

# ВЛИЯНИЕ ФУРОСТАНОЛОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК РАСТЕНИЯ *DIOSCOREA DELTOIDEA* НА РЕГУЛЯТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Е.Б. Артюшкова<sup>1</sup>, Н.Г. Гуманова<sup>2</sup>, В.А. Метельская<sup>2</sup>, Т.Г. Покровская<sup>1</sup>  
В.И. Кочкаров<sup>1</sup>, М.В. Корокин<sup>1</sup>, М.В. Покровский<sup>1</sup>, Л.В. Корокина<sup>1</sup>,  
А.М. Носов<sup>3</sup>, М.М. Корнеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет Росздрава

<sup>2</sup> Государственный Научно-исследовательский центр профилактической медицины Росмедтехнологий, Москва

<sup>3</sup> Институт физиологии растений Российской академии наук, Москва

**Влияние фураностаноловых гликозидов из культуры клеток растения *Dioscorea Deltoidea* на регуляторную функцию эндотелия при моделировании гипостроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции**

Е.Б. Артюшкова<sup>1</sup>, Н.Г. Гуманова<sup>2</sup>, В.А. Метельская<sup>2</sup>, Т.Г. Покровская<sup>1</sup>, В.И. Кочкаров<sup>1</sup>, М.В. Корокин<sup>1</sup>, М.В. Покровский<sup>1</sup>, Л.В. Корокина<sup>1</sup>, А.М. Носов<sup>3</sup>, М.М. Корнеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет Росздрава

<sup>2</sup> Государственный Научно-исследовательский центр профилактической медицины Росмедтехнологий, Москва

<sup>3</sup> Институт физиологии растений Российской академии наук, Москва

**Цель.** Оценить эффекты фураностаноловых гликозидов из культуры клеток растения *Dioscorea Deltoidea* (ДМ-05, Институт физиологии растений РАН) на физиологические и биохимические показатели эндотелиальной функции у крыс в условиях гипостроген-индуцированной дисфункции эндотелия.

**Материал и методы.** В эксперимент включили 10 самок крыс Wistar массой 200-300 г, которым проводили билатеральную овариэктомию. Затем в течение 6 нед этим крысам вводили препарат ДМ-05. Животных контрольной группы (n=10) подвергли ложной операции без удаления яичников.

**Результаты.** Препарат ДМ-05 способствует восстановлению концентрации стабильных метаболитов оксида азота (NO), отражающих активность эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). Данные эффекты подтверждаются коррекцией АД и параметров эндотелиальной функции. Исследования на открытом сердце выявили предотвращение гипостроген-индуцированного повышения адренореактивности.

**Заключение.** Применение веществ растительного происхождения с эстроген-подобной активностью может стать перспективным подходом к коррекции эндотелиальной дисфункции и снижению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у женщин в период менопаузы.

**Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, фитострогены, овариэктомия, оксид азота, менопауза.

**РФК 2008;2:85-88**

**Effect of furostanol glycosides from cultured *Dioscorea deltoidea* cells on regulatory function of endothelium in a rat model of hypoestrogen-induced endothelial dysfunction**

E.B.Artyushkova<sup>1</sup>, N.G.Gumanova<sup>2</sup>, V.A.Metelskaya<sup>2</sup>, T.G.Pokrovskaya<sup>1</sup>, V.I.Kochkarov<sup>1</sup>, M.V.Korokin<sup>1</sup>, M.V.Pokrovsky<sup>1</sup>, L.V.Korokina<sup>1</sup>, A.M.Nosov<sup>3</sup>, M.M. Korneev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Kursk

<sup>2</sup>State Research center of preventive medicine of Rosmedtechnology, Moscow

<sup>3</sup>Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow

**Aim.** To study the effects of furostanol glycosides from cultured *Dioscorea Deltoidea* cells (DM-05, Institute of Plant Physiology, RAS) on physiological and biochemical markers of endothelial function in rats with hypoestrogen-induced endothelial dysfunction.

**Material and methods.** 10 female rats of Wistar line, with body mass 200-300 g have been included in the experiment. The bilateral ovariectomy was performed in rats to produce the model of hypoestrogen-induced endothelial dysfunction. Rats were treated with the injections of DM-05 during 6 weeks. False ovariectomy was performed in rats of control group (n=10).

**Results.** DM-05 restored the levels of stable metabolites of nitric oxide (NO) which reflex endothelial NO-synthase activity. Besides DM-05 corrected blood pressure and endothelial function. Experiments on open heart showed that DM-05 protects the cardiac tissue from hypoestrogen-induced hyperadrenoreactivity.

**Conclusion.** Treatment with plant origin substances with estrogen-like activity can be a perspective approach to the correction of endothelial function and decrease in cardiovascular risk in menopause women.

**Key words:** endothelial dysfunction, phytoestrogens, ovariectomy, nitric oxide, menopause.

**Rational Pharmacother. Card. 2008;2:85-88**

Взаимосвязи между менопаузой и развитием сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) посвящено много исследований, большинство из которых свидетельствует об увеличении риска этих заболеваний после менопаузы [1-5]. На частоту возникновения ССЗ и их осложнений в постменопаузе существенно влияет и гормональная заместительная терапия [6-8]. Связанное с менопаузой снижение гормональной активности индуцирует нарушения липидного спектра – рост концентрации общего холестерина (ХС), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) и триглицеридов, которые повышают риск развития ССЗ [5, 9]. Наряду с изменениями липидного профиля в период

менопаузы наблюдается увеличение массы тела с развитием преимущественного абдоминального ожирения, снижением чувствительности тканей к инсулину, нарушением метаболизма глюкозы [5, 10-12]. Метаболические изменения в период менопаузы сопровождаются и нарушением продукции ряда вазоактивных соединений эндотелиальными клетками сосудистой стенки: снижается продукция вазодилататоров (простаглицлин, оксид азота) и повышается синтез вазоконстрикторов, митогенов (эндотелин-1, ангиотензин II) и провоспалительных цитокинов, снижается эндотелий-зависимая вазодилатация (ЭЗВД) [13-16]. В результате нарушается физиологическая регуляция

сосудистого тонуса, что приводит к повышению артериального давления (АД).

В последние годы возрос интерес к стероидным гликозидам как возможным средствам коррекции метаболических нарушений у женщин в постменопаузе. С одной стороны, эти соединения используют для синтеза гормональных препаратов в фармацевтической промышленности, с другой – изучают как вещества, обладающие широким спектром биологического действия на живые организмы. У этих соединений была обнаружена способность тормозить рост некоторых форм злокачественных образований; снижать уровень ХС в крови и стимулировать овуляторные процессы у животных, а также противогрибковая, антибактериальная и противовирусная активности [17-19].

В институте физиологии растений РАН выведен уникальный штамм – сверхпродуцент клеток растения Диоскореи дельтовидной (*Dioscorea deltoidea*), далее называемый ДМ-05. Уникальной особенностью этого штамма является полное отсутствие спиростаноловых гликозидов, обладающих выраженными иммунодепрессивными и цитотоксическими эффектами, а в суспензионной культуре продуцируются только фураностаноловые гликозиды, обладающие поливалентной биологической активностью при минимальной токсичности.

Цель настоящего исследования – экспериментальное изучение влияния фураностаноловых гликозидов растения *Dioscorea deltoidea* (ДМ-05) на функциональную активность сосудистого эндотелия в условиях моделирования гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции у крыс.

## Материал и методы

В эксперимент включили 10 самок крыс Wistar массой 200-300 г. Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», разработанным и утвержденным МЗ СССР (1977 г.), а также принципам Хельсинкской декларации (2000 г.). С целью моделирования гипоэстрогении у крыс основной группы под анестезией этиминалом натрия (50 мг/кг) проводили билатеральную овариэктомию [20]. Затем в течение 6 нед животным ежедневно однократно вводили внутривенно препарат ДМ-05 в дозе 1 мг/кг в объеме 0,1 мл на 100 г массы животного. Животных контрольной группы (n=10) подвергли ложной операции без удаления яичников.

Измерение АД в сонной артерии проводили под наркозом (этиминал натрия 50 мг/кг). С помощью датчика и компьютерной программы «Bioshell» непрерывно регистрировали систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) АД и частоту сердечных сокращений (ЧСС).

Помимо измерения АД, проводили ряд функциональных тестов: тест на эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) при внутривенном введении раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г [21], а также тест на эндотелий-независимую вазодилатацию (ЭНВД) при внутривенном введении раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г [22]. Внутривенное введение АХ в течение 3-5с приводило к резкому падению АД. Площадь над кривой рассматривали как сосудистый компонент реакции на АХ и использовали для дальнейших расчетов. ЭНВД оценивали по тому же принципу с той лишь разницей, что вместо АХ вводили донатор оксида азота - нитропруссид.

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных и ее коррекцию оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ, т. е. фактически отношение ЭНВД к ЭЗВД [23, 24].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, находящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы:

1. Проба на адренореактивность (одномоментное внутривенное введение раствора адреналина гидрохлорида 1.10<sup>-5</sup>моль/л, из расчета 0,1 мл на 100 г) [23]. При проведении данной пробы проводилась оценка максимального подъема давления в левом желудочке (ЛЖД).

2. Нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с) [23]. После проведения данной пробы рассчитывался показатель истощения миокардиального резерва, выраженный в проценте прироста АД на 25-й с пережатия аорты по отношению к приросту АД на 5-й с пережатия аорты, т. е.  $\text{АД (25 с)}/\text{АД (5 с)} \cdot 100$ .

Концентрацию конечных стабильных метаболитов оксида азота (сумма нитрат- и нитрит-ионов, NO<sub>x</sub>) в сыворотке крови крыс измеряли методом Грисса в нашей модификации [25] после депротеинизации сыворотки двукратным объемом этанола с последующим восстановлением нитрата в нитрит хлоридом ванадия (VCl<sub>3</sub>). Оптическую плотность регистрировали при 540 нм. Всех животных в течение эксперимента выдерживали на специальной безнитритной диете [24-26].

Концентрацию эндотелина-1 определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов фирмы Biomedica согласно инструкции производителя.

Результаты представляли в виде среднего значения ± стандартное отклонение (M±σ). Различия считали до-

Таблица 1. Влияние 6-недельного применения препарата ДМ-05 на показатели артериального давления у крыс

		Основная группа		Контроль
		Исходно	Через 6 нед	
САД, мм рт.ст.	Базальный уровень	160,0 ± 6,2 <sup>a</sup>	144,5 ± 5,9 <sup>b</sup>	128,1 ± 6,0
	ЭЗВД с АХ	91,8 ± 8,0	68,1 ± 2,5 <sup>b</sup>	83,9 ± 4,8
	ЭНВД с НП	87,4 ± 7,5 <sup>a</sup>	90,0 ± 4,3	91,0 ± 4,6
ДАД, мм рт.ст.	Базальный уровень	124,9 ± 5,5 <sup>a</sup>	114,9 ± 5,4	95,7 ± 4
	ЭЗВД с АХ	57,3 ± 7,1 <sup>a</sup>	41,9 ± 2,7 <sup>b</sup>	41,9 ± 2,2
	ЭНВД с НП	57,8 ± 6,6 <sup>a</sup>	62,5 ± 4,8	48,5 ± 2,9

Примечание (к табл. 1 – 3): <sup>a</sup> p < 0,05 по сравнению с контрольной группой; <sup>b</sup> p < 0,05 по сравнению с основной группой до лечения

стоверными при p < 0,05.

## Результаты и обсуждение

До начала применения препарата у животных с моделированной эндотелиальной дисфункцией показатели АД как исходно, так и на фоне фармакологических проб были выше, чем в контрольной группе. Введение таким животным в течение 6 недель препарата ДМ-05 сопровождалось достоверным снижением показателей АД как исходно (САД), так и на фоне пробы с АХ (САД и ДАД) (табл. 1).

У животных основной группы ЭЗВД до применения ДМ-05 была достоверно ниже, чем у крыс контрольной группы (1022,5 ± 131 против 1673,6 ± 132,4 отн. ед., p < 0,05). Напротив, показатель ЭНВД у животных с моделированной эндотелиальной дисфункцией оказался выше, чем в контрольной группе: (2157,3 ± 167 против 1338,1 ± 121,1 отн. ед., p < 0,05).

Степень эндотелиальной дисфункции оценивали по коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД). У крыс с моделированной эндотелиальной дисфункцией до введения ДМ-05 КЭД был существенно выше, чем в контроле (2,1 ± 0,2 против 0,8 ± 0,11; p < 0,05) (табл. 2). В результате 6-недельного курса инъекций препарата ДМ-05 величина КЭД достоверно снизилась (до 1,2 ± 0,1), практически достигнув величины этого показателя в контрольной группе.

Концентрация конечных стабильных метаболитов оксида азота до введения ДМ-05 была ниже в группе животных с моделированной эндотелиальной дисфункцией (30,46 ± 7,2 и 53,21 ± 9,6 мкМ, соответственно). При этом концентрация эндотелина-1 (известного вазоконстриктора и митогена [27]) у крыс с овариектомией достоверно не отличалась от таковой у контрольных животных. После введения ДМ-05 наблюдали восстановление концентрации NOx у крыс основной

группы, которая даже превышала уровень, наблюдаемый в группе контрольных животных (см. табл. 2).

Введение ДМ-05 предотвращало повышение адренореактивности, связанное с гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункцией (табл. 3). В табл. 3 представлены также результаты пробы на нагрузку сопротивлением. Показатель миокардиального резерва на 25-й с пробы у животных основной группы был ниже, чем у животных контрольной группы (67,9 ± 4,4 и 89,3 ± 4,2%, соответственно). В результате введения ДМ-05 в дозе 1 мг/кг показатель миокардиального резерва достоверно возрос до 79,3 ± 3,8% (p < 0,05).

Фитоэстрогены представляют собой биологически активные соединения растительного происхождения, включающие изофлавоноиды, куместаноиды и лигнаны. Выступая в роли как агонистов, так и антагонистов селективных эстрогеновых рецепторов, фитоэстрогены модулируют их активность [28]. В литературе описаны и кардиотропные эффекты стероидных гормонов [28, 29]. Так, эстрогены оказывают значительное влияние на сократительную функцию сердца; экспериментально показано, что 17-β-эстрадиол существенно ослабляет действие адреналина [29].

Изучение механизма действия стероидных гликозидов позволило предположить, что при адсорбции полярных концов молекул стероидных гликозидов на поверхности мембран эритроцитов под действием α-глюкозидаз происходит гидролиз гликозидной связи с образованием генинов, способных формировать комплексы с холестерином мембран, что, несомненно, вносит вклад в коррекцию эндотелиальной дисфункции [30]. Известно, что около 60% стероидных гликозидов в пищеварительном тракте животных подвергается гидролизу с образованием свободных сапогенинов, которые препятствуют всасыванию холестерина [31].

Таблица 2. Влияние 6-недельного применения препарата ДМ-05 на показатели эндотелиальной функции у крыс

	Основная группа		Контроль
	Исходно	Через 6 нед	
NOx, мкМ	30,46 ± 7,2 <sup>a</sup>	68,33 ± 6,8 <sup>b</sup>	53,21 ± 9,6
Эндотелин-1, фмоль/мл	1,47 ± 0,1	1,79 ± 0,1	1,42 ± 0,08
КЭД, отн.ед	2,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,8 ± 0,11

Таблица 3. Влияние 6-недельного применения препарата ДМ-05 на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне гипоэстроген-индуцированной эндотелиальной дисфункции

	Основная группа		Контроль
	Исходно	Через 6 нед	
Адренореактивность, ЛЖД мм рт. ст.	244,2±5,1 <sup>a</sup>	212,3±4,1 <sup>b</sup>	203,4±9,1
Показатель миокардиального резерва, %	67,9±4,4 <sup>a</sup>	79,3±3,8 <sup>b</sup>	89,3±4,2

Кроме того, фитоэстрогены повышают эндотелийзависимую (ЭЗВД) и снижают эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) [25, 26].

## Заключение

Препарат ДМ-05, представляющий собой смесь фураностраноловых гликозидов из культуры клеток растения *Dioscorea deltoidea*, предотвращает у крыс развитие эндотелиальной дисфункции, индуцированной сниженным уровнем эстрогенов. Об этом свидетельствует снижение величины АД, показателя КЭД, восстановление нормальной концентрации стабильных метаболитов оксида азота через 6 нед применения препарата. Параллельные исследования на открытом сердце

выявили предотвращение гипоэстроген-индуцированного повышения адренореактивности. Можно полагать, что указанные эффекты реализуются за счет уменьшения гипоэстроген-индуцированной гиперхолестеринемии и предотвращения развития окислительного стресса. Применение веществ растительного происхождения, обладающих эстроген-подобной активностью, может стать перспективным подходом к коррекции эндотелиальной дисфункции и внести определенный вклад в снижение риска развития ССЗ у женщин в период менопаузы без развития осложнений, характерных для заместительной гормональной терапии.

## Литература

- Miller AM, Wilbur J, Chandler PJ, Sorokin O. Cardiovascular disease risk factors and menopausal status in midlife women from the former Soviet Union. *Women Health* 2003;38:19-36.
- Sjöberg L, Kaaja R, Tuomilehto J. Epidemiology of postmenopausal hypertension. *Int J Clin Pract Suppl* 2004;139:4-12.
- Creasas G, Christodoulakos G, Lambrinoudaki I. Cardiovascular disease: screening and management of the a-symptomatic high-risk post-menopausal woman. *Maturitas* 2005; 52 Suppl 1: S32-S37.
- Lobo RA. Surgical menopause and cardiovascular risks. *Menopause* 2007;14(3 Pt 2):562-
- Rosano GM, Vitale C, Marazzi G, Volterrani M. Menopause and cardiovascular disease: the evidence. *Climacteric* 2007;10 Suppl 1:19-24.
- Burt V.L. Whelton P, Roccella E. J., et al. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey 1991. *Hypertension* 1995; 25(3): 303-4.
- Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002; 288:980-7.
- Shakir Y.A., Samsioe G., Nyberg P., et al. Do sex hormones influence features of the metabolic syndrome in middle-aged women? A population-based study of Swedish women: the Women's Health in the Lund Area (WHILA) Study. *Fertil Steril* 2007; 88(1):163-71.
- LaRosa JC. Lipids and cardiovascular disease: do the findings and therapy apply equally to men and women? *Womens Health Issues* 1992; 2:102-11.
- Вихляева Е.М. Климактерический синдром. В: Жмакина К. Н., редактор. Гинекологическая эндокринология. М.: Медицина; 1989.
- Барт Б. Я., Бороненков, В. Ф. Беневская Г. М. Артериальная гипертензия у женщин в постменопаузе: современные возможности медикаментозной терапии в поликлинических условиях. *Росс кардиол журн* 2001; (5): 69-70.
- Zárate A, Basurto L, Hernández M. The metabolic syndrome in postmenopausal women. Clinical implications [in Spanish]. *Gac Med Mex* 2003;139:625-8.
- Быстрова М.М., Бритов А.Н., Горбунов В.М. и др. Заместительная гормональная терапия у женщин с артериальной гипертензией в пери- и постменопаузе: гемодинамические эффекты. *Тер арх* 2001;73(10): 33-8.
- Davison S., Davis S.R. New markers for cardiovascular disease risk in women: impact of endogenous estrogen status and exogenous postmenopausal hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2470-8.
- Sowers M.R., Matthews K.A., Jannausch M., et al. Hemostatic factors and estrogen during the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5942-8.
- Reimann M., Vafeiadou K., Hall W.L., et al. Evidence for associations between common polymorphisms of estrogen receptor beta gene with homocysteine and nitric oxide. *Climacteric* 2006; 9:215-223.
- Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К., Волернер Ю.С. Химия спиростанолов. М.: Наука; 1996.
- Sirtori C.R. Risks and benefits of soy phytoestrogens in cardiovascular diseases, cancer, climacteric symptoms and osteoporosis. *Drug Saf* 2001; 24:665-82.
- Cassidy A., Albertazzi P., Lise Nielsen I., et al. Critical review of health effects of soyabean phyto-oestrogens in post-menopausal women. *Proc Nutr Soc* 2006; 65:76-92.
- Vico L, Dolleans E., Benhamou C.L., Courteix D. Dose effects of propranolol on cancellous and cortical bone in ovariectomized adult rats. *J Pharmacol Exp* 2005; 10:110-1.
- Laursen J. B., Rajagopalan S., Galis Z., et al. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 1997; 95(3):588-93.
- Галаган М.Е., Широколова А. В., Ванин А.Ф. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников. *Вопр мед химии* 1991; 37(1): 67-70.
- Покровский М. В., Качкаров В. И., Покровская Т. Г. и др. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME- индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте. *Кубанский научно-медицинский вестник* 2006;(12): 25-9.
- Гуманова Н.Г., Артюшкова Е.Б., Метельская В.А., и др. Влияние антиоксидантов ттQ510 и резвератрола на регуляторную функцию эндотелия у крыс с моделированной артериальной гипертензией. *Бюлл экск биол мед* 2007; 143 (6): 619-22.
- Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови человека. *Клин лабор диагн* 2005;(6):15-18.
- Granger D.L., Anstey N.M., Miller W.C., et al. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods Enzymol* 1999;301: 49-61.
- Fleming I., Busse R. NO: the primary EDRF. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31(1): 5-14.
- Oldenhave A., Jaszmann L.J., Haspels A.A., et al. Impact of climacteric on well-being, a survey based on 5213 women from 39 to 60 years old. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168(3 Pt 1): 772-80.
- van der Schouw Y.T., de Kleijn M.J., Peeters P.H., Grobbee D.E. Phyto-oestrogens and cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000;10:154-67.
- Lange Y, Ye J, Steck TL. Activation of membrane cholesterol by displacement from phospholipids. *J Biol Chem*. 2005; 280: 36126-31.
- Petit PR, Sauvaire YD, Hillaire-Buys DM, et al Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behavior and plasma cholesterol. *Steroids*. 1995;60:674-80.