

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-57-63>
УДК 57.084.1



Оригинальная статья / Research article

Исследование гипополипидемической активности полисахарида L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронана при комбинированном применении с ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы и абсорбции холестерина

Е. Е. Буйко^{1,2}✉, В. В. Иванов¹, О. А. Кайдаш¹, О. Ю. Рыбалкина³, Е. А. Киселева³,
С. В. Кривошеков¹, Т. Л. Киселева⁴, А. М. Гурьев¹, М. В. Белоусов^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 30

³ НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ, 634028, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 3

⁴ Научно-исследовательский центр НО «Профессиональная ассоциация натуротерапевтов», 115230, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 36

✉ Контактное лицо: Буйко Евгений Евгеньевич. E-mail: buykoevgen@yandex.ru

ORCID: Е. Е. Буйко – <https://orcid.org/0000-0002-6714-1938>; В. В. Иванов – <https://orcid.org/0000-0001-9348-4945>; О. А. Кайдаш – <https://orcid.org/0000-0001-8761-7537>;

О. Ю. Рыбалкина – <https://orcid.org/0000-0001-8577-4520>; Е. А. Киселева – <https://orcid.org/0000-0001-7853-3294>; С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;

Т. Л. Киселева – <https://orcid.org/0000-0001-9894-3047>; А. М. Гурьев – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>; М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 27.06.2022

Статья принята в печать: 12.08.2022

Статья опубликована: 25.08.2022

Резюме

Введение. Во многих случаях для терапии дислипидемий требуется тщательно подобранная комбинированная терапия гипополипидемическими лекарственными препаратами, в том числе с использованием секвестрантов желчных кислот. Перспективным соединением является L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронан (L-RAG) – полисахарид, получаемый из листьев березы повислой (*Betula pendula* L.).

Цель. Оценить гипополипидемическую активность L-RAG при комбинированном назначении с ингибитором ГМГ-КоА-редуктазы розувастатином или ингибитором абсорбции холестерина эзетимибом.

Материалы и методы. Для моделирования гиперлипидемии у хомячков использовали синтетическую диету с добавлением 0,3 % ХС и 11 % кокосового масла (ВЖХД). По окончании эксперимента в сыворотке крови определяли содержание триацилглицеролов (ТАГ), желчных кислот, ХС, холестерина липопротеинов низкой (ХС-ЛПНП) и высокой (ХС-ЛПВП) плотностей ферментативными наборами Chronolab Systems S. L. (Испания), рассчитывали индекс атерогенности (ИА).

Результаты и обсуждение. L-RAG оказывает гипополипидемическое действие в модели диет-индуцированной гиперлипидемии у хомячков. Снижение уровня общего ХС в сыворотке крови обусловлено в большей степени уменьшением содержания ХС во фракции атерогенных ЛПНП, что приводило к уменьшению ИА. Применение розувастатина и эзетимиба в комбинации с L-RAG приводит к более выраженному гипополипидемическому эффекту. Аддитивное влияние полисахарида обусловлено, главным образом, снижением уровня желчных кислот в сыворотке крови, что свидетельствует о его способности сорбировать их в просвете кишечника и прерывать энтерогепатическую циркуляцию, действуя подобно препаратам-секвестрантам желчных кислот.

Заключение. Показано, что курсовое применение L-RAG совместно с эзетимибом или розувастатином приводило к более выраженному снижению уровней ХС, ТАГ, ХС-ЛПНП, чем при монотерапии полисахаридом или препаратами сравнения в отдельности. Полученные данные обосновывают перспективность использования L-RAG в комплексной терапии гиперлипидемии.

Ключевые слова: гиперлипидемия, полисахарид березы повислой (*Betula pendula* L.), секвестранты желчных кислот, эзетимиб, розувастатин

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. М. В. Белоусов, В. В. Иванов, А. М. Гурьев обосновали актуальность работы. А. М. Гурьев, С. В. Кривошеков выделяли и проводили стандартизацию субстанции полисахарида листьев березы повислой (*Betula pendula* L.). Е. Е. Буйко, В. В. Иванов, О. А. Кайдаш, О. Ю. Рыбалкина, Е. А. Киселева разработали эксперимент, проводили исследования с использованием биологических тест-систем и биологических образцов. Е. Е. Буйко, О. А. Кайдаш и В. В. Иванов участвовали в обработке данных и проводили теоретические расчеты. Е. Е. Буйко, В. В. Иванов, М. В. Белоусов участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет – 2030».

Соответствие принципам этики. Эксперименты с использованием лабораторных животных выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенными в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации и были одобрены биоэтическим комитетом НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга, протокол № 129062017 от 29 июня 2017 года.

Для цитирования: Буйко Е. Е., Иванов В. В., Кайдаш О. А., Рыбалкина О. Ю., Киселева Е. А., Кривошеков С. В., Киселева Т. Л., Гурьев А. М., Белоусов М. В. Исследование гипополипидемической активности полисахарида L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронана при комбинированном применении с ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы и абсорбции холестерина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):57–63. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-57-63>

© Буйко Е. Е., Иванов В. В., Кайдаш О. А., Рыбалкина О. Ю., Киселева Е. А., Кривошеков С. В., Киселева Т. Л., Гурьев А. М., Белоусов М. В., 2022

© Buyko E. E., Ivanov V. V., Kaidash O. A., Rybalkina O. Yu., Kiseleva E. A., Krivoshchekov S. V., Kiseleva T. L., Guriev A. M., Belousov M. V., 2022

Hypolipidemic Activity of the Polysaccharide L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galacturonan in Combined Administration with HMG-CoA Reductase and Cholesterol Absorption Inhibitors

Evgeny E. Buyko^{1,2}✉, Vladimir V. Ivanov¹, Olga A. Kaidash¹, Olga Yu. Rybalkina³, Elena A. Kiseleva³, Sergey V. Krivoshechekov¹, Tatiana L. Kiseleva⁴, Artem M. Guriev¹, Mikhail V. Belousov^{1,2}

¹ Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russia

² National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russia

³ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMС, 3, Lenin Av., Tomsk, 634028, Russia

⁴ Research Center of the NCO "Professional Association of Naturotherapists", 36, Varshavskoe shosse, Moscow, 115230, Russia

✉ Corresponding author: Evgeny E. Buyko. E-mail: buykoevgen@yandex.ru

ORCID: Evgeny E. Buyko – <https://orcid.org/0000-0002-6714-1938>; Vladimir V. Ivanov – <https://orcid.org/0000-0001-9348-4945>; Olga A. Kaidash – <https://orcid.org/0000-0001-8761-7537>;

Olga Yu. Rybalkina – <https://orcid.org/0000-0001-8577-4520>; Elena A. Kiseleva – <https://orcid.org/0000-0001-7853-3294>;

Sergey V. Krivoshechekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>; Tatiana L. Kiseleva – <https://orcid.org/0000-0001-9894-3047>;

Artem M. Guriev – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>; Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 27.06.2022

Revised: 12.08.2022

Published: 25.08.2022

Abstract

Introduction. Dyslipidemia treatment in many cases requires carefully selected combination of lipid-lowering drugs including bile acid sequestrants. A promising compound is L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galacturonan (L-RAG), a polysaccharide obtained from the birch leaves (*Betula pendula* L.).

Aim. To evaluate the lipid-lowering activity of L-RAG administered in combination with the HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin or the cholesterol absorption inhibitor ezetimibe.

Materials and methods. Hyperlipidemia in hamsters was reproduced by synthetic diet supplemented with 0.3 % cholesterol and 11 % coconut oil (HFCD). At the end of the experiment the levels of triacylglycerols (TAG), bile acids, total cholesterol (TC), cholesterol of low-density lipoproteins (LDL-C) and high-density lipoproteins (HDL-C) were determined in the blood serum using Chronolab Systems S. L. enzymatic kits (Spain), and atherogenic index (AI) was calculated.

Results and discussion. L-RAG demonstrates a lipid-lowering effect in a model of diet-induced hyperlipidemia in hamsters. The decrease in the TC level was mainly caused by a decrease in the content of cholesterol in the atherogenic LDL fraction, which led to a decrease in AI. The use of rosuvastatin and ezetimibe in combination with L-RAG leads to a better lipid-lowering effect. The additive effect of the polysaccharide is mainly due to a decrease in the level of bile acids in the blood serum, which indicates its ability to absorb them in the intestinal lumen and interrupt enterohepatic circulation, acting like bile acid sequestrants.

Conclusion. It was shown that administration of L-RAG together with ezetimibe or rosuvastatin led to a better decrease in the TC, TAG, LDL-C levels than with polysaccharide monotherapy or comparison drugs alone. The obtained data substantiate the prospects of using L-RAG in the complex therapy of hyperlipidemia.

Keywords: hyperlipidemia, birch polysaccharide (*Betula pendula* L.), bile acid sequestrants, ezetimibe, rosuvastatin

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Mikhail V. Belousov, Vladimir V. Ivanov, Artem M. Guriev substantiated the relevance of the work. Artem M. Guriev, Sergey V. Krivoshechekov isolated and standardized the substance of the birch polysaccharide. Evgeny E. Buyko, Vladimir V. Ivanov, Olga A. Kaidash, Olga Yu. Rybalkina, Elena A. Kiseleva developed an experiment, conducted research using biological test systems and biological samples. Evgeny E. Buyko, Olga A. Kaidash and Vladimir V. Ivanov participated in data processing and carried out theoretical calculations. Evgeny E. Buyko, Vladimir V. Ivanov, Mikhail V. Belousov participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

Funding. The study was carried out as part of the Strategic Academic Leadership Program "Priority 2030".

Compliance with the principles of ethics. Experiments with the use of laboratory animals were carried out in compliance with the principles of humanity set forth in the directives of the European Community (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki and were approved by the bioethical committee of the Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, protocol No. 129062017 dated June 29, 2017.

For citation: Buyko E. E., Ivanov V. V., Kaidash O. A., Rybalkina O. Yu., Kiseleva E. A., Krivoshechekov S. V., Kiseleva T. L., Guriev A. M., Belousov M. V. Hypolipidemic activity of the polysaccharide L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galacturonan in combined administration with HMG-CoA reductase and cholesterol absorption inhibitors. *Drug development & registration*. 2022;11(3):57–63. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-57-63>

ВВЕДЕНИЕ

Дислипидемия – патологическое состояние, при котором наблюдается широкий спектр нарушений обмена фракций холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), что выражается в из-

менении их соотношения в крови пациентов [1]. Нарушение баланса в содержании ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП, характеризующееся в первую очередь, повышением уровня ХС-ЛПНП (гиперлипидемия), приводит к возрастанию риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), включая инфаркт миокарда и инсульт [2]. У пациентов с генетически опосредованной семейной ги-

перлипидемией трудно достичь целевых значений ХС-ЛПНП, они имеют риск развития ССЗ в более раннем возрасте, и в таких случаях требуется тщательно подобранная комбинированная терапия гиполипидемическими лекарственными препаратами, в том числе с секвестрантами желчных кислот [3].

В последние десятилетия пристальное внимание привлекает возможность использовать для терапии дислипидемий растительные полисахариды, которые в экспериментах продемонстрировали наличие гипохолестеролемического и гиполипидемического действий [4]. Было показано, что полисахариды растительного происхождения обладают гиполипидемической активностью, действуя подобно препаратам-секвестрантам желчных кислот, то есть снижают уровень ХС-ЛПНП за счет уменьшения всасывания желчных кислот в кишечнике, что стимулирует их синтез из ХС и снижает содержание ХС в сыворотке крови пациентов [5].

С использованием комплексной методики экстракции/очистки была выделена субстанция полисахарида листьев березы повислой (*Betula pendula* L.) L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронана (L-RAG) [6]. Полисахарид был охарактеризован и в экспериментах продемонстрировал наличие у него гиполипидемической активности, реализуемой по механизму, сходному с действием секвестрантов желчных кислот [7–8].

Целью исследования была оценка гиполипидемической активности комбинации полисахарида листьев березы повислой (*Betula pendula* L.) L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронана с ингибитором ГМГ-КоА-редуктазы розувастатином или ингибитором абсорбции холестерина эзетимибом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 56 сирийских хомяках самцах SPF-категории, полученных из центра коллективного пользования «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животные находились в стандартных условиях содержания в виварии.

Интактные хомяки получали синтетическую диету, разработанную Американским институтом питания (American Institute of Nutrition, AIN) для грызунов AIN-93G в течение 5 недель ($n = 8$). Для моделирования хронической гиперлипидемии у хомяков использовалась синтетическая диета AIN-93G с добавлением 0,3 % ХС и 11 % кокосового масла (высокожирная диета, богатая ХС, ВЖХД) в течение 3 недель. В последующие 2 недели в синтетическую ВЖХД добавляли L-RAG в дозе 3 г / 100 г корма, поскольку лекарственные средства группы секвестрантов у пациентов принимаются с пищей. Эзетимиб и розувастатин вводили животным ежедневно внутрижелудочно в дозах 2 мг/кг ($n = 8$) и 1 мг/кг ($n = 8$) соответственно в течение 4–5 недель содержания животных ВЖХД.

Хомяки контрольной группы ($n = 8$) находились на ВЖХД в течение 5 недель.

Через 5 недель животных всех групп подвергали эвтаназии, и в сыворотке крови определяли содержание триацилглицеролов (ТАГ), желчных кислот, ХС, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП ферментативными наборами Chronolab Systems S. L. (Испания). Для интегральной характеристики липидного спектра плазмы крови и оценке риска развития атеросклероза информативным показателем является индекс атерогенности (ИА), отражающий отношение содержания ХС в атерогенных липопротеинах к антиатерогенным. ИА рассчитывали по формуле:

$$\text{ИА} = (\text{общий ХС} - \text{ХС} - \text{ЛПВП}) / \text{ХС} - \text{ЛПВП} [9].$$

Экспериментальные данные обрабатывали с использованием программ Microsoft Excel (2007) и STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США). Проверку на нормальность распределения значений проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Поскольку распределение значений отличалось от нормального, анализ статистической значимости различий между выборками выполняли при помощи критерия Краскела – Уоллиса, статистически значимым считали результат при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1–Q3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В сыворотке крови животных, получавших в течение 5 недель ВЖХД, содержание ХС и ТАГ увеличилось в 2,6 ($p < 0,01$) и 3,4 раза ($p < 0,01$) соответственно, по сравнению с таковыми значениями в группе хомяков, получавших синтетическую диету AIN-93G, что свидетельствует о развитии хронической гиперлипидемии (рисунки 1, А и 1, Б). Увеличение содержания ХС и ТАГ на фоне ВЖХД обусловлено повышенным содержанием в диете растительных жиров (15 % калорийности) и наличия в корме 0,3 г / 100 г корма ХС [10].

Применение L-RAG в дозе 3 г/100г корма на фоне ВЖХД в течение 2 недель приводило к снижению в сыворотке крови хомяков содержания ХС на 16,2 % ($p < 0,05$) и ТАГ на 27,6 % ($p < 0,05$). При монотерапии блокатором всасывания ХС в кишечнике эзетимибом (2 мг/кг ежедневно в течение 2 недель) на фоне ВЖХД регистрировалось снижение уровня ХС и ТАГ на 41,6 % ($p < 0,01$) и 27,4 % ($p < 0,05$). Совместное применение L-RAG и эзетимиба приводило к более выраженному гиполипидемическому действию по сравнению с монотерапией. Так, при комбинированной терапии L-RAG и эзетимибом отмечалось снижение содержания в сыворотке крови хомяков ХС (49,5 %, $p < 0,01$) и ТАГ (44,0 %, $p < 0,01$) на фоне ВЖХД (рисунки 1, А и 1, Б).

Ингибитор ГМГ-КоА-редуктазы розувастатин (1 мг/кг ежедневно в течение 2 недель) на фоне ВЖХД не оказывал существенного влияния на уровень ТАГ в сыворотке крови хомяков, но снижал со-

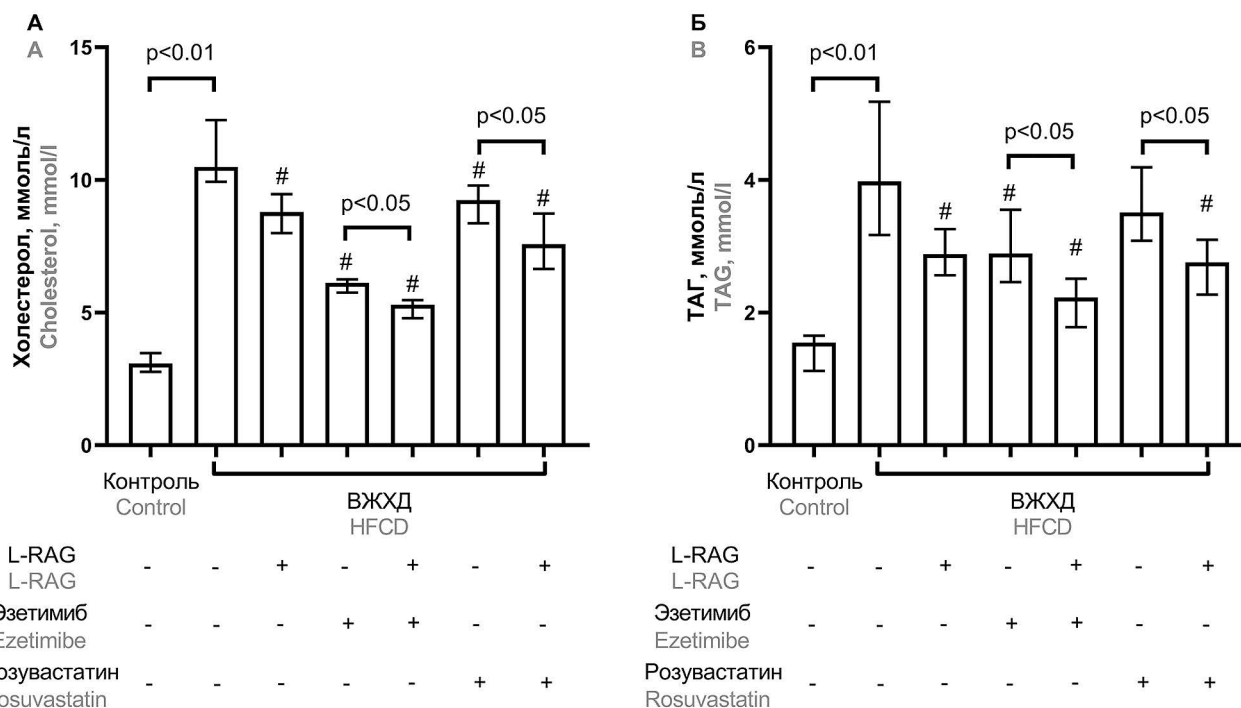


Рисунок 1. Влияние L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактоурана (L-RAG), эзетимиба, розувастатина на содержание общего холестерина (А) и триацилглицеролов (ТАГ) (Б) в сыворотке крови хомяков с хронической гиперлипидемией, вызванной высокожировой диетой, богатой холестерином (ВЖХД). # – различия по сравнению с группой животных, получавших ВЖХД, статистически значимы

Figure 1. The effect of L-rhamnopyranosyl-6-*O*-methyl-galactouran (L-RAG), ezetimibe, rosuvastatin on the content of total cholesterol (A) and triacylglycerols (TAG) (B) in the blood serum of hamsters with chronic hyperlipidemia caused by a high-fat diet rich in cholesterol (HFC). # – differences compared with the group of animals treated with HFC statistically significant

держание ХС на 11,9 % ($p < 0,05$). Комбинированная терапия розувастатином с L-RAG при ВЖХД способствовала снижению содержания уровня ТАГ на 21,4 % ($p < 0,05$) и ХС на 18,0 % ($p < 0,05$) в сравнении с монотерапией статином (рисунки 1, А и Б).

Известно, что ХС у хомяков, как и у людей, в отличие от крыс, содержится преимущественно во фракции ХС-ЛПНП и, в меньшей степени, в ЛПВП, что обуславливает склонность к развитию атеросклероза [11].

Действительно, в экспериментах показано, что повышение уровня общего ХС в сыворотке крови хомяков на фоне ВЖХД обусловлено преимущественно за счет увеличения ХС-ЛПНП в 4 раза ($p < 0,01$). Содержание ХС-ЛПВП увеличивалось в 2,2 раза ($p < 0,01$), а ИА повышался в 1,7 раза ($p < 0,01$) (рисунки 2, А и Б, рисунок 3).

Использование L-RAG на фоне ВЖХД приводило к снижению содержания в сыворотке крови ХС-ЛПНП на 24,6 % ($p < 0,01$) (рисунок 2, А). Важно отметить, что L-RAG существенно не влиял на повышенное содержание в сыворотке крови ХС-ЛПВП (рисунок 2, Б). Снижение уровня общего ХС при курсовом применении L-RAG преимущественно за счет атерогенной фракции ХС-ЛПНП приводило к уменьшению ИА на 28,8 % ($p < 0,01$) (рисунок 3).

Эзетимиб при монотерапии на фоне ВЖХД снижал в сыворотке крови содержание ХС-ЛПНП на 40,8 % ($p < 0,05$), ХС-ЛПВП на 15,7 % ($p < 0,05$). При совместном применении с L-RAG отмечался более выраженный гиполипидемический эффект и уровень ХС-ЛПНП снижался на 48,1 % ($p < 0,01$), ХС-ЛПВП на 26,8 % ($p < 0,01$), рассчитанный показатель ИА на 49,8 % ($p < 0,01$) (рисунки 2, А и Б, рисунок 3).

Курсовое введение розувастатина на фоне ВЖХД снижало повышенное содержание ХС-ЛПНП на 22 % ($p < 0,05$), не влияло на уровень ХС-ЛПВП, в результате чего ИА снижался на 21,6 % ($p < 0,01$). Комбинированная терапия розувастатином с L-RAG приводила к снижению ХС-ЛПНП на 33,8 % ($p < 0,05$), а ИА на 41,2 % ($p < 0,05$) (рисунки 2, А и Б, рисунок 3).

Для подтверждения механизма гиполипидемической активности полисахарида, обусловленного способностью сорбировать желчные кислоты в просвете кишечника, оценивали содержание желчных кислот в сыворотке крови хомяков. Известно, что во время пищеварения желчные кислоты, синтезированные в печени из ХС, выделяются в кишечник, откуда большая их часть абсорбируется и возвращается в печень через энтерогепатический кровоток [12]. При ВЖХД уровень желчных кислот в сыворотке крови возрастал в 2,6 раза ($p < 0,01$) (таблица 1). Включение в ВЖХД

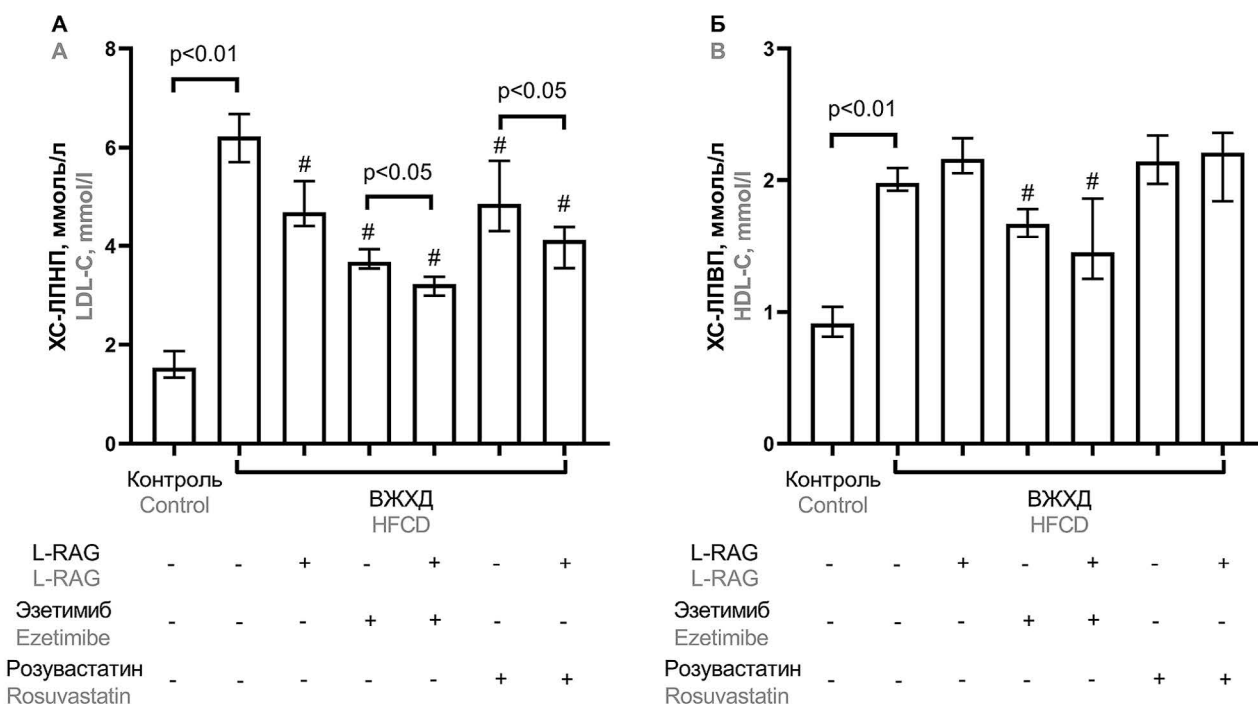


Рисунок 2. Влияние L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактоурана (L-RAG), эзетимиба, розувастатина на содержание холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) (А) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) (Б) в сыворотке крови хомяков с хронической гиперлипидемией, вызванной высокожировой диетой, богатой холестерином (ВЖХД). # – различия по сравнению с группой животных, получавших ВЖХД, статистически значимы

Figure 2. The effect of L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galactouran (L-RAG), ezetimibe, rosuvastatin on the content of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) (A) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (B) in the blood serum of hamsters with chronic hyperlipidemia caused by a high-fat diet rich in cholesterol (HFCD). # – differences compared with the group of animals treated with HFCD statistically significant

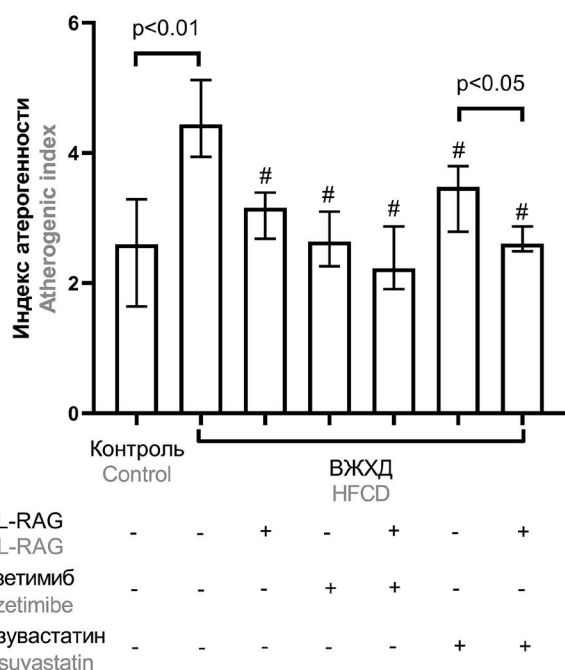


Рисунок 3. Влияние L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактоурана (L-RAG), эзетимиба, розувастатина на показатель индекса атерогенности (ИА) сыворотки крови хомяков с хронической гиперлипидемией, вызванной высокожировой диетой, богатой холестерином (ВЖХД). # – различия по сравнению с группой животных, получавших ВЖХД, статистически значимы

Figure 3. The effect of L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galactouran (L-RAG), ezetimibe, rosuvastatin on the atherogenic index (AI) of blood serum of hamsters with chronic hyperlipidemia caused by a high-fat diet rich in cholesterol (HFCD). # – differences compared with the group of animals treated with HFCD statistically significant

L-RAG приводило к снижению уровня желчных кислот в сыворотке крови хомяков на 46,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с хомяками, получавшими только ВЖХД (таблица 1). Эзетимиб при монотерапии снижал

содержание желчных кислот в сыворотке крови хомяков на 44,8 % ($p < 0,05$), а при комбинированной терапии совместно с L-RAG на 62,3 % ($p < 0,05$). Розувастатин не оказывал влияние на повышенное содержание желчных кислот, но при совместном применении с L-RAG снижал в сыворотке крови уровень желчных кислот на 51,4 % ($p < 0,05$) (таблица 1).

Снижение уровня ХС-ЛПНП является основной целью фармакотерапии гиперлипидемии, и секвестранты желчных кислот были одним из первых классов препаратов, одобренных для применения с этой целью [13]. При этом, в исследованиях отмечено по-

Таблица 1. Содержание желчных кислот (мкмоль/л) в сыворотке крови хомяков с хронической гиперлипидемией, вызванной высокожировой диетой, богатой холестерином (ВЖХД), при курсовом введении L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактоурана (L-RAG), эзетимиба, розувастатина (Me (Q1-Q3), P)

Table 1. The bile acids content (μmol/l) in the blood serum of hamsters with chronic hyperlipidemia caused by a high-fat diet rich in cholesterol (HFCD), after administration of L-rhamnopyranosyl-6-O-methyl-galactouran (L-RAG), ezetimibe, rosuvastatin (Me (Q1-Q3), P)

Экспериментальные группы Experimental groups	Содержание желчных кислот, мкмоль/л Content of bile acids, μmol/l	Уровень статистической значимости различий Level of statistical significance of differences
1. Контроль (n = 8) 1. Control (n = 8)	20,52 (12,78–32,45)	
2. ВЖХД (n = 8) 2. HFCD (n = 8)	66,59 (52,81–85,34)	$p_{2-1} < 0,001$
3. ВЖХД + L-RAG (3 г / 100 г корма) (n = 8) 3. HFCD + L-RAG (3g / 100g of feed) (n = 8)	34,08 (30,21–39,60)	$p_{3-2} = 0,003$
4. ВЖХД + эзетимиб 2 мг/кг (n = 8) 4. HFCD + ezetimibe 2 mg/kg (n = 8)	36,72 (32,36–52,32)	$p_{4-2} = 0,040$
5. ВЖХД + L-RAG (3 г / 100 г корма) + эзетимиб 2 мг/кг (n = 8) 5. HFCD + L-RAG (3 g / 100 g of feed) + ezetimibe 2 mg/kg (n = 8)	23,44 (17,24–33,08)	$p_{5-2} < 0,001$ $p_{5-4} = 0,046$
6. ВЖХД + розувастатин 1 мг/кг (n = 8) 6. HFCD + rosuvastatin 1 mg/kg (n = 8)	58,73 (41,82–66,28)	$p_{6-2} = 0,688$
7. ВЖХД + L-RAG (3 г / 100 г корма) + розувастатин 1 мг/кг (n = 8) 7. HFCD + L-RAG (3 g / 100 g of feed) + rosuvastatin 1 mg/kg (n = 8)	32,31 (22,08–51,21)	$p_{7-2} = 0,008$ $p_{7-6} = 0,040$

вышение уровня ХС-ЛПВП в крови пациентов на фоне терапии секвестрантами желчных кислот [14].

Комбинированная фармакотерапия гиперлипидемий показана при недостижении целевых значений липидного профиля крови пациентов при монотерапии. Так, семейная гиперлипидемия связана с наиболее значительным риском прогрессирования ССЗ и требует значительного снижения уровня ХС-ЛПНП, чего часто нельзя достичь с помощью одного препарата [15]. В то же время, назначение статинов в максимальных терапевтических дозах может быть связано с увеличением частоты нежелательных побочных реакций, особенно миопатий [16]. В отдельных исследованиях показано, что на фоне терапии секвестрантами желчных кислот возможно незначительное увеличение синтеза ХС вследствие возрастания активности ГМГ-КоА-редуктазы [16]. Поэтому, совместное использование ингибитора ГМГ-КоА-редуктазы (розувастатина) и полисахарида березы L-RAG в наших экспериментах приводило к более выраженному гипохолестеролемическому эффекту (рисунки 1, А и 2, А).

Совместное применение ингибитора всасывания ХС эзетимиба и L-RAG также оказывает аддитивное влияние на снижение уровня общего ХС и ХС-ЛПНП (рисунки 1, А и 2, А). Назначение такой комбинированной терапии возможно в случае непереносимости статинов в любой дозе у пациентов [17].

В целом, преимущества использования комбинированной терапии полисахарида березы (*Betula pendula* L.) L-RAG с другими гиполипидемическими препаратами будет способствовать более высокой эффективности терапии, снижению дозировок отдельных лекарственных средств и уменьшению частоты и выраженности нежелательных побочных реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью настоящей работы явилось исследование гиполипидемической активности комбинации субстанции полисахарида из листьев березы повислой (*Betula pendula* L.) L-рамнопиранозил-6-О-метил-галактуронана (L-RAG) и ингибитора ГМГ-КоА-редуктазы розувастатина или ингибитора абсорбции холестерина эзетимиба.

На модели диет-индуцированной хронической гиперлипидемии, вызванной длительным кормлением высокожировой диетой, богатой холестерином (ВЖХД), показано, что курсовое применение L-RAG совместно с эзетимибом или розувастатином приводило к более выраженному снижению уровней холестерина (ХС), триацилглицеролов (ТАГ), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), чем при монотерапии полисахаридом или препаратами сравнения в отдельности.

Аддитивное влияние полисахарида на снижение уровня общего ХС и ХС-ЛПНП обусловлено, главным образом, снижением уровня желчных кислот в сыворотке крови, что свидетельствует о его способности сорбировать их в просвете кишечника и прерывать энтерогепатическую циркуляцию, действуя подобно препаратам-секвестрантам желчных кислот.

Полученные данные обосновывают перспективность использования L-RAG в комплексной терапии гиперлипидемии.

ЛИТЕРАТУРА

- Kopin L., Lowenstein C. J. Dyslipidemia. *Annals of internal medicine*. 2017;167(11):ITC81–ITC96. DOI: 10.7326/AITC201712050.
- Karr S. Epidemiology and management of hyperlipidemia. *The American journal of managed care*. 2017;23(9):S139–S148.

3. Sjouke B., Hovingh G.K., Kastelein J.J., Stefanutti C. Homozygous autosomal dominant hypercholesterolaemia: prevalence, diagnosis, and current and future treatment perspectives. *Current Opinion in Lipidology*. 2015;26(3):200–209. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000179.
4. Xie J.H., Jin M.L., Morris G.A., Zha X.Q., Chen H.Q., Yi Y., Li J.E., Wang Z.J., Gao J., Nie S.P., Shang P., Xie M.Y. Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016;56:S60–S84. DOI: 10.1080/10408398.2015.1069255.
5. Silva I.M.V., Machado F., Moreno M.J., Nunes C., Coimbra M.A., Coreta-Gomes F. Polysaccharide Structures and Their Hypocholesterolemic Potential. *Molecules*. 2021;26(15):4559. DOI: 10.3390/molecules26154559.
6. Ровкина К.И., Кривошеков С.В., Гурьев А.М., Юсубов М.С.О., Белоусов М.В. Разработка методики получения полисахаридов из листьев березы (*Betula pendula* Roth., *Betula pubescens* Ehrh.). *Химия растительного сырья*. 2019;3:23–31. DOI: 10.14258/jcprm.2019035420.
7. Ровкина К.И., Кривошеков С.В., Гурьев А.М., Юсубов М.С., Безверхняя Е.А., Белоусов М.В. Разработка методики количественного определения полисахаридов листьев березы. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2019;14(1(79)):47–50.
8. Ровкина К.И., Буйко Е.Е., Иванов В.В., Кайдаш О.А., Гурьев А.М., Юсубов М.С., Белоусов М.В. Гиполипидемическая активность полисахаридов растительного происхождения. *Традиционная медицина*. 2019;(2):39–44.
9. Zhang X., Qiu B., Wang Q., Sivaprasad S., Wang Y., Zhao L., Xie R., Li L., Kang W. Dysregulated Serum Lipid Metabolism Promotes the Occurrence and Development of Diabetic Retinopathy Associated With Upregulated Circulating Levels of VEGF-A, VEGF-D, and PlGF. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. 2021;22(8):779413. DOI: 10.3389/fmed.2021.779413.
10. Dillard A., Matthan N.R., Lichtenstein A.H. Use of hamster as a model to study diet-induced atherosclerosis. *Nutrition & Metabolism*. 2010;7:89. DOI: 10.1186/1743-7075-7-89.
11. Zhao Y., Qu H., Wang Y., Xiao W., Zhang Y., Shi D. Small rodent models of atherosclerosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;129:110426. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110426.
12. Getz G.S., Reardon C.A. Diet and murine atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006;26(2):242–249. DOI: 10.1161/01.ATV.0000201071.49029.17.
13. Thomas C., Pellicciari R., Pruzanski M., Auwerx J., Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008;7(8):678–93. DOI: 10.1038/nrd2619.
14. Insull W. Jr. Clinical utility of bile acid sequestrants in the treatment of dyslipidemia: a scientific review. *Southern Medical Journal*. 2006;99(3):257–73. DOI: 10.1097/01.smj.0000208120.73327.db.
15. Davidson M.H., Toth P.P. Combination therapy in the management of complex dyslipidemias. *Current Opinion in Lipidology*. 2004;15(4):423–31. DOI: 10.1097/01.mol.0000137221.16160.b9.
16. Hou R., Goldberg A.C. Lowering low-density lipoprotein cholesterol: statins, ezetimibe, bile acid sequestrants, and combinations: comparative efficacy and safety. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2009;38(1):79–97. DOI: 10.1016/j.ecl.2008.11.007.
17. Bays H., Rhyne J., Abby S., Lai Y.L., Jones M. Lipid-lowering effects of colesevelam HCl in combination with ezetimibe. *Current Medical Research and Opinion*. 2006;22(11):2191–200. DOI: 10.1185/030079906X148436.
4. Xie J.H., Jin M.L., Morris G.A., Zha X.Q., Chen H.Q., Yi Y., Li J.E., Wang Z.J., Gao J., Nie S.P., Shang P., Xie M.Y. Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016;56:S60–S84. DOI: 10.1080/10408398.2015.1069255.
5. Silva I.M.V., Machado F., Moreno M.J., Nunes C., Coimbra M.A., Coreta-Gomes F. Polysaccharide Structures and Their Hypocholesterolemic Potential. *Molecules*. 2021;26(15):4559. DOI: 10.3390/molecules26154559.
6. Rovkina K.I., Krivoshchekov S.V., Guryev A.M., Yusubov M.S.O., Belousov M.V. Development of a method for obtaining polysaccharides from birch leaves (*Betula pendula* Roth., *Betula pubescens* Ehrh.). *Chemistry of plant raw materials*. 2019;3:23–31. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2019035420.
7. Rovkina K.I., Krivoshchekov S.V., Guryev A.M., Yusubov M.S., Bezverkhniaia E.A., Belousov M.V. Development of a method for quantitative determination of birch leaf polysaccharides. *Bashkortostan Medical Journal*. 2019;14(1(79)):47–50. (In Russ.)
8. Rovkina K.I., Buyko E.E., Ivanov V.V., Kaidash O.A., Guryev A.M., Yusubov M.S., Belousov M.V. Hypolipidemic activity of plant polysaccharides. *Traditsionnaya Meditsina*. 2019;(2):39–44. (In Russ.)
9. Zhang X., Qiu B., Wang Q., Sivaprasad S., Wang Y., Zhao L., Xie R., Li L., Kang W. Dysregulated Serum Lipid Metabolism Promotes the Occurrence and Development of Diabetic Retinopathy Associated With Upregulated Circulating Levels of VEGF-A, VEGF-D, and PlGF. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. 2021;22(8):779413. DOI: 10.3389/fmed.2021.779413.
10. Dillard A., Matthan N.R., Lichtenstein A.H. Use of hamster as a model to study diet-induced atherosclerosis. *Nutrition & Metabolism*. 2010;7:89. DOI: 10.1186/1743-7075-7-89.
11. Zhao Y., Qu H., Wang Y., Xiao W., Zhang Y., Shi D. Small rodent models of atherosclerosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;129:110426. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110426.
12. Getz G.S., Reardon C.A. Diet and murine atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006;26(2):242–249. DOI: 10.1161/01.ATV.0000201071.49029.17.
13. Thomas C., Pellicciari R., Pruzanski M., Auwerx J., Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008;7(8):678–93. DOI: 10.1038/nrd2619.
14. Insull W. Jr. Clinical utility of bile acid sequestrants in the treatment of dyslipidemia: a scientific review. *Southern Medical Journal*. 2006;99(3):257–73. DOI: 10.1097/01.smj.0000208120.73327.db.
15. Davidson M.H., Toth P.P. Combination therapy in the management of complex dyslipidemias. *Current Opinion in Lipidology*. 2004;15(4):423–31. DOI: 10.1097/01.mol.0000137221.16160.b9.
16. Hou R., Goldberg A.C. Lowering low-density lipoprotein cholesterol: statins, ezetimibe, bile acid sequestrants, and combinations: comparative efficacy and safety. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2009;38(1):79–97. DOI: 10.1016/j.ecl.2008.11.007.
17. Bays H., Rhyne J., Abby S., Lai Y.L., Jones M. Lipid-lowering effects of colesevelam HCl in combination with ezetimibe. *Current Medical Research and Opinion*. 2006;22(11):2191–200. DOI: 10.1185/030079906X148436.

REFERENCES

1. Kopin L., Lowenstein C. J. Dyslipidemia. *Annals of internal medicine*. 2017;167(11):ITC81–ITC96. DOI: 10.7326/AITC201712050.
2. Karr S. Epidemiology and management of hyperlipidemia. *The American journal of managed care*. 2017;23(9):S139–S148.
3. Sjouke B., Hovingh G.K., Kastelein J.J., Stefanutti C. Homozygous autosomal dominant hypercholesterolaemia: prevalence, diagnosis, and current and future treatment perspectives. *Current Opinion in Lipidology*. 2015;26(3):200–209. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000179.