.⁷¹ ORCID : 0000-0002-7472-5958;² ORCID : 0000-0002-6476-0039;³ ORCID : 0000-0002-9536-3247;⁴ ORCID : 0000-0002-0261-0190;⁵ ORCID : 0000-0001-7400-909X;⁶ ORCID : 0000-0003-4187-230X;⁷ ORCID : 0000-0003-3873-0343;^{1, 2, 3, 4, 5, 6} V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute Far Eastern Branch Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation⁷ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (drugova_e[at]poi.dvo.ru)

Abstract

The administration of lipid complex isolated from the tunica of *Ascidia purpurea* (*Halocynthia aurantium*) after intoxication with ethyl alcohol contributed to the restoration of the lipid composition of erythrocyte membranes, osmotic resistance and size characteristics of rat erythrocytes due to natural phospholipids and fatty acids included in its composition, which determines the membrane-protective effect of the drug.

Objective: to study the effect of lipid complex isolated from tunica *ascidia purpurea* on the lipid composition of rat erythrocyte membranes under conditions of ethyl alcohol intoxication.

The experiment was carried out on white male Wistar rats kept in standard vivarium conditions. The animals were divided into 4 groups of 10 rats in each: 1st – control (intact); 2nd – administration of 33% ethanol for 7 days; 3rd – administration of 33% ethanol for 7 days with subsequent cancellation for 7 days; 4th – administration of ascidia lipid complex for 7 days after 7-day ethanol intoxication. Ethanol (33%) was administered at a dose of 7.5 ml/kg twice a day, and ascidia lipid complex at a dose of 0.2 ml/100 g of weight.

Intoxication with ethyl alcohol was accompanied by disruption of lipid composition of erythrocyte membranes: cholesterol, sphingomyelin, and phospholipid lysofractions were increased. The size characteristics of erythrocytes increased, and their osmotic resistance was decreased. In the period of ethanol withdrawal during 7 days macrocytosis was preserved, there was no complete recovery of the lipid component of erythrocyte membranes. Administration of ascidia lipid complex in the period after ethanol withdrawal promoted restoration of lipid spectrum of erythrocyte membranes and normalized physiological characteristics of rat erythrocytes.

The obtained results indicate that the structural organization of erythrocyte membranes is disturbed during ethyl alcohol intoxication, which requires preventive pharmacocorrection. The use of lipid complexes containing "marine" lipids isolated from marine hydrobionts, in particular from tunica *ascidia purpurea*, can be useful and perspective in the complex rehabilitation of patients with alcoholism.

Keywords: *Halocynthia aurantium*, erythrocytes, phospholipids, neutral lipids, osmotic resistance.

Введение

Изначальной мишенью воздействия этанола на организм является липидный слой клеточной мембраны клетки [1]. Токсическое воздействие этилового спирта, обуславливается его мембрано-разжижающим эффектом, растворяясь в биологических средах он вызывает структурные изменения фосфолипидного бислоя и, как следствие, частично блокирует трансмембранный перенос ионов [2]. Длительный прием приводит к изменениям в структуре мембран клеток, увеличению содержания холестерина и возникновению ригидности клеточных стенок [3]. Все эти процессы приводят к интенсификации перекисного окисления липидов, активации эндогенных фосфолипаз и протеаз, уменьшению активности системы антиоксидантной защиты клетки [4].

Наиболее уязвимыми считаются мембраны эритроцитов, поскольку в их составе большое количество легко окисляемых фосфолипидов. Нарушение баланса соотношения липидных составляющих мембран изменяет физические параметры эритроцитов, увеличивает их размерные характеристики [5].

Перспективными средствами для восстановления нарушенных мембранных структур при алкогольном поражении организма являются природные биологически активные вещества, полученные из сырья как наземного, так и морского происхождения. Морские гидробионты являются богатыми источниками различных витаминов, аминокислот, гликолипидов, нейтральных и фосфолипидов, микро- и макроэлементов, полифенолов, полисахаридов. Также в их составе присутствуют n-3 и n-6 семейства полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Известно, что ПНЖК омега-3 помимо гиполипидемического эффекта оказывают антиагрегантное, гипокоагуляционное, иммуномодулирующее и противовоспалительное действие [6].

Одним из представителей морских гидробионтов является асцидия пурпурная (*Halocynthia aurantium*), обитающая в прибрежной зоне залива Петра Великого Японского моря. По зоологической систематике асцидия относится к типу хордовых (Chordata), подтипу оболочников (Tunicata), классу асцидий (Ascidiae), отряду складчатожаберных асцидий (Stolidobranchiata), семейству пиуридов (Pyuridae). Эта форма асцидий широко распространена в дальневосточных и арктических морях на глубинах от 4 до 400 метров [7]. В ее тунике сконцентрировано значительное количество биологически активных веществ липидной природы. Это обусловило необходимость выделить липидный комплекс из туники асцидии и исследовать его биологический эффект. Химический анализ показал, биологически значимое содержание фосфолипидов, нейтральных липидов, полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3 и n-6, способствующих репарации мембранных структур [8]. Подробный химический состав липидного комплекса асцидии представлен в наших ранее опубликованных работах [9]. Кроме того, данный комплекс показал высокую эффективность в экспериментах на лабораторных животных при лучевом поражении [10], дислипидемиях [11], как липидкорректирующее средство при гиперхолестеринемии с высокожировой нагрузкой, при изучении интоксикационного действия четыреххлористого углерода и последующей его коррекции [12].

Целью исследования явилось изучение влияния приема липидного комплекса, извлеченного из туники асцидии пурпурной на липидный слой мембран эритроцитов крыс в условиях хронической интоксикации этанолом.

Методы и принципы исследования

Сбор образцов асцидии пурпурной (*Halocynthia aurantium*) осуществлялся в летний период в районе б. Западная, о-в Попова, зал. Петра Великого (Японское море). Далее их тщательно сортировали и очищали от частиц песка и эпифитов, тунику отделяли от внутренностей и подошвы, промывали морской и водопроводной водой, затем высушивали при температуре, не превышающей 50°C. Выборка особей составляла 20 единиц. Высушенную тунику измельчали в порошкообразное состояние и в соответствии с общепринятым методом для выделения липидов из

растительного и животного сырья, экстрагировали смесью хлороформ:метанол (1:2 по объему) [13]. К экстракту добавляли раствор хлористого натрия (0,73%) в количестве 20% от объема, для получения липидной фракции. Полученный при разделении фаз хлороформный липидосодержащий слой, разделяли на делительной воронке и на роторном испарителе упаривали до отсутствия запаха хлороформа. Липидный комплекс смешивали с вазелиновым маслом из расчета 80 мг/кг массы животного [14]. Вазелиновое масло считается химически инертной средой и не оказывает непосредственного влияния на результаты эксперимента [15].

Был проведен эксперимент на животных, белых крысах-самцах с массой тела 200 г, при стандартных условиях содержания в виварии. До начала эксперимента выполнена адаптация животных в течение 7 суток. После адаптации крыс распределяли на интактных (контроль), потреблявших стандартный рацион, и крыс, подвергавшихся моделированию алкогольной интоксикации. В течение 7 дней им вводили 33% этанол в дозе 7,5 мл/кг два раза в сутки. Использована схема эксперимента, разработанная А. Gajdos [16]. Далее животным через желудочный зонд вводили липидный комплекс асцидии с дозировкой 0,2 мл/100 г массы тела ежедневно, в течение 7 дней. Группы «стресс» и «контроль» получали вазелиновое масло в эквивалентном количестве. Выделены 4 группы животных по 10 крыс в каждой: 1-я – контроль; 2-я – интоксикация этанолом в течение 7 дней; 3-я – интоксикация этанолом в течение 7 дней с последующей отменой в течение 7 дней; 4-я – введение липидного комплекса асцидии в течение 7 дней после 7-дневной интоксикации этиловым спиртом. Из эксперимента животных выводили путем декапитации под легким эфирным наркозом в строгом соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Эксперимент получил одобрение комиссии по вопросам этики в Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 15 от 29 октября 2021 г.).

Разделение крови на фракции осуществлялось методом центрифугирования [17]. Для выделения мембранной массы, эритроциты гемолизировали в дистиллированной воде. Экстракты общих липидов выделенные из мембран эритроцитов готовили по методу J. Folch et al. [18]. Разделение фосфолипидных фракций осуществлялось методом двумерной микротонкослойной хроматографии. Разделяющей системой служили смеси растворителей, описанные G. Rouser и соавт. [19]. Идентификацию фосфолипидных фракций на хроматограммах проводили по методу V.E. Vaskovsky и соавт. [20]. Хроматографическое распределение нейтральных липидов для количественной характеристики уровня холестерина проводили методом одномерной микротонкослойной хроматографии в системе растворителей, описанных J.S. Amenta [21]. Количественное значение отдельных фракций выражали в процентном соотношении от общей суммы нейтральных липидов и фосфолипидов, соответственно.

Средний диаметр и объем эритроцитов в крови определяли на гематологическом анализаторе «Abacus» (Diatron, Австрия). Осмотическую резистентность эритроцитов к изменению концентрации NaCl рассчитывали по методу Б.Л. Эндрю [22]. Для обработки результатов использовали статистический пакет Instat 3,0 (GraphPad, Software Inc. USA, 2005), с функцией проверки соответствия выборки закону нормального распределения. При подсчете статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Основные результаты

Введение этанола экспериментальным животным в течение 7 дней способствовало изменению содержания холестерина и фосфолипидных фракций в мембране эритроцитов. Отмечалось статистически достоверное (по сравнению с контролем) повышение уровня холестерина (ХС) на 15% ($p < 0,01$) (табл.). Согласно литературным данным ХС, примыкая гидроксильными группами к полярным головкам фосфолипидов, является фактором, влияющим на текучесть и механическую прочность мембраны, а также вязко-эластические характеристики, снижая способность эритроцитов к деформации [23]. Известно, что компенсаторным ответом на повреждающее действие этанола является увеличение содержания ХС в мембране, обеспечивающее поддержание упорядоченности ее структуры и сохранение целостности [24]. Именно благодаря холестерину эритроцит может менять свою форму в ответ на метаболические изменения и внешние воздействия [25].

Также происходит активация фосфолипаз и свободнорадикальное окисление липидов [26]. Анализ фосфолипидного спектра показал увеличение уровня лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 54% ($p < 0,05$) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на 67% ($p < 0,05$), относительно контрольных значений, что обусловлено высокой активностью фосфолипаз. Достоверно снизилось количество основных структурных компонентов мембран: фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ) на 9% и 37% ($p < 0,01$), соответственно.

Таблица 1 - Влияние экстракта асцидии на липидный состав мембран эритроцитов крыс при интоксикации этиловым спиртом

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.133.64.1>

Фосфолипиды	1 группа контроль	2 группа этанол	3 группа отмена этанола	4 группа отмена+асцидия
Холестерин, %	22,1±0,6	25,4±0,8**	***27,3±0,9**	21,9±0,9
Фосфатидилхолин, %	41,9±0,6	38,5±0,3*	40,0±0,1	43,0±1,0
Лизофосфатидилхолин, %	6,5±0,1	10,0±0,08	***9,3±0,8*	6,2±0,05
Фосфатидилэтан	21,7±0,4	15,9±0,2*	***18,1±0,4*	20,0±0,4

оламин, %				
Лизофосфатидил этанол-амин, %	1,5±0,02	2,5±0,03*	***1,7±0,02	1,4±0,02
Сфингомиелин, %	12,1±0,2	15,9±0,2*	***19,0±0,7*	13,5±0,9
Фосфатидилинозит, %	6,3±0,4	4,5±0,2**	***3,3±0,3**	5,6±0,2
Фосфатидилсерин, %	7,0±0,2	8,4±0,2**	***7,0±0,1	7,6±0,3
Фосфатидная кислота, %	2,9±0,04	4,3±0,3**	***1,6±0,1**	2,7±0,2

Примечание: в % от суммы, М+м; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$; звездочки справа — сравнение с контролем, слева — со 2-й группой

Обращает на себя внимание повышение величины сфингомиелина (СМ) на 31% ($p < 0,05$), являющегося стабилизатором мембран [27]. Увеличение СМ свидетельствует о защитно-компенсаторной реакции на разжижающее действие этанола [28]. Также отмечалось увеличение количества фосфатидилсерина (ФС) на 19% ($p < 0,01$) и фосфатидной кислоты (ФК) на 48% ($p < 0,01$), что свидетельствует об активации мембраносвязанного фермента Na^+/K^+ -АТФазы, потере калия и усилении проникновения натрия и воды внутрь клетки [29].

При исследовании размерных характеристик эритроцитов, таких как средний диаметр (СДЭ) и средний объем (СОЭр) после интоксикации этанолом, отмечалось их увеличение по сравнению с таковыми значениями в контроле. Так, СОЭр превышал контрольные значения на 28 % (110 ± 3 мкм против 86 ± 3 мкм в контроле, $p < 0,001$), а СДЭ - на 15% ($7,35 \pm 0,07$ мкм против $6,38 \pm 0,02$ мкм в контроле, $p < 0,001$). Также отмечался сдвиг порога начала гемолиза эритроцитов до $0,55 \pm 0,01\%$ и окончания гемолиза при концентрации $0,45 \pm 0,01\%$ NaCl, относительно контрольных значений (начало гемолиза при $0,45 \pm 0,01\%$ NaCl, завершение - при $0,35 \pm 0,01\%$ NaCl), что свидетельствует о пониженной устойчивости мембран эритроцитов к гемолизирующему агенту.

В период отмены интоксикации этанолом (3-я группа) сохранялся достоверно высокий уровень ХС, превышающий контроль на 23% ($p < 0,01$), что свидетельствует о стрессовой реакции на отмену этанола. Анализ фракционного состава фосфолипидов в 3-й группе показал повышенное содержание ЛФХ, что говорит о сохраняющейся высокой активности фосфолипаз. На 19% ($p < 0,05$) был повышен уровень СМ, относительно контроля. Одновременно отмечалось снижение почти в 2 раза по сравнению с 1-й группой, количества ФИ ($p < 0,01$) и ФК ($p < 0,01$). Следовательно, в период отмены этанола в течение 7 дней полного восстановления липидной составляющей мембран эритроцитов не наблюдается. Также в период отмены начало гемолиза происходило при концентрации NaCl $0,50 \pm 0,01\%$, а полный гемолиз наблюдался при концентрации NaCl $0,40 \pm 0,01\%$, что достоверно ($p < 0,01$) отличалось от таковых величин в контроле. При этом средний объем эритроцитов был равен 100 ± 4 мкм³ ($p < 0,05$), а средний диаметр эритроцитов - $6,76 \pm 0,04$ мкм ($p < 0,001$). То есть, в период отмены сохраняется макроцитоз, который может быть обусловлен стойкостью патологических сдвигов в соотношении групп липопротеинов плазмы крови, влияющих на состав липидов в мембране эритроцитов.

При введении липидного комплекса асцидии в период отмены (4-я группа) содержание холестерина и фосфолипидных фракций в мембране эритроцитов соответствовало таковым величинам в контроле. Так, уровень ХС был снижен до $21,9 \pm 0,9\%$. Анализ фосфолипидного спектра показал восстановление фракционного состава мембран эритроцитов до контрольных значений. Также полностью нормализовались размерные характеристики эритроцитов и их осмотическая резистентность. Причем, следует отметить, что полный гемолиз наблюдался при концентрации $0,30 \pm 0,01\%$ NaCl, что на 14% ниже таковой концентрации в контроле. Следовательно, липидный комплекс асцидии не только восстановил устойчивость мембран к снижению концентрации NaCl, но и расширил границы осмотической резистентности.

Полученные результаты свидетельствуют о мембранопротекторном эффекте липидного комплекса. Это связано с его химическим составом. Благодаря заместительному эффекту эссенциальных фосфолипидов и полиненасыщенных жирных кислот, происходит ликвидация дефектов липидного бислоя эритроцитарных мембран, вызванных этанолом. В результате чего происходит восстановление липидных структур мембран, улучшаются их эластические свойства.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении структурной организации мембран эритроцитов при интоксикации этиловым спиртом, что требует необходимость профилактической фармакокоррекции. Применение липидного комплекса асцидии позволяет нормализовать липидный спектр мембран эритроцитов и показатели осмотической устойчивости эритроцитов, нарушенные этанолом, а также восстановить до исходных значений физиологические характеристики клеток крови. Применение липидных комплексов, содержащих «морские» липиды, выделенные из морских гидробионтов, в частности из туники асцидии пурпурной, может быть полезным и перспективным в комплексной реабилитации больных алкоголизмом.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.133.64.2>**Conflict of Interest**

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.133.64.2>**Список литературы / References**

1. Кательникова А.Е. Перспективы использования лекарственных средств на основе гидробионтов в лечении респираторных вирусных инфекций и их осложнений / А.Е. Кательникова, В.Г. Макаров, В.В. Воробьева и др. // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. — 2017. — Т. 15, № 1. — с. 4-19.
2. Heemskerck J.W. Polyunsaturated Fatty Acids and Function of Platelets and Endothelial Cells. / J.W. Heemskerck, R.C. Vossen, M.C. van Dam-Mieras // *Curr. Opin. Lipidol.* — 1996. — V.7. — p. 24-29.
3. Солодкова О.А. Биологические эффекты голотурий. / О.А. Солодкова, В.Г. Зенкина // *Успехи современного естествознания*. — 2015. — 5. — с. 178-182.
4. Явнов С.В. Атлас иглокожих и асцидий Дальневосточных морей России / С.В. Явнов. — Владивосток: Русский остров, 2010. — 176 с.
5. Fomenko S.E. 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. / S.E. Fomenko, N.F. Kushnerova, L.N. Lesnikova // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. — 2013. — Vol.46., № 10. — p. 606-611.
6. Лесникова Л.Н. Эффективность применения экстракта из туники асцидии пурпурной (*Halocynthia aurantium*) при действии различных стрессорных факторов. / Л.Н. Лесникова, Н.Ф. Кушнерова, Т.В. Момот // *Инновационная наука*. — 2015. — 11. — с. 241-244.
7. Белов А.А. Токсикологическое действие алкоголя на кровь. Эритроциты и алкоголь. / А.А. Белов // *Вестник АГИУВ*. — 2013. — 4. — с. 75-78.
8. Szachowicz-Petelska В. Изменение липидного состава биологических мембран под воздействием экзогенных и эндогенных факторов / В. Szachowicz-Petelska // *Биохимия*. — 2019. — Т. 84, № 2. — с. 261-268.
9. Мухомедзянова С.В. Липиды биологических мембран в норме и патологии / С.В. Мухомедзянова, Ю.И. Пивоваров, О.В. Богданова и др. // *Acta Biomedica Scientifica (Восточно-Сибирский биомедицинский журнал)*. — 2017. — Т. 2, № 5-1. — с. 43-49.
10. Chernysh A.M. Nonlinear Local Deformations of Red Blood Cell Membranes: Effects of Toxins and Pharmaceuticals (Part 2). / A.M. Chernysh, E.K. Kozlova, V.V. Moroz et al. // *General Reanimatology*. — 2018. — Vol. 14, № 1. — p. 29-39.
11. Bligh E.G. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. / E.G. Bligh, W.J. Dyer // *Canad. J. of Biochem. and Physiol.* — 1959. — V. 37, N 8. — p. 911-917.
12. Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на токсичность циклофосфана. / А.С. Саратиков, А.В. Ратькин, В.Н. Фролов и др. // *Вопросы биологической и фармацевтической химии*. — 2004. — 2. — с. 43-47.
13. Саратиков А.С. Новые гепатопротективные и противовоспалительные препараты пелоидов / А.С. Саратиков, В.Н. Буркова, А.И. Венгеровский и др. — Томск: Томск, 2004. — 178 с.
14. Gajdos A. Therapeutic Effect of (+)-catechin on Biochemical Disturbances in the Liver of Ethanol-Intoxicated Rats. / A. Gajdos, M. Gajdos-Torok, R. Horn // *C.R. Seances Soc. Biol. Fil.* — 1972. — V. 166, N 2. — p. 277-279.
15. Новгородцева Т.П. Руководство по методам исследования параметров системы "Перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита" в биологических жидкостях. / Т.П. Новгородцева, Э.А. Эндакова, В.И. Янькова. — Владивосток: Изд-во Дальневост. гос. ун-т, 2003. — 80 с.
16. Folch J. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissue. / J. Folch, M. Less, G.H. Sloane-Stanley // *Biol. Chem.* — 1957. — V. 226. — p. 497-509.
17. Rouser G. Column Chromatographic and Associated Procedures for Separation and Determination of Phosphatides and Glicolipids. / G. Rouser, G. Kritchevsky, A. Yamamoto // *Lipid chromatogr. Anal.* — 1967. — V. 1. — p. 99-162.
18. Vaskovsky V.E. An Universal Reagent for Phospholipid Analysis. / V.E. Vaskovsky, E.Y. Kostetsky, I.M. Vasendin // *J. Chromatogr.* — 1975. — V. 114 (1). — p. 129-141.
19. Amenta J.S. A Rapid Chemical Method for Quantification of Lipids Separated by Thin-Layer Chromatography. / J.S. Amenta // *J. Lipid Res.* — 1964. — V. 5 (2). — p. 270-272.
20. Эндрю Б.Л. Экспериментальная физиология / Б.Л. Эндрю — М.: Мир, 1979. — 324 с.
21. Мороз В.В. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях / В.В. Мороз, А.М. Голубев, А.В. Афанасьев и др. // *Общая реаниматология*. — 2012. — Т. 8, № 1. — с. 52-60.
22. Боровская М.К. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. / М.К. Боровская, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова и др. // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. — 2010. — № 3 (73). — с. 334-354.
23. Min You Effect of Ethanol on Lipid Metabolism. / You Min, EArteel Gavin // *J. Hepatol.* — 2019. — V. 70 (2). — p. 237-248.
24. Петушок Н.Э. Влияние систем метаболизма этанола на интенсивность перекисного окисления липидов в пищеварительной системе крыс / Н.Э. Петушок, Т.Ч. Гроховская, Н.Г. Мельниченко и др. // *Биомедицинская химия*. — 2013. — Т. 59, № 1. — с. 76-80.

25. Литвинова Е.С. Белки и липиды мембраны эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации. / Е.С. Литвинова, А.В. Сорокин, С.А. Долгарева и др. // Современные проблемы науки и образования. — 2017. — № 2. — с. 115.
26. Anirban Polley Partitioning of Ethanol in Multi-Component Membranes: Effects on Membrane Structure. / Polley Anirban, Vemparala Satyavani // Chem. Phys Lipids.. — 2013. — V. 166. — p. 1-11.
27. Rodrigo R. Changes in (Na + K)-adenosine Triphosphatase Activity and Ultrastructure of Lung and Kidney Associated with Oxidative Stress Induced by Acute Ethanol Intoxication. / R. Rodrigo, S. Trujillo, C. Bosco et al. // Chest.. — 2002. — V. 121, N 2. — p. 589-596.

Список литературы на английском языке / References in English

- Katelnikova A.E. Perspektivi ispolzovaniya lekarstvennikh sredstv na osnove gidrobiontov v lechenii respiratornikh virusnikh infektsii i ikh oslozhenii [Prospects for the Use of Hydrobiont-Based Medicines in the Treatment of Respiratory Viral Infections and Their Complications] / A.E. Katelnikova, V.G. Makarov, V.V. Vorobeva et al. // Obzori po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii [Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy]. — 2017. — Vol. 15, № 1. — p. 4-19. [in Russian]
- Heemskerk J.W. Polyunsaturated Fatty Acids and Function of Platelets and Endothelial Cells. / J.W. Heemskerk, R.C. Vossen, M.C. van Dam-Mieras // Curr. Opin. Lipidol. — 1996. — V.7. — p. 24-29.
- Solodkova O.A. Biologicheskie e'ffekty' goloturij [Biological Effects of Holothuria]. / O.A. Solodkova, V.G. Zenkina // Uspexi sovremennogo estestvoznaniya [The Successes of Modern Natural Science]. — 2015. — 5. — p. 178-182. [in Russian]
- Yavnov S.V. Atlas iglokozhih i astsidiy Dalnevostochnikh morei Rossii [Atlas of Echinoderms and Ascidia of the Far Eastern Seas of Russia] / S.V. Yavnov. — Vladivostok: Russian Island, 2010. — 176 p. [in Russian]
- Fomenko S.E. 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. / S.E. Fomenko, N.F. Kushnerova, L.N. Lesnikova // Pharmaceutical Chemistry Journal. — 2013. — Vol.46., № 10. — p. 606-611.
- Lesnikova L.N. E'ffektivnost' primeneniya e'kstrakta iz tuniki ascidii purpurnoj (Halocynthia aurantium) pri dejstvii razlichny'x stressorny'x faktorov [Effectiveness of Application of Extract from Purple Ascidia Tunica (Halocynthia aurantium) under action of Various Stressors]. / L.N. Lesnikova, N.F. Kushnerova, T.V. Momot // Innovacionnaya nauka [Innovative Science]. — 2015. — 11. — p. 241-244. [in Russian]
- Belov A.A. Toksikologicheskoe dejstvie alkogolya na krov'. E'ritrocity' i alkogol' [Toxicological Effects of Alcohol on Blood. Red Blood Cells and Alcohol]. / A.A. Belov // Vestnik AGIUV [AGIUV Bulletin]. — 2013. — 4. — p. 75-78. [in Russian]
- Szachowicz-Petelska B. Izmenenie lipidnogo sostava biologicheskikh membran pod vozdeistviem ekzogennikh i endogennikh faktorov [Change in Lipid Composition of Biological Membranes under the Influence of Exogenous and Endogenous Factors] / B. Szachowicz-Petelska // Biokhimiya [Biochemistry]. — 2019. — Vol. 84, № 2. — p. 261-268. [in Russian]
- Mukhomedzyanova S.V. Lipidi biologicheskikh membran v norme i patologii [Lipids of Biological Membranes are Normal and Pathological] / S.V. Mukhomedzyanova, Yu.I. Pivovarov, O.V. Bogdanova et al. // Acta Biomedica Scientifica (Vostochno-Sibirskii biomeditsinskii zhurnal) [Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)]. — 2017. — Vol. 2, № 5-1. — p. 43-49. [in Russian]
- Chernysh A.M. Nonlinear Local Deformations of Red Blood Cell Membranes: Effects of Toxins and Pharmaceuticals (Part 2). / A.M. Chernysh, E.K. Kozlova, V.V. Moroz et al. // General Reanimatology. — 2018. — Vol. 14, № 1. — p. 29-39.
- Bligh E.G. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. / E.G. Bligh, W.J. Dyer // Canad. J. of Biochem. and Physiol.. — 1959. — V. 37, N 8. — p. 911-917.
- Saratikov A.S. Vliyanie gepatoprotektorov fosfolipidnoj prirody' na toksichnost' ciklofosfana [Effect of Phospholipid Hepatoprotectors on Cyclophosphane Toxicity]. / A.S. Saratikov, A.V. Rat'kin, V.N. Frolov et al. // Voprosy' biologicheskoy i farmacevticheskoy ximii [Questions of Biological and Pharmaceutical Chemistry]. — 2004. — 2. — p. 43-47. [in Russian]
- Saratikov A.S. Novy'e gepatoprotektivny'e i protivovospalitel'ny'e preparaty' peloidov [New Hepatoprotective and Anti-Inflammatory Peloid Drugs] / A.S. Saratikov, V.N. Burkova, A.I. Vengerovskij et al. — Tomsk: Tomsk, 2004. — 178 p. [in Russian]
- Gajdos A. Therapeutic Effect of (+)-catechin on Biochemical Disturbances in the Liver of Ethanol-Intoxicated Rats. / A. Gajdos, M. Gajdos-Torok, R. Horn // C.R. Seances Soc. Biol. Fil. — 1972. — V. 166, N 2. — p. 277-279.
- Novgorodtseva T.P. Rukovodstvo po metodam issledovaniya parametrov sistemi "Perekisnoe okislenie lipidov – antioksidantnaya zashchita" v biologicheskikh zhidkostyakh. [Guidelines for Methods of Studying the Parameters of the System "Lipid Peroxidation – Antioxidant Protection" in Biological Fluids] / T.P. Novgorodtseva, E.A. Endakova, V.I. Yankova. — Vladivostok: Publishing House of Far Eastern State University, 2003. — 80 p. [in Russian]
- Folch J. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissue. / J. Folch, M. Less, G.H. Sloane-Stanley // Biol. Chem.. — 1957. — V. 226. — p. 497-509.
- Rouser G. Column Chromatographic and Associated Procedures for Separation and Determination of Phosphatides and Glicolipids. / G. Rouser, G. Kritchevsky, A. Yamamoto // Lipid chromatogr. Anal.. — 1967. — V. 1. — p. 99-162.
- Vaskovsky V.E. An Universal Reagent for Phospholipid Analysis. / V.E. Vaskovsky, E.Y. Kostetsky, I.M. Vasendin // J. Chromatogr. — 1975. — V. 114 (1). — p. 129-141.
- Amenta J.S. A Rapid Chemical Method for Quantification of Lipids Separated by Thin-Layer Chromatography. / J.S. Amenta // J. Lipid Res.. — 1964. — V. 5 (2). — p. 270-272.
- E'ndryu B.L. E'ksperimental'naya fiziologiya [Experimental Physiology] / B.L. E'ndryu — M.: Mir, 1979. — 324 p. [in Russian]

21. Moroz V.V. Stroenie i funktsiya eritrotsita v norme i pri kriticheskikh sostoyaniyakh [Erythrocyte Structure and Function in Normal and Critical Conditions] / V.V. Moroz, A.M. Golubev, A.V Afanasev et al. // Obshchaya reanimatologiya [General Resuscitation]. — 2012. — Vol. 8, № 1. — p. 52-60. [in Russian]
22. Borovskaya M.K. Strukturno-funkcional'naya xarakteristika membrany' e'ritrocita i ee izmeneniya pri patologiyax raznogo geneza [Structural and Functional Characteristics of the Erythrocyte Membrane and its Changes in Pathologies of Different Origins]. / M.K. Borovskaya, E'.E'. Kuzneczova, V.G. Goroxova et al. // Byulleten' VSNCz SO RAMN [VSCS S RAMS Bulletin]. — 2010. — № 3 (73). — p. 334-354. [in Russian]
23. Min You Effect of Ethanol on Lipid Metabolism. / You Min, EArteel Gavin // J. Hepatol. — 2019. — V. 70 (2). — p. 237-248.
24. Petushok N.E. Vliyanie sistem metabolizma etanola na intensivnost perekisnogo okisleniya lipidov v pishchevaritelnoi sisteme kris [Effect of Ethanol Metabolism Systems on Intensity of Lipid Peroxidation in Rat Digestive System] / N.E. Petushok, T.Ch. Grokhovskaya, N.G. Melnichenko et al. // Biomeditsinskaya khimiya [Biomedical Chemistry]. — 2013. — Vol. 59, № 1. — p. 76-80. [in Russian]
25. Litvinova E.S. Belki i lipidy' membrany' e'ritrocitov pri ostroj i xronicheskoy alkogol'noj intoksikacii [Erythrocyte Membrane Proteins and Lipids in Acute and Chronic Alcohol Intoxication]. / E.S. Litvinova, A.V. Sorokin, S.A. Dolgareva et al. // Sovremennyye problemy' nauki i obrazovaniya [Modern Problems of Science and Education]. — 2017. — № 2. — p. 115. [in Russian]
26. Anirban Polley Partitioning of Ethanol in Multi-Component Membranes: Effects on Membrane Structure. / Polley Anirban, Vemparala Satyavani // Chem. Phys Lipids.. — 2013. — V. 166. — p. 1-11.
27. Rodrigo R. Changes in (Na + K)-adenosine Triphosphatase Activity and Ultrastructure of Lung and Kidney Associated with Oxidative Stress Induced by Acute Ethanol Intoxication. / R. Rodrigo, S. Trujillo, C. Bosco et al. // Chest.. — 2002. — V. 121, N 2. — p. 589-596.