

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-133-140

УДК 615.038

Эффективность локального применения экстракта куркумы при экспериментальной болезни Крона

Осиков М. В., Симонян Е. В., Бакеева А. Е.

Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего Образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, Российская Федерация, Челябинская область, г. Челябинск, улица Воровского, 64)

Effect of local use of extractum of curcumin in Crohn's disease experiment

M. V. Osikov, E. V. Simonyan, A. E. Bakeeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Russia, 454092, Chelyabinsk, Vorovskogo, 64)

Для цитирования: Осиков М. В., Симонян Е. В., Бакеева А. Е. Эффективность локального применения экстракта куркумы при экспериментальной болезни Крона. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;178(6): 133–140. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-133-140

For citation: Osikov M. V., Simonyan E. V., Bakeeva A. E. Effect of local use of extractum of curcumin in Crohn's disease experiment. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;178(6): 133–140. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-133-140

Осиков Михаил Владимирович, кафедра патологической физиологии, профессор, д.м.н., заведующий кафедрой патофизиологии

Симонян Елена Владимировна, кафедра фармации и химии фармацевтического факультета, доцент, кандидат фармацевтических наук, заведующий кафедрой химии и фармации фармацевтического факультета

Бакеева Алина Евгеньевна, кафедра фармации и химии фармацевтического факультета, лаборант кафедры фармации и химии фармацевтического факультета

Mikhail V. Osikov, department of Pathophysiology, Doctor of Medical Sciences, professor, Head of the Department of Pathophysiology

Elena V. Simonyan, department of Pharmacy and Pharmaceutical chemistry of pharmaceutical faculty, Ph.D., Head of the Department of Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Faculty

Alina E. Bakeeva, department of Pharmacy and Pharmaceutical chemistry of pharmaceutical faculty, Laboratory Assistant of the Department of Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Faculty

✉ **Corresponding author:**

Бакеева Алина Евгеньевна
Alina E. Bakeeva
a.kurenkova01@yandex.ru

Резюме

Цель исследования. Изучить эффективность применения экстракта куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиториях при экспериментальной болезни Крона (БК) на основе оценки клинической картины и показателей иммунного статуса.

Материалы и методы. Работа выполнена на 70 крысах линии Wistar. БК моделировали введением per rectum раствора тринитробензосульфоновой кислоты, ректальные суппозитории с 0,000075 мг куркумина на основе спиртового раствора экстракта корневищ с корнями куркумы длинной применяли через 12 ч в течение 7 суток, в группе сравнения применяли ректальные суппозитории с 50 мг 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК). Для оценки клинического статуса использовали шкалу Disease activity index, в крови определяли популяционный спектр лейкоцитов, CD3+ и CD45RA+ лимфоцитов, концентрацию IgG, IgM, IL-23 в сыворотке на 3, 5 и 7 сутки эксперимента.

Результаты. При БК клинические признаки заболевания прогрессируют от 3 к 7 суткам, в крови увеличивается общее количество лейкоцитов за счет моноцитов, лимфоцитов, в том числе CD3+, CD45RA+, концентрация ИЛ-23, IgM, Ig G. Локальное применение при БК экстракта куркумы уменьшает выраженность клинической симптоматики на 5 и 7 сутки, восстанавливает в крови общее количество лейкоцитов, лимфоцитов, в том числе CD3+, концентрацию IgM на 3, 5, 7 сутки, ИЛ-23 — на 5 и 7 сутки, частично восстанавливает концентрацию в сыворотке IgG на 3, 5, 7 сутки, ИЛ-23 — на 3 сутки наблюдения. Эффект при БК в составе ректальных суппозиториях экстракта куркумы сопоставим с эффектом 5-АСК на 3, 5, 7 сутки наблюдения в отношении выраженности клинической симптоматики, количества в крови лейкоцитов, лимфоцитов, CD3+, концентрации IgM и IgG; менее выражен в отношении концентрации ИЛ-23 на 3 сутки.

Заключение. Продemonстрирована клиническая и иммунологическая эффективность локального применения каждые 12 ч экстракта куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиториях при экспериментальной БК, сопоставимая с применением ректальных суппозиториях с 5-АСК.

Ключевые слова: болезнь Крона, ректальные суппозитории, экстракт куркумы длинной, IgG, IgM, IL-23

Summary

The aim was to study the effectiveness of the use of turmeric extract in the composition of the original rectal suppositories in experimental Crohn's disease (CD) based on the assessment of the clinical picture and indicators of the immune status.

Materials and methods. The work was performed on 70 rats of the Wistar line. CD was unduced by the rectal administration of a trinitrobenzenesulfonic acid solution, rectal suppositories with 0.000075 mg of curcumin based on an alcohol solution of rhizome extract with turmeric roots were used after 12 hours for 7 days, in the comparison group rectal suppositories with 50 mg of 5-aminosalicylic acid were used (5-ASA). To assess the clinical status, the Disease activity index scale was used, the population spectrum of leukocytes, CD3 + and CD45RA + lymphocytes, the concentration of IgG, IgM, IL-23 on the 3, 5 and 7 days of the experiment were determined.

Results: In CD, the clinical signs of the disease progress from 3 to 7 days, the total number of leukocytes in the blood increases due to monocytes, lymphocytes, including CD3 +, CD45RA +, the concentration of IL-23, IgM, Ig G. Local use of turmeric extract in CD reduces the severity of clinical symptoms on days 5 and 7, restores the total number of leukocytes, lymphocytes, including CD3 +, the concentration of IgM on days 3, 5, 7, and IL-23 on days 5 and 7, partially restores serum concentration of IgG on the 3-rd, 5th, 7th day, IL-23 — on the 3-rd day of observation. The effect of CD in the composition of rectal suppositories of turmeric extract is comparable to the effect of 5-ASA on the 3-rd, 5th, 7th day of observation in relation to the severity of clinical symptoms, the number of leukocytes, lymphocytes, CD3 + in the blood, the concentration of IgM and IgG; less pronounced in relation to the concentration of IL-23 on day 3.

Conclusion. The clinical and immunological efficacy of local application of turmeric extract every 12 hours as part of the original rectal suppositories in experimental CD has been demonstrated, comparable with the use of rectal suppositories with 5-ASA.

Keywords: ulcerative colitis, vitamin D3, IgG, IgM, IL-6, IL-8, rectal suppositories

Введение

Болезнь Крона (БК) – хроническое рецидивирующее заболевание желудочно-кишечного тракта неясной этиологии с трансмуральным, сегментарным (прерывистым), гранулематозным воспалением и развитием местных и системных осложнений, в патогенезе которых ключевую позицию занимают иммунопатологические реакции [1]. Согласно данным Российской ассоциации колопроктологов и ассоциации гастроэнтерологов по диагностике и лечению БК, заболеваемость БК составляет до 20,2 на 100 тыс., распространенность до 322 на 100 тыс. [2]. При БК продемонстрирована роль Th1-, Th17-, Th9-, Treg- и Th2-зависимых реакций, повышение концентрации IgA, IgM и IgG, а также иммунорегуляторных цитокинов, включая IL-1β, IL-6, IL-17, IL-23 и др., их ассоциация с эндоскопическими и клиническими индексами активности заболевания [3].

Используемые в настоящее время методы лечения при БК направлены на индукцию и поддержание ремиссии и включают производные 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), кортикостероиды, иммуносупрессанты и биологическую терапию, а также хирургические подходы [4]. Однако примерно треть пациентов не чувствительны к традиционной терапии, у многих развивается непереносимость, ни один из используемых

терапевтических подходов не может обеспечить однозначного положительного эффекта – предотвращения рецидивов и осложнений, длительной ремиссии и отсутствие побочных эффектов [5, 6]. Поиск новых лекарственных средств с повышенной терапевтической эффективностью и минимальным количеством побочных эффектов заставляет обратить внимание на эндогенные факторы регуляции гомеостаза, а также лекарственные растительные средства и БАВ, обладающие выраженными антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодулирующими и др. свойствами [7–12]. В этом отношении интерес вызывает Куркума длинная (*Curcuma longa*), основным действующим фактором ее корневищ является куркуминоидный комплекс биофлавоноидов [13]. Куркумин обладает противовоспалительными, антиоксидантными, цитопротекторными, антиапоптогенными, противоопухолевыми и др. свойствами, его эффективность продемонстрирована при ревматоидном артрите, увеите, панкреатите и др. воспалительных и иммунопатологических заболеваниях, что является предпосылкой для его применения при БК [14–16]. Однако, в большинстве случаев экстракт куркумы применялся перорально, в РФ не зарегистрированы лекарственные формы на основе куркумы для локального применения *per rectum*.

Цель данного исследования – изучить эффективность применения экстракта куркумы в составе оригинальных ректальных суппозиториев при экспериментальной БК на основе оценки клинической картины и показателей иммунного статуса.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 70 белых крысах линии Wistar массой 240–260 г в полном соответствии с Директивой Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и др. нормативными документами. Для общей анестезии использовали препарат «Золетил» (МНН: тилетамина гидрохлорид, “Virbac Sante Animale”, Франция) в дозе 20 мг/кг. Животные были разделены случайным образом на 4 группы: группа 1 (n=7) – интактный контроль; группа 2 (n=21) – животные с БК; группа 3 (n=21) – животные с БК в условиях применения ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы; группа 4 (n=21) – животные с БК в условия применения 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК). Суппозитории в группах 3 и 4 применяли каждые 12 ч в течение 7 суток. БК моделировали в соответствии с алгоритмом, описанным Morris et al. [17]: 30 мг тринитробензосульфоновой кислоты (ТНБС) (“Sigma-aldrich”, USA) растворяли в 150 мл 50% этанола, затем 0,25 мл полученного раствора вводили *per rectum* с помощью полиуретанового катетера с диаметром 2 мм на глубину 8 см. БК верифицировали по клинической картине и морфологии очага повреждения в толстой кишке. Проведен комплекс фармацевтических и фармако-технологических исследований по созданию ректальных суппозиториев с 0,000075 мг куркумина на основе 10% спиртового раствора экстракта корневищ с корнями куркумы длиной (*Curcuma*

longa L., “Diamart”, Индия) с использованием полиэтиленгликоля и др. вспомогательных веществ (тема охраноспособна). Ректальные суппозитории с 50 мг 5-АСК готовили на основе суппозиториев «Салофальк» (Германия) методом формования. Масса суппозиториев с экстрактом куркумы и 5-АСК была одинаковой – 0,3 г. Ежедневно утром проводили оценку потребления корма и воды, клинического статуса по модифицированной шкале disease activity index (DAI), адаптированной для крыс [18]. Минимальное значение DAI равно 0, максимальное – 12 (табл. 1). Количество лейкоцитов определяли на гематологическом анализаторе для ветеринарии “BC-2800Vet” (“Mindray”, Китай), лейкоцитарную формулу – в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Количество в крови лимфоцитов с фенотипом CD3+и CD45RA+ которые являются маркерами преимущественно Т- и В- лимфоцитов соответственно, определяли после выделения фракции лимфоцитов на градиенте плотности растворов фиколла (“Pharmacia”, Швеция) и верографина (“Spofa”, Чехия) с помощью проточного цитофлуориметра “Navios” (“BeckmanCoulter”, США) и крысиных моноклональных антител (“BeckmanCoulter”, США). Концентрацию в сыворотке IgM, IgG, ИЛ-23 определяли на иммуноферментном анализаторе “PersonalLAB” (Италия) с применением тест-систем для крыс фирм “ALPCO” (США) и “Bender

Критерии Criteria	Баллы Points	Описание Description
Масса тела Body weight	0	Нет потери No mass loss
	1	Снижение на 1–5% от исходной Reduction of 1–5% of the original weight
	2	Снижение на 6–10% от исходной Reduction of 6–10% of the original weight
	3	Снижение на 11–20% от исходной Reduction of 11–20% of the original weight
	4	Снижение на 21% и более от исходной Reduction of 21% and more of the original weight
Консистенция кала Consistency of the feces	0	Нормальный стул Regular solid stool
	2	Неоформленный стул Loose stool
	4	Диарея (3 и более эпизодов дефекации в сутки в течение 2 и более дней подряд) Diarrhea (3 or more episodes of defecation per day for 2 or more consecutive days)
Наличие крови в кале Presence of blood in the feces	0	Нет крови в кале No blood in the stool
	1	Позитивная бензидиновая проба в кале Positive benzidine test in feces
	2	Позитивная бензидиновая проба и визуальное определение крови в каловых массах Positive benzidine test and visual determination of blood in feces
	4	Свежая кровь на шерсти вокруг ануса и/или большое количество крови в каловых массах Fresh blood on the fur around the anus and / or a large amount of blood in the feces

Таблица 1.
Шкала определения индекса активности болезни (DAI).

Table 1.
Disease Activity Index (DAI)
Scale

Medsystems” (Австрия). Исследования проводили на 3, 5 и 7 сутки. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ “Statistica v. 6.0 for Windows”. Выборки представлены в формате «Me (Q₂₅–Q₇₅)», где Me-медиана, Q₂₅, Q₇₅ – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (U – Манна-Уитни, WW – Вальда-Вольфовитца, K – Краскела-Уоллиса). Отличия считали статистически значимыми при p≤0,05.

Результаты

При экспериментальной БК с 3 суток наблюдения фиксировались увеличение частоты дефекаций, изменение консистенции и появление крови в каловых массах, на 5 и 7 сутки к указанным признакам добавилось снижение массы тела, что нашло отражение в значимом увеличении индекса DAI на 3, 5 и 7 сутки эксперимента (табл. 2). Потеря веса в среднем составила 10%, отмечалось снижение двигательной активности животных, количество подходов к воде и пище. В динамике БК значение DAI на 7 сутки значимо превышало значения на 3 сутки (p<0,01) и 5 сутки (p<0,01). При оценке иммунного статуса выявлено, что на 3 сутки БК в крови увеличивалось общее количество лейкоцитов, количество лимфоцитов, моноцитов; на 5 сутки – общее количество лейкоцитов, количество сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов; на 7 сутки – общее количество лейкоцитов, количество лимфоцитов (табл. 3). Итак, при БК количество лейкоцитов в крови увеличивается преимущественно за счет лимфоцитов на 3, 5 и 7 сутки наблюдения, за счет моноцитов на 3 и 5 сутки эксперимента. Количество CD3+ лимфоцитов в крови значимо увеличивается на 5 и 7 сутки эксперимента, в динамике наблюдений отличий на 7 сутки по сравнению с 3 и 5 сутками и на 5 сутки по сравнению с 3 сутками не обнаружено (p>0,05). Количество в крови CD45RA+ значимо возрастает только на 7 сутки, в динамике эксперимента их количество на 7 сутки выше (p<0,01), чем на 3 и 5 сутки. В динамике БК уровень IgG в сыворотке увеличивается на 3, 5 и 7 сутки эксперимента, причем на 5 сутки выше, чем на 3 сутки (p<0,01), а на 7 сутки – ниже, чем на 3 и 5 сутки (p<0,01). Аналогичные изменения отмечены при исследовании концентрации IgM в сыворотке: повышение на 3, 5 и 7 сутки, а также на 5 сутки выше, чем на 3 сутки (p<0,01). На 3, 5 и 7 сутки наблюдения при БК концентрация ИЛ-23 в сыворотке статистически значимо увеличивается, в динамике

концентрация ИЛ-23 на 7 сутки выше, чем на 3 сутки (p<0,01) и 5 сутки (p<0,01) эксперимента. В условиях локального применения экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториях у животных с БК зафиксированы изменения клинических параметров: увеличилось потребление корма, повысилась двигательная активность крыс, они больше времени уделяли грумингу. С 3 суток наблюдения отмечен более оформленный стул и отсутствие признаков кишечного кровотечения в виде крови в каловых массах и окрашивания ануса. Указанные признаки нашли отражение в показателе оценки клинического статуса DAI: на 5 и 7 сутки он достоверно снижался, на 3 сутки значимо не отличался от контрольной группы (табл. 2). Значения DAI на 5 и 7 сутки достоверно отличались от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить о частичном восстановлении DAI при БК. На 3 сутки наблюдения значимо снижается общее количество лейкоцитов в крови за счет снижения уровня лимфоцитов и моноцитов, на 5 сутки снижение общего количества лейкоцитов обусловлено сегментоядерными нейтрофилами и лимфоцитами, на 7 сутки общее количество лейкоцитов снижается за счет лимфоцитов (табл. 3). Во все сроки наблюдения общее количество лейкоцитов не отличалось от значений в группе интактных животных, в динамике эксперимента на 5 сутки не зафиксировано значимых отличий с 3 сутками (p>0,05), а на 7 сутки – с 3 и 5 сутками эксперимента (p>0,05). Полученные результаты позволяют говорить о восстановлении представительства лейкоцитов в крови преимущественно за счет лимфоцитов. На 3, 5 и 7 сутки эксперимента в крови снижается количество CD3+, представительство CD45RA+ значимо не изменяется. Не обнаружено достоверных изменений количества CD3+ и CD45RA+ лимфоцитов на 5 сутки по сравнению с 3 сутками (p>0,05) и на 7 сутки по сравнению с 3 и 5 сутками (p>0,05). Отметим, что

Таблица 2.
Влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториях на индекс активности болезни при БК у крыс Me (Q₂₅-Q₇₅)
Примечание.
ККМ – куркума.
5-АСК – 5-аминосалициловая кислота.
Здесь и в табл. 3 * – статистически значимые (p<0,01) различия с группой 1, # – с группой 2, & – с группой 3.

Table 2.
The effect of curcumin extractum in composition of rectal suppositories on disease activity index in CD in rats Me (Q₂₅-Q₇₅)
Note.
CCM – curcuma.
5-ASA – 5-aminosalicylic acid.
Here and in table 3, * – statistically significant (p<0,01) with group 1, # – with group 2, & – with group 3. Table 2.

Показатель	Группа I Интактные (n=7)	Группа II БК 3 сутки (n=7)	Группа II БК 5 сутки (n=7)	Группа II БК 7 сутки (n=7)	Группа III БК+ККМ 3 сутки (n=7)	Группа III БК+ККМ 5 сутки (n=7)	Группа III БК+ККМ 7 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 3 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 5 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 7 сутки (n=7)	Index DAI
Индекс ДАИ	0	7,00 (3,00– 7,00) *	8,00 (6,00– 10,00) *	11,00 (11,00– 11,00) *	5,00 (5,00– 5,00) *	4,00 (4,00– 5,00) * #	4,00 (4,00– 4,00) * #	5,00 (4,00– 5,00) *	5,00 (5,00– 5,00) * #	4,00 (2,00– 4,00) * #	
	Group I Intact (n=7)	Group II CD3 rd day (n=7)	Group II CD5 th day (n=7)	Group II CD7 th day (n=7)	Group III CD+CCM 3 rd day (n=7)	Group III CD+CCM 5 th day (n=7)	Group III CD+CCM 7 th day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 3 rd day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 5 th day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 7 th day (n=7)	Indicator

Показатели	Группа I Интakтные (n=7)	Группа II БК 3 сутки (n=7)	Группа II БК 5 сутки (n=7)	Группа II БК 7 сутки (n=7)	Группа III БК+КМ 3 сутки (n=7)	Группа III БК+КМ 5 сутки (n=7)	Группа III БК+КМ 7 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 3 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 5 сутки (n=7)	Группа IV БК+5-АСК 7 сутки (n=7)	
Лейко- циты, •10 ⁹ /л	6,00 (4,00– 6,00)	7,15 (6,20– 7,70)*	8,77 (6,50– 9,90)*	8,00 (6,00– 8,00)*	5,55 (5,20– 5,70)#	5,99 (5,40– 6,60)#	5,40 (4,70– 5,80)#	5,70 (4,60– 7,10)#	6,20 (4,50– 6,40)#	6,05 (4,20– 7,60)#	Leuko- cytes, •10 ⁹ /l
ПЯН, •10 ⁹ /л	0,03 (0,00– 0,05)	0	0,09 (0,03– 0,13)	0,03 (0,00– 0,05)	0 (0–0,06)	0	0	0	0,02 (0–0,06)	0,03 (0–0,03)	Stabs, •10 ⁹ /l
СЯН, •10 ⁹ /л	1,35 (0,96– 1,47)	1,48 (1,48– 1,67)	3,13 (1,88– 3,65) *	1,35 (0,96– 1,47)	1,20 (1,07– 1,70)	1,93 (1,60– 2,30) * #	1,60 (0,89– 1,73)	1,13 (1,06– 1,17)	1,99 (1,43– 2,18) * #	1,77 (1,63– 2,69)	Segs, •10 ⁹ /l
ЛЦ, •10 ⁹ /л	3,88 (3,04– 4,25)	4,93 (3,24– 5,98) *	4,89 (1,97– 6,01) *	5,88 (5,04– 6,25) *	3,93 (3,25– 4,99) #	3,40 (1,90– 4,99) #	3,42 (3,05– 3,84) #	3,99 (2,48– 5,04) #	3,79 (2,3– 4,15) #	3,60 (3,60– 3,90) #	MLC, •10 ⁹ /l
МЦ, •10 ⁹ /л	0,24 (0,21– 0,27)	0,64 (0,51– 1,14) *	0,58 (0,29– 0,77) *	0,24 (0,21– 0,27)	0,23 (0,22– 0,37) #	0,55 (0,41– 0,84) *	0,34 (0,22– 0,37)	0,57 (0,46– 0,99) * &	0,45 (0,43– 0,50) *	0,33 (0,33– 0,41)	MNC, •10 ⁹ /l
CD3+, •10 ⁹ /л	3,38 (2,45– 4,84)	4,25 (3,64– 4,83)	4,97 (3,76– 8,15) *	4,62 (3,57– 5,67) *	3,29 (2,61– 4,31) #	3,63 (2,54– 4,71) #	3,65 (3,28– 4,21) #	3,84 (1,72– 5,16)	2,56 (1,22– 3,31) #	2,53 (0,96– 3,19) #	CD3+, •10 ⁹ /l
CD45RA+, •10 ⁹ /л	1,56 (1,49– 1,88)	1,14 (0,88– 1,74)	1,14 (1,18– 2,26)	2,18 (1,16– 3,52) *	1,39 (0,24– 2,31)	1,72 (1,57– 2,31)	1,89 (1,15– 2,82)	1,05 (0,21– 1,91)	1,81 (0,77– 2,02)	1,73 (1,39– 1,96)	CD45RA+, •10 ⁹ /l
Ig G, нг/мл	3,05 (3,02– 3,22)	17,11 (17,11– 21,17) *	26,93 (23,66– 28,07) *	11,22 (5,15– 18,46) *	7,27 (2,84– 7,88) * #	9,96 (6,94– 21,27) * #	5,26 (3,37– 8,41) * #	6,66 (6,14– 6,92) * #	9,19 (8,23– 9,54) * #	6,31 (5,61– 7,27) * #	Ig G, g/l
Ig M, нг/мл	10,89 (8,85– 11,69)	17,64 (12,71– 28,22) *	20,81 (20,11– 22,93) *	17,99 (13,96– 21,87) *	10,69 (9,11– 11,95) #	8,99 (8,01– 9,71) #	10,89 (10,43– 11,29) #	10,87 (6,61– 21,81) #	12,83 (7,06– 13,41) # &	11,22 (6,73– 11,82) #	Ig M, g/l
ИЛ-23, пг/мл	32,16 (28,95– 43,42)	75,52 (65,94– 85,24) *	71,57 (59,51– 73,18) *	86,04 (78,81– 91,67) *	40,21 (11,26– 45,84) * #	32,16 (22,52– 48,25) #	35,62 (25,66– 44,81) #	34,58 (25,73– 44,23) # &	31,01 (22,16– 43,88) #	35,84 (23,32– 49,05) #	IL-23, pg/ml
	Group I Intact (n=7)	Group II CD3 rd day (n=7)	Group II CD5 th day (n=7)	Group II CD7 th day (n=7)	Group III CD+CCM 3 rd day (n=7)	Group III CD+CCM 5 th day (n=7)	Group III CD+CCM 7 th day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 3 rd day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 5 th day (n=7)	Group IV CD+5- ASK 7 th day (n=7)	Indicators

Таблица 3.

Влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториев на показатели иммунного статуса при БК у крыс Me (Q₂₅-Q₇₅)

Примечание.

ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы, ЛЦ – лимфоциты, МЦ – моноциты.

Table 3.

The effect of curcumin extractum in composition of rectal suppositories on immune status in CD in rats Me (Q₂₅-Q₇₅)

Note.

Stabs – stab neutrophils, segs – segmented neutrophils, MLC – mixed lymphocyte culture, MNC – monocytes.

количество в крови CD3+ и CD45RA+ в группе крыс с БК в условиях применения экстракта куркумы не отличалось от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить о полном восстановлении их уровня. При БК в условиях применения ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы концентрация IgM в сыворотке снижается на 3, 5 и 7 сутки наблюдения, в динамике концентрация IgM на 5 сутки меньше, чем на 3 сутки ($p<0,01$), на 7 сутки выше, чем на 5 сутки ($p<0,01$). Концентрация IgG в сыворотке значимо снижается на 3, 5 и 7 сутки, данный показатель на 5 сутки выше, чем на 3 сутки ($p<0,01$), на 7 сутки ниже, чем на 5 сутки ($p<0,01$). Отметим, что концентрация IgM в сыворотке во все сроки наблюдения достоверно не отличается от значений в группе интактных животных ($p>0,05$), а концентрация IgG в сыворотке на 3, 5 и 7 сутки значимо выше, чем в группе интактных ($p<0,01$). Уровень

ИЛ-23 в сыворотке снижается на 3, 5 и 7 сутки, его концентрация на 3 сутки значимо отличается, а на 5 и 7 сутки не имеет отличий с группой интактных животных, что позволяет констатировать на 3 сутки частичное, а на 5 и 7 сутки полное восстановление концентрации ИЛ-23.

На фоне применения 5-АСК выраженность клинических симптомов БК уменьшалась: на 3, 5 и 7 сутки наблюдения консистенция стула становилась более оформленной, не у всех животных, а при наличии реже и в меньшем объеме фиксировалось ректальное кровотечение, снижение массы тела либо не наблюдалось, либо было незначительным, что нашло отражение в изменении DAI (табл. 2). На 3 сутки DAI значимо не изменялся при тенденции к снижению, на 5 и 7 сутки – снижался по сравнению с группой животных с БК, но оставался выше, чем в группе интактных. В динамике БК в условиях применения

5-АСК не отмечено достоверных различий показателя DAI на 5 сутки по сравнению с 3 сутками ($p > 0,05$) и на 7 сутки по сравнению с 3 и 5 сутками ($p > 0,05$). DAI в группе животных с БК на фоне применения 5-АСК и на фоне применения экстракта куркумы не имел статистически значимых отличий на 3, 5 и 7 сутки наблюдения, что говорит о сопоставимости эффектов экстракта куркумы и 5-АСК в отношении клинических симптомов БК. В условиях применения 5-АСК на 3 сутки снижение количества лейкоцитов в крови обусловлено преимущественно лимфоцитами, на 5 сутки – сегментоядерными нейтрофилами и лимфоцитами, на 7 сутки – лимфоцитами; количество в крови CD3+ и CD45RA+ лимфоцитов значимо снижалось и полностью восстанавливалось

на 5 и 7 сутки эксперимента. Отличий по количеству в крови лейкоцитов, CD3+ и CD45RA+ лимфоцитов на 3, 5 и 7 сутки наблюдений между 3 и 4 группами животных не зафиксировано. Применение 5-АСК на 3, 5 и 7 сутки наблюдения приводит к достоверному снижению концентрации в сыворотке ИЛ-23, IgM, Ig G. При этом, концентрация в сыворотке ИЛ-23, IgM восстанавливалась полностью (значимых отличий с группой 1 не выявлено), а IgG – частично. Не обнаружено отличий между группами 3 и 4 по содержанию в сыворотке IgG на 3, 5 и 7 сутки, IgM – на 3 и 7 сутки, ИЛ-23 – на 5 и 7 сутки эксперимента. Эффект 5-АСК в отношении концентрации в сыворотке ИЛ-23 на 3 сутки БК был более выраженным, чем эффект экстракта куркумы.

Обсуждение

Полагают, что ТНБС, используемый для моделирования БК, выступает в роли гаптена и индуцирует после ректального введения преимущественно Th1-зависимый иммунный ответ против гаптен-модифицированных аутологических белков (антигенов) в стенке толстого кишечника или белков кишечной микробиоты с участием различных провоспалительных цитокинов и медиаторов, что приводит к трансмуральной инфильтрации лейкоцитами и воспалению [19, 20]. Используемый в качестве растворителя для ТНБС 50% раствор этанола вызывает дополнительное повреждение слизистой оболочки кишечника [21]. При БК механизм увеличения количества в крови лейкоцитов включает первичную реакцию тканей на повреждение ТНБС, когда в очаг первичной альтерации устремляются нейтрофилы, позднее – моноциты, которые, с одной стороны, формируют зону вторичной альтерации за счет повреждения и гибели клеток вокруг первичной, выделяя ферменты, АФК, с другой стороны – являются источником медиаторов воспаления (простагландины, лейкотриены, АФК, ИЛ-1 β , TNF- α , ИЛ-6 и др.). Провоспалительные цитокины в первые часы после повреждения вызывают демаргинацию пристеночного пула нейтрофилов, выход зрелых нейтрофилов из костного мозга. Вероятно, отсутствие увеличения количества нейтрофилов в это время обусловлено их аккумуляцией в зоне повреждения. Позднее, к 5 суткам эксперимента эффект медиаторов воспаления на миелоидный и лимфоидный ростки костного мозга в виде активации пролиферации и дифференцировки клеток проявляется увеличением количества нейтрофилов и лимфоцитов в крови. Данные изменения сохранялись и на 7 сутки за исключением нейтрофилов, что, по всей видимости, связано с преимущественной ролью лимфоцитов и моноцитов в поддержании воспаления в толстом кишечнике и других отделах ЖКТ на данном этапе БК. Увеличение в крови количества CD3+, а также CD45RA+ свидетельствует о заинтересованности при БК не только Th1- и Th17-зависимых реакций в очаге повреждения толстого кишечника, но и Th2-зависимых с участием В-клеток и плазматиков. Представление о том, что в патогенезе БК имеют значение преимущественно Th1-зависимые реакции, является архаичным и не отражающим

фактически протекающие события смешанного характера с участием Th1- и Th2-опосредованных реакций при БК. Данный факт находит подтверждение при исследовании концентрации иммуноглобулинов в сыворотке. ИЛ-23 рассматривается как связующее звено между реакциями врожденного и адаптивного иммунитета в патогенезе БК и потенциальная терапевтическая мишень, полиморфизмы генов оси ИЛ-23/Th17 характерны для больных с БК [22–24]. ИЛ-23 при БК имеет значение в дифференцировке Th0 в Th17, участвует в активации лимфоидных клеток врожденного иммунитета [25–27]. У нокаутированных по пути ИЛ-23/Th17 животных не моделируется БК, а блокада общей для ИЛ-23 и ИЛ-12 субъединицы p40 в эксперименте продемонстрировала эффективность при БК [28, 29].

Снижение в условиях применения экстракта куркумы при БК представительства лейкоцитов в крови может быть обусловлено протекторными эффектами куркуминоидного комплекса биофлавоноидов в очаге повреждения толстого кишечника, возможно, с ограничением площади и интенсивности вторичной альтерации, что приводит к меньшему образованию медиаторов воспаления, провоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов (в том числе, ИЛ-23), выделению их в кровь и воздействию на сосудистый и костно-мозговой пулы лейкоцитов, а также на пролиферацию и дифференцировку клеток миелоидного и лимфоидного рядов в костном мозге и др. органах иммунной системы. Механизм иммуотропных эффектов экстракта куркумы полностью не ясен, о прямом действии куркумина на иммунные клетки вряд ли можно говорить. Одним из ключевых механизмов действия экстракта куркумы в условиях локального применения при БК может быть его антиоксидантный эффект, широко описываемый в литературе и продемонстрированный при различной патологии в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, а также в клинических условиях, в частности, в связи с прямым действием куркумина как антиоксиданта и опосредованным за счет ограничения активности клеток-продуцентов АФК из-за ингибции NF- κ B-зависимых путей, снижения продукции провоспалительных цитокинов, метаболитов арахидоновой кислоты, матриксных металлопротеиназ [30].

Заключение

1. При экспериментальной ТНБС-индуцированной БК у крыс на 3, 5 и 7 сутки наблюдения зафиксированы клинические признаки заболевания, прогрессирующие от 3 к 7 суткам, в крови увеличивается общее количество лейкоцитов преимущественно за счет моноцитов, лимфоцитов, в том числе CD3+, CD45RA+, увеличивается концентрация в сыворотке ИЛ-23, IgM, Ig G.
2. Проведен комплекс фармацевтических и фармацевтико-технологических исследований и создана новая лекарственная форма – ректальные суппозитории на основе полиэтиленгликоля, содержащие 0,000075 мг спиртового экстракта корневищ с корнями куркумы длиной.
3. Применение при экспериментальной БК ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы приводит к уменьшению выраженности клинической симптоматики на 5 и 7 сутки наблюдения, полному восстановлению в крови общего количества лейкоцитов, лимфоцитов, в том числе CD3+, концентрации в сыворотке IgM на 3, 5, 7 сутки, ИЛ-23 – на 5 и 7 сутки, количества моноцитов в крови на 3 сутки, а также частичному восстановлению концентрации в сыворотке IgG на 3, 5, 7 сутки, ИЛ-23 – на 3 сутки наблюдения.
4. Применение 5-АСК в составе ректальных суппозиториях при экспериментальной БК приводит на 5 и 7 сутки наблюдения к снижению выраженности симптомов, на 3, 5, 7 сутки к снижению в крови и полному восстановлению общего количества лейкоцитов, количества лимфоцитов, в том числе CD3+ на 5 и 7 сутки, концентрации в сыворотке IgM и ИЛ-23 на 3, 5, 7 сутки, частичному восстановлению концентрации в сыворотке IgG на 3, 5, 7 сутки наблюдения.
5. Эффект при экспериментальной БК в составе ректальных суппозиториях экстракта куркумы сопоставим с эффектом 5-АСК на 3, 5, 7 сутки наблюдения в отношении выраженности клинической симптоматики, общего количества в крови лейкоцитов, лимфоцитов, в том числе CD3+, концентрации в сыворотке IgM и IgG; менее выражен в отношении концентрации в сыворотке ИЛ-23 на 3 сутки наблюдения.

Литература | References

1. Дуброва С. Э. Сташук Г. А. Горбачева Ю. В. Болезнь Крона тонкой кишки // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – №4(104). – С. 60–62
Dubrova S. E., Stashuk G. A., Gorbacheva J. V. Bolezn' Krona tonkoy kishki [Crohn's disease of a thin colon]. Clin Exp Gastroenterol. 2014, vol. 4, no. 104., pp. 60–62.
2. Коллектив авторов. Болезнь Крона у взрослых. Клинические рекомендации ассоциации колопроктологов России и Российской гастроэнтерологической ассоциации. – 2016. – С. 11 – 22.
Kollektiv avtorov. Crohn's disease in adults. Klinicheskie rekomendacii associacii koloproktologov Rossii i Rossijskoj gastroenterologicheskoy associacii. 2016, pp. 11–22.
3. Lin R., Chen H., Shu W. Clinical significance of soluble immunoglobulins A and G and their coated bacteria in feces of patients with inflammatory bowel disease. *J Transl Med*, 2018, vol. 16, no. 1, p. 359. doi: 10.1186/s12967-018-1723-0.
4. Eustace G.J., Melmed G. Y. Therapy for Crohn's Disease: A Review of Recent Developments. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2018, no. 20, p. 19. doi: 10.1007/s11894-018-0625-x.
5. Weishof R, El Jurdi K, Zmeter N Emerging Therapies for Inflammatory Bowel Disease. *Adv Ther.* 2018, vol. 35, no. 11, pp. 1746–1762.
6. Panés J, Salas A. Past, Present and Future of Therapeutic Interventions Targeting Leukocyte Trafficking in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 2018, no. 12 (suppl_2), pp. 633–640.
7. Ganji-Arjenaki M., Rafieian-Kopaei M. Phytotherapies in inflammatory bowel disease. *J Res Med Sci.* 2019, vol. 22, no. 24, p. 42. doi: 10.4103/jrms.JRMS_590_17
8. Осиков М. В. Роль орозомукоида в регуляции активности систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 148. – №7. – С. 27–30.
Osikov M. V. Rol' orozomukoida v regulatsii aktivnosti sistem plazmennogo proteoliza pri eksperimental'noi pochechnoi nedostatochnosti [Role of orozomukoid in regulation of activity of the system of plasma proteolysis in experimental kidney insufficiency] // B Exp Biol Med. 2009, vol. 148, no. 7, pp. 27–30.
9. Осиков М. В., Ахматов К. В., Кривохижина Л. В. Анализ гематологических эффектов эритропоэтина у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на диализе // Человек. Спорт. Медицина. – 2009. – Т. – 153. – №20. – С.79–82.
Osikov M. V., Akhmatov K. V., Krivokhizhina L. V., Akhmatov V. J. Analiz gematologicheskikh effektiv eritropoetina u bol'nykh chronicheskoi pochechnoi nedostatochnostju, nahodyaschihsya na dialize [Analysis of hematological effects of eritropoetin in patients with chronic kidney disease on dialysis] // Human. Sport. Medicine. 2009, vol. 153, no. 20, pp. 79–82.
10. Осиков М. В. Влияние эритропоэтина на процесс свободно-радикального окисления и экспрессию гликопротеинов в тромбоцитах при хронической почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157. – №1. – С. 30–33.
Osikov M. V. Vliyanie eritropoetina na process svobodno-radikal'nogo okisleniya i ekspressiju glikoproteinov v trombotsitah pri hronicheskoi pochechnoi nedostatochnosti [The effect of eritropoetinum on processes of free radical oxidation and glycoprotein expression in thrombocytes in chronic kidney insufficiency] // B Exp Biol Med. 2014, vol. 157, no. 1, pp. 30–33.
11. Осиков М. В., Телешева Л. Ф., Агеев Ю. И. Влияние эритропоэтина на апоптоз лимфоцитов при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159. – №3. – С. 326–328.
Osikov M. V., Telesheva L. F., Ageev J. I. Vliyanie eritropoetina na apoptoz limfotsitov pri eksperimental'noi chrnoicheskoi pochechnoi nedostatochnosti [The effect

- of eritropoietinum on apoptosis of lymphocytes in experimental chronic kidney insufficiency] // *B Exp Biol Med*. 2015, vol. 159, no. 3, pp. 326–328.
12. Осиков М. В., Макаров Е. В., Кривохижина Л. В. Эффект альфа-1-кислого гликопротеина на гемостаз при экспериментальном септическом перитоните // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2007. Е. – 144. – №2. – С. 178–180.
Osikov M. V., Makarov E. V., Krivokhizhina L. V. Effects of α 1-acid glycoprotein on hemostasis in experimental septic peritonitis // *B Exp Biol Med*. 2007, vol. 144, no. 2, pp. 178–180.
 13. Gupta S., Patchva S, Aggarwal B. Discovery of curcumin, a component of the golden spice, and its miraculous biological activities // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2012, vol. 39, no. 3, pp. 283–299.
 14. Epstein J., Sanderson I. R., Macdonald T. T. Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies // *The British Journal of Nutrition*. 2010, vol. 103, no. 11, pp. 1545–1557.
 15. He Y., Yue Y., Zheng X., Zhang K., Chen S., Du Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? // *Molecules*. 2015, vol. 20, no. 5, pp. 9183–9213.
 16. Jurenka J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*, a review of pre-clinical and clinical research // *Altern. Med. Rev*. 2009, no. 14, pp. 141–153.
 17. Morris G.P., Beck P. L., Herridge M. S. Szewczuk M. R., Wallace J. L. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon // *Gastroenterology*. 1989, no. 3, pp. 795–803.
 18. Cooper, H.S., Murthy, S.N., Shah, R.S., Sedergran D. J. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis // *Lab. Invest*. 1993, vol. 69, no. 2, pp. 238–49.
 19. Bramhall M., Florez-Vargas O., Stevens R. Quality of methods reporting in animal models of colitis // *Inflamm Bowel Dis*. 2015, vol. 21, no. 6, pp. 1248–1259
 20. Randhawa P., Singh K., Singh N., Jaggi A. A review on chemical – induced inflammatory bowel disease models in rodents // *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014, vol. 18, no. 4, pp. 279–288.
 21. Ikeda M., Takeshima F., Isomoto H. Simvastatin attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, but not oxazolone-induced colitis // *Dig Dis Sci*. 2008, vol. 53, no. 7, pp. 1869–1875.
 22. Bo L., Fu H., Yang J. Comprehensive analysis of gene expression profiles provides insight into the pathogenesis of Crohn's disease // *Mol Med Rep*. 2018, vol. 18, no.3, pp. 2643–2650.
 23. Plavec T., Kuchař M., Benko A. Engineered *Lactococcus lactis* Secreting IL-23 Receptor-Targeted REX Protein Blockers for Modulation of IL-23/Th17-Mediated Inflammation // *Microorganisms*. 2019, vol. 7, no. 5, p. 152.
 24. Borecki K., Zawada I., Nurset S., Karakiewicz B., Adler G. Relationship between the IL23R SNPs and Crohn's Disease Susceptibility and Phenotype in the Polish and Bosnian Populations: A Case-Control Study // *Int J Environ Res Public Health*. 2019, vol. 16, no. 9, p. 1551.
 25. Aggeletopoulou I, Assimakopoulos SF, Konstantakis C, Triantos C. Interleukin 12/interleukin 23 pathway: Biological basis and therapeutic effect in patients with Crohn's disease // *World J Gastroenterol*. 2018, vol. 24, no. 36, pp. 4093–4103.
 26. Sedda S., Bevivino G., Monteleone G. Targeting IL-23 in Crohn's disease // *Expert Rev Clin Immunol*. 2018, vol. 14, no. 11, pp. 907–913.
 27. Neurath MF. IL-23 in inflammatory bowel diseases and colon cancer. // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2019, no. 5, pp. 1–8.
 28. Quezada SM, McLean LP, Cross RK. Adverse events in IBD therapy: the 2018 update // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018, vol. 12, no. 12, pp. 1183–1191.
 29. Ma C, Panaccione R, Khanna R, Feagan BG, Jairath V. IL12/23 or selective IL23 inhibition for the management of moderate-to-severe Crohn's disease? // *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2019, vol. 38, no. 39, p. 101. doi: 10.1016/j.bpg.2019.02.006.
 30. Gupta S, Patchva S, Aggarwal B. Therapeutic roles of curcumin: lesson learned from clinical trials // *AAPS J*. 2013, vol. 15, no. 1, pp. 195–218.