

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-1-26-29

### ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КУРКУМЫ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ И МИЕЛОСУПРЕССИИ

А. П. Лыков<sup>1</sup>, Г. Ю. Любимов<sup>2</sup>, К. В. Гайдуль<sup>2</sup>

Изучен эффект масляного экстракта куркумы при алкогольном повреждении печени и миелосупрессии, индуцированной циклофосфаном у мышей. Установлено миело- и гепатопротекторное действие экстракта куркумы. Показано, что экстракт куркумы способствует сохранности лейкоцитов и спленоцитов после введения цитостатика. При алкогольном повреждении печени экстракт куркумы уменьшает повреждение тканей печени, что проявляется более низким уровнем в сыворотке крови и гомогенате печени трансаминаз, щелочной фосфатазы, билирубина и оксида азота.

**Ключевые слова:** масляный экстракт куркумы; циклофосфан; алкогольный гепатит; трансаминазы; щелочная фосфатаза; билирубин общий; билирубин конъюгированный; оксид азота.

#### ВВЕДЕНИЕ

Имеются сведения о наличии у куркумы (*Curcuma longa*) гепатопротекторного свойства [1, 2, 6]. Из куркумы выделены 3 основных биологически активных вещества: куркумин; диметоксикуркумин; бис-диметоксикуркумин [1, 2, 8]. Куркумин, член семейства имбирных *Zingiberaceae*, (1,7-бис[4-гидрокси-3-метоксифенил]-1,6-гептадиен-3,5-дион) — гидрофобный полифенол [12]. Для него характерны антиоксидантный, антимикробный, противовоспалительный, противовирусный, противоопухолевый и гипогликемический эффекты [12]. На моделях повреждения печени (CCl<sub>4</sub> или афлатоксин) выявлено гепатопротекторное действие куркумина [12].

Одной из причин заболеваний печени является злоупотребление алкоголем, что приводит к развитию жирового гепатоза, цирроза печени. Кроме того, функция печени нарушается при применении цитостатических препаратов, в том числе циклофосфана.

Цель работы — выявление защитного действия масляного экстракта куркумы при алкогольном гепатите и повреждении печени циклофосфаном в эксперименте.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты на лабораторных животных проведены с соблюдением принципов Хельсинкской декларации ВМА (2000). Опыты выполнены на инбредных мышцах-самцах СВА в возрасте 8–12 недель массой 20–25 г, полученных из питомника НИИФКИ. Мышей содержали в клетках при комнатной температуре

(22 ± 1) °С, 60 % влажности и 12-часовом цикле свет/темнота. Мыши получали стандартный корм при доступе к воде *ad libitum*. Животные акклиматизировались в течение 7 дней до начала эксперимента. Мыши случайным образом были разделены на 5 групп.

В течение 10 дней 20 мышей до первого введения циклофосфана (100 мкг/кг, внутривентриально) и далее до конца эксперимента дополнительно получали корм, пропитанный масляным экстрактом куркумы (40 мл на 10 животных). В контрольной группе мышей содержали на стандартном корме, на 11 день им вводили первую дозу циклофосфана. Вторую инъекцию циклофосфана животные получали спустя 3 дня после первой. Оценивали количество лейкоцитов в периферической крови из хвостовой вены на 0, 3, 6 и 9 день эксперимента. На 3 день половину животных из контрольной группы и группы, получавшей экстракт куркумы с пищей, выводили из эксперимента под анестезией (40 мг/кг этаминал-натрия, внутривентриально; Sigma-Aldrich, США) для забора селезенки и оценки количества спленоцитов. Оставшихся животных из эксперимента выводили на 9 сут и также оценивали количество спленоцитов.

Алкогольный гепатит у 35 мышей индуцировали внутривентриальным введением 20 % раствора этанола в объеме 0,2 мл/мышь ежедневно в течение 5 дней. На стандартном корме содержали 15 мышей, 20 мышей дополнительно получали с пищей экстракт куркумы. В контрольной группе (*n* = 10) мышей содержали на стандартном корме. Животных выводили из эксперимента на 20 день. В данном эксперименте оценивали массу печени, количество лейкоцитов в периферической крови и количество спленоцитов. Кроме того, в сыворотке крови и гомогенате печени (100 мг печени раздавливали стеклянным пестиком в 0,5 мл ДМСО)

<sup>1</sup> НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, Россия, 630060, Новосибирск, Тимакова, 2.

<sup>2</sup> НИИФКИ, Россия, 630090, Новосибирск, Ядринцевская, 14.

определяли уровни трансаминаз, щелочной фосфатазы, билирубина и оксида азота.

Уровень щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли кинетическим методом с использованием набора реагентов производства ЗАО “Вектор-Бест” (п. Кольцово, НСО) при длине волны 405 нм.

Уровни билирубина общего и конъюгированного исследовали с использованием набора реагентов производства ЗАО “Вектор-Бест” при длине волны 546 нм.

Уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ) определяли динитрофенилгидразиновым методом с использованием набора реагентов производства ЗАО “Вектор-Бест” при длине волны 490 нм.

Уровень оксида азота (NO) исследовали с использованием реактива Грейсса спектрофотометрически при длине волны 492 нм на Stat Fax 2100 (США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (LQ) и верхним (UQ) квартилями. Достоверность различия рассчитывали по *U*-критерию Манна — Уитни и принимали при значениях  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, прием с пищей масляного экстракта куркумы привел к увеличению количества лейкоцитов в периферической крови, по сравнению с мышами, содержащимися на стандартном корме, однако статистически недостоверному ( $p > 0,05$ ).

На 3 сут после первого введения циклофосфана выявлено статистически значимое снижение количества лейкоцитов в периферической крови в обеих группах животных, по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,05$ ). Показано, что куркума статистически значимо в меньшей степени приводит к снижению количества лейкоцитов в периферической крови мышей после введения циклофосфана в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ).

Прием куркумы статистически значимо в большей степени способствовал сохранности клеток селезенки

после введения мышам циклофосфана по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

После второго введения циклофосфана в группе мышей, получавших куркуму, отмечена в большей степени сохранность количества лейкоцитов в периферической крови по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

На 9 сут эксперимента куркума способствует более быстрому восстановлению количества лейкоцитов в периферической крови и клеточности селезенки по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

В условиях алкогольного гепатита (табл. 2) куркума способствует большей сохранности количества лейкоцитов в периферической крови и количества спленцитов, а также массы печени.

О менее выраженном токсическом эффекте этанола на функцию печени в группе мышей, получивших экстракт куркумы, в сравнении с мышами без ее применения можно судить по уровням АЛТ, ЩФ и общего билирубина, которые были статистически значимо меньшими ( $p < 0,05$ ) (табл. 3). По другим параметрам не выявлено значимых различий между опытными группами мышей.

О функции клеток печени свидетельствуют результаты определения трансаминаз, ЩФ, билирубина и оксида азота в гомогенате печени в исследуемых группах животных. Так, в опытных группах мышей выше уровни АСТ, конъюгированного билирубина и снижена активность ЩФ, по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Между опытными группами отмечены статистически значимые различия для уровней конъюгированного билирубина, процента конъюгации билирубина и уровней оксида азота ( $p < 0,05$ ).

Выявленное защитное действие экстракта куркумы при введении мышам циклофосфана по данным литературы может быть результатом наличия у экстрактов куркумы и куркумина высокой антиоксидантной активности, как следствие, повышения уровня супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы [7]. Куркумин в силу наличия в его молекуле ортометоксифенольного гидроксильного радикала и  $\beta$ -дикетона связывает активные метаболиты кислорода и тем самым предупреждает оксидативное повреждение тканей [9, 12]. Кроме того, куркумин подавляет актив-

Таблица 1. Количество лейкоцитов и спленцитов у мышей-самцов СВА после введения циклофосфана (Me; Q25-Q75)

Параметр	Контроль, $n = 10$	Куркума, $n = 20$
<b>День 0</b>		
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	10,13 (9,25 – 11,5)	12,13 (10,0 – 13,75)
<b>День 3 (после внутрибрюшинного введения 100 мкг/кг циклофосфана)</b>		
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	2,63 (2,25 – 3,0)*	3,88 (3,63 – 4,63)
Спленциты ( $10^6/мл$ )	50,0 (50,0 – 57,5)*	100,0 (87,5 – 100,0)
<b>День 6 (после введения второй дозы циклофосфана 100 мкг/кг внутрибрюшинно на 4 день эксперимента)</b>		
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	2,75 (2,25 – 4,0)	3,75 (3,5 – 3,75)
<b>День 9 (после введения 200 мкг/кг циклофосфана)</b>		
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	5,5 (5,25 – 5,75)*	7,25 (6,5 – 8,0)
Спленциты ( $10^6/мл$ )	100,0 (95,0 – 100,0)*	200,0 (162,5 – 210,0)

\* Достоверность различия между группами по Манну — Уитни  $p < 0,05$ .

ность некоторых ферментов, в том числе циклооксигеназы 2, липоксигеназы и индуцируемой синтазы оксида азота, а также ингибирует фактор транскрипции *NF-κB*, вовлеченный в регуляцию иммунного и воспалительного ответа, что ведет к снижению синтеза провоспалительных цитокинов, простагландина  $E_2$  [12]. Максимальным цитотоксическим действием, в том числе и миелосупрессирующим, обладают метаболиты циклофосфана, образующиеся в клетках печени под влиянием микросомальных ферментов. Не исключено, что куркума, а именно содержащийся в ней куркумин, снижает активность микросомальных ферментов и, тем самым, уменьшает количество активных метаболитов циклофосфана, что способствует сохранности клеток гемопоэза.

Аналогичное влияние куркумы на количество лейкоцитов в периферической крови и клеточность селезенки при алкогольном гепатите, а также сохранность массы печени может быть результатом антиоксидантного действия, способствующего снижению токсического воздействия продуктов метаболизма этанола на клетки организма мышей.

О гепатопротекторном эффекте куркумы и куркумина свидетельствует ряд исследований. Так, предобработка первичных клеток печени куркумином снижала токсическое действие этанола на клетки *in vitro* [3]. В отсутствие предобработки первичных клеток печени отмечено увеличение уровня малонового диальдегида, снижение глутатион-S-трансферазы, увеличение выхода из клеток лактатдегидрогеназы и АСТ. Полагают, что гепатопротекторное действие куркумина обусловлено вовлечением в процесс гемоксигеназы-1. О восстановлении антиоксидантной и липидпероксидазной активности куркумой при токсическом повреждении печени  $CCl_4$  сообщается в работе [4]. Куркумин “отменяет” индуцированное парацетамолом снижение антиоксидантной активности печени [13]. Более того, авторы показали, что эффект куркумина связан с повышением экспрессии гепатоцитами антиоксидантных генов и снижением уровня экспрессии ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНОα и белков острой фазы. Об эффекте куркумина у мышей с индуцированным этанолом хроническим повреждением печени сообщается в работе [11]. По данным гистологического исследования печени отмечено уменьшение выраженности альтерации тканей печени, на фоне приема куркумина у животных снижается уровень АЛТ и АСТ. В то же время в контрольной группе этанол приводил к усилению генерации активных метаболитов кислорода, наработки малонового

диальдегида, снижению глутатион-S-трансферазы, что отражает подавление антиоксидантной функции печени. Добавление куркумы в течение 12 недель в пищу больным с высоким уровнем АЛТ в сыворотке крови приводило к значительному его снижению, а также снижению уровней АСТ и сохранности уровня ЩФ [8].

Выявленное нами увеличение уровней в сыворотке крови АЛТ и АСТ не противоречит литературным данным [14], когда на модели алкоголь-индуцированного повреждения печени у мышей Balb/c отмечено возрастание уровней трансаминаз. Этанол при введении в желудок в течение 7 дней мышам-самцам ICR индуцировал повреждения тканей печени, что проявлялось увеличением в сыворотке крови уровней АЛТ, АСТ, ЩФ и общего билирубина [6]. Отмечено также увеличение сывороточных уровней АЛТ, АСТ, ЩФ и возрастание массы печени [5]. Внутривенное введение этанола грызунам в течение 30 дней приводило к увеличению массы тела, возрастанию сывороточных уровней АЛТ, АСТ и общего билирубина [10]. Этанол у крыс приводил к возрастанию сывороточных уровней АЛТ, АСТ и общего билирубина [15]. Известно, что ЩФ синтезируется в основном клетками костей и печени. Повышенные уровни данного фермента рассматриваются как следствие нарушения экскреции гепатоцитами или повышенной продукции паренхимой печени [5].

На фоне приема экстракта куркумы уровни АЛТ, АСТ, ЩФ, метаболизм билирубина в печени и NO были повышены в меньшей степени, чем у мышей с алкогольным гепатитом без применения экстракта куркумы. Более того, более высокие уровни конъюгированного билирубина в сыворотке крови также свидетельствуют о сохранности метаболической функции клеток печени.

В отношении уровней АЛТ, АСТ, ЩФ, билирубина и NO в гомогенате печени показано, что при алкогольном гепатите отмечено увеличение содержания NO по сравнению с уровнями в гомогенате печени интактных животных, что расценивается как индикатор воспаления [14]. При добавлении в корм экстракта куркумы у мышей отмечено его снижение в гомогенате печени по сравнению с мышами без применения экстракта, что можно расценивать как снижение воспалительной реакции в печени, обусловленное активными компонентами куркумы.

Снижение уровней АЛТ и АСТ свидетельствует о стабилизации мембраны гепатоцитов, что согласуется

Таблица 2. Количество лейкоцитов и спленоцитов, масса печени у мышей-самцов СВА при алкогольном гепатите (Ме; Q25-Q75)

Параметр	Контроль, n = 10	Алкогольный гепатит, n = 15	Алкогольный гепатит + куркума, n = 20
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	6,25 (5,0 – 8,75)	4,75 (3,75 – 5,0)*#	5,25 (5,0 – 6,25)
Спленоциты ( $10^6/мл$ )	105,0 (95,0 – 120,0)	90,0 (60,0 – 100,0)*#	110,0 (105,0 – 110,0)
Масса печени (г)	1,51 (1,36 – 1,72)	0,86 (0,83 – 1,0)*#	1,02 (0,97 – 1,32)*

\* Достоверность различия с контролем по Манну — Уитни ( $p < 0,05$ );

# — достоверность различия между группами по Манну — Уитни ( $p < 0,05$ ).

Таблица 3. Уровни трансаминаз, билирубина, щелочной фосфатазы и оксида азота при алкогольном гепатите у мышей-самцов СВА (Ме; Q25-Q75)

Параметр	АЛТ (ммоль/л)	АСТ (ммоль/л)	ЩФ (Е/л)	ОБ (мкмоль/л)	КБ (мкмоль/л)	% конъюгации	NO (мкмоль/л)
<b>В сыворотке крови</b>							
Контроль, n = 10	6,5 (6,44 – 6,8)	6,72 (6,45 – 6,96)	45,02 (44,03 – 48,02)	16,43 (9,92 – 23,25)	3,87 (2,8 – 7,3)	26,0 (17,64 – 36,67)	1,85 (1,15 – 3,5)
Алкогольный гепатит, n = 15	17,77 (12,41 – 22,44)* <sup>#</sup>	37,08 (29,45 – 41,48)*	78,0 (76,05 – 78,23)* <sup>#</sup>	10,42 (7,0 – 17,38) <sup>#</sup>	8,02 (5,02 – 15,95)*	82,86 (57,51 – 97,14)*	7,5 (5,06 – 7,6)*
Алкогольный гепатит + куркума, n = 20	10,65 (8,14 – 12,4)*	33,81 (23,53 – 37,31)*	65,0 (52,15 – 65,1)*	16,24 (11,87 – 27,93)	12,01 (7,12 – 21,53)*	72,4 (58,97 – 87,08)*	4,54 (1,08 – 7,6)
<b>В гомогенезате печени</b>							
Контроль, n = 10	5,96 (5,02 – 6,6)	6,44 (5,55 – 6,56)	25,46 (24,76 – 25,89)	26,04 (23,32 – 27,28)	4,28 (4,16 – 4,88)	18,64 (14,09 – 29,07)	1,13 (0,91 – 1,77)
Алкогольный гепатит, n = 15	10,8 (9,12 – 11,14)*	14,89 (13,3 – 18,22)*	32,5 (30,21 – 36,29)* <sup>#</sup>	31,11 (25,44 – 35,06)	5,57 (3,11 – 5,85) <sup>#</sup>	16,69 (15,3 – 17,9)* <sup>#</sup>	3,6 (3,39 – 4,36)* <sup>#</sup>
Алкогольный гепатит + куркума, n = 20	12,1 (6,24 – 14,92)	14,97 (6,88 – 17,28)*	42,59 (41,29 – 43,46)*	22,03 (17,52 – 30,8)	13,51 (8,99 – 15,66)*	58,02 (49,98 – 64,23)*	0,89 (0,51 – 1,45)

**Примечание.** АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; ЩФ — щелочная фосфатаза; ОБ — билирубин общий; КБ — билирубин конъюгированный; NO — оксид азота; \* — достоверность различия с контролем по Манну — Уитни ( $p < 0,05$ ); <sup>#</sup> — достоверность различия с группой, получавшей в пищу масляный экстракт куркумы по Манну — Уитни ( $p < 0,05$ ).

с утверждением о том, что возврат уровней трансаминаз к нормальным уровням напрямую связан с “выздоровлением” паренхимы печени и регенерацией гепатоцитов [10].

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о наличии у масляного экстракта куркумы миело- и гепатопротекторного действия, что можно использовать у больных, получающих циклофосфан, а также при алкогольном повреждении печени.

## ВЫВОДЫ

1. Масляный экстракт куркумы снижает токсическое действие циклофосфана и этанола на гемопоэз.
2. Масляный экстракт куркумы уменьшает альтерацию тканей печени у мышей с алкогольным гепатитом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. А. Гольдина, К. В. Гайдунь, *Вестн. НГУ. Сер.: Биология, клиническая медицина*, **13**(1), 106 – 114 (2015).
2. М. И. Мусатов, К. В. Гайдунь, *Вестн. НГУ. Сер.: Биология, клиническая медицина*, **12**(3), 49 – 52 (2014).
3. W. Bao, K. Li, S. Rong, et al., *J. Ethnopharmacol.*, **128**, 549 – 553 (2010).
4. S. Devaraj, S. Ismail, S. Ramanathan, M. F. Yam, *Sci. World J.*, (2014); <http://dx.doi.org/10.1155/2014/353128>.

5. Y. Han, Q. Xu, J. N. Hu, et al., *Nutrients*, **7**, 682 – 696 (2015).
6. W. Y. Ho, S. K. Yeap, C. L. Ho, et al., *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (2012); doi:10.1155/2012/417953.
7. See comment in PubMed Commons below V. Kant, A. Gopal, N. N. Pathak, et al., *Int. Immunopharmacol.*, **20**, 322 – 330 (2014).
8. S. W. Kim, K. C. Ha, E. K. Choi, et al., *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **13**, 58 (2013); <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/58>.
9. K. Kitani, T. Osawa, T. Yokozawa, *Biogerontology*, **8**, 567 – 573 (2007).
10. A. A. Noorani, M. K. Kale, *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, **6**, 125 – 130 (2012).
11. S. Rong, Y. Zhao, W. Bao, et al., *Phytomedicine*, **19**, 545 – 550 (2012).
12. U. Singh, A. Barik, B. G. Singh, K. I. Priyadarsini, *Free Radical Res.*, **45**, 317 – 325 (2011).
13. M. M. Soliman, M. A. Nassan, T. A. Ismail, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, 457 (2014); <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/14/457>.
14. H. M. Yusof, N. M. Ali, S. K. Yeap, et al., *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (2013); <http://dx.doi.org/10.1155/2013/274274>.
15. W. Zhang, R. Hong, T. Tian, *Biomol. Ther.*, **21**, 264 – 269 (2013).

Поступила 11.01.16

## PROTECTIVE ACTION OF TURMERIC IN ALCOHOLIC HEPATITIS AND MYELOSUPPRESSION

A. P. Lykov<sup>1</sup>, G. Yu. Lubimov<sup>2</sup>, K. V. Gaidul<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, 1, ul. Timakova 2, Novosibirsk, 630060 Russia

<sup>2</sup> Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Yadrintsevskaya ul. 14, Novosibirsk, 630090 Russia

Effects of the oil extract of turmeric was studied in mice with myelosuppression induced by the introduction of cyclophosphamide and alcohol-induced liver damage. The protective action of turmeric oil extract of was manifested by the preservation of white blood cells and splenocytes after the administration of cyclophosphamide and by the reduced liver damage confirmed by reduced levels of transaminases, alkaline phosphatase, bilirubin, and nitric oxide in blood serum and liver homogenates.

**Keywords:** turmeric; oil extract; alcoholic hepatitis; cyclophosphamide; myelosuppression; transaminases; alkaline phosphatase; total bilirubin; conjugated bilirubin; nitrogen oxide.