

УДК 615.038

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

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ КРОНА В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОГО  
ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТА КОРНЕВИЩ КУРКУМЫ ДЛИННОЙ**  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск,  
Российская Федерация

*M.V. Osikov, E.V. Simonian, A.Ye. Bakeeva*

**CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL  
CROHN'S DISEASE IN CONDITIONS OF TREATMENT BY CURCUMA LONG  
EXTRACT**

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Резюме.** В патогенезе болезни Крона (БК) ведущее значение имеют иммунные механизмы, в том числе увеличение количества и активация нейтрофилов, повреждающих стенку желудочно-кишечного тракта. Примерно треть пациентов, страдающих БК, нечувствительны к традиционной терапии, у многих развивается непереносимость, серьезные побочные эффекты. **Цель работы** — исследовать влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиторий оригинального состава на клинический статус и показатели врожденного иммунитета в крови при экспериментальной БК — реализована на 35 белых крысах линии Wistar. **Материалы и методы.** БК моделировали путем ректального введения тринитробензосульфоновой кислоты, ректальные суппозитории с 10% экстрактом куркумы длинной (*Curcuma longa* L.) оригинального состава (тема охраноспособна) применяли каждые 12 часов. **Результаты.** Установлено, что при БК клинические признаки заболевания прогрессируют от 5 к 7 суткам наблюдения, в крови увеличивается количество лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, повышается поглотительная и НСТ-редуцирующая активность нейтрофилов, увеличивается концентрация ИЛ-23 в сыворотке. Применение при БК ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы приводит к снижению в крови количества лейкоцитов преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, снижению поглотительной и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов крови, снижению концентрации ИЛ-23 в сыворотке.

**Abstract.** In pathogenesis of Crohn's disease (CD), immune mechanisms are of leading importance, including an increasing number and activation of neutrophils that damage the wall of the gastrointestinal tract. About a third of patients with CD are not sensitive to traditional therapy, develop intolerance and serious side effects. **The aim of the study** was to evaluate the effect of turmeric extract in rectal suppositories of the original composition on the clinical status and indicators of innate immunity in the blood in experimental CD. The experiment was performed on 35 white Wistar rats. **Materials and methods.** CD was modeled by rectal administration of trinitrobenzene sulfonic acid. Rectal suppositories with 10% turmeric extract (*Curcuma longa* L.) of the original composition (subject to protection) were used every 12 hours. **Results.** It was established that clinical signs of the disease progress from 5 to 7 days of occurrence, the number of lymphocytes, monocytes, neutrophils in the blood, the absorption and HCT-reducing activity of neutrophils and the concentration of IL-23 in serum increases. The use of rectal suppositories with turmeric extract in CD leads to a decrease in the number of leukocytes in the blood mainly due to segmented neutrophils and lymphocytes, decrease in the absorption and HCT-reducing ability of blood neutrophils, and concentration of IL-23 in serum.

**Ключевые слова:** болезнь Крона, суппозитории, куркума

**Keywords:** Crohn's disease, suppositories, curcuma

Конфликт интересов отсутствует.  
Контактная информация автора, ответственного за переписку:  
Бакеева Алина Евгеньевна  
a.kurenkova01@yandex.ru  
Дата поступления 10.12.2020 г.

There is no conflict of interest.  
Contact details of the corresponding author:  
Alina Ye. Bakeeva  
a.kurenkova01@yandex.ru  
Received 10.12.2020

## Образец цитирования:

Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е. Клинико-иммунологическая характеристика экспериментальной болезни Крона в условиях локального применения экстракта корневищ куркумы длинной. Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №1, с. 60–71, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-60-71

## For citation:

Osikov M.V., Simonian E.V., Bakeeva A.Ye. Clinical and immunological characteristics of experimental crohn's disease in conditions of treatment by curcuma long extract. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki.=Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 1, pp. 60–71. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-60-71 (In Russ)

Болезнь Крона (БК) — хроническое воспалительное заболевание с сегментарным поражением различных отделов желудочно-кишечного тракта и преимущественной локализацией в терминальном отделе подвздошной и проксимальной части ободочной кишки [1]. БК представляет актуальную проблему современной гастроэнтерологии в связи с увеличением ее частоты, распространенности, тяжестью осложнений и сложностями терапии. Согласно данным Российской ассоциации колопроктологов и ассоциации гастроэнтерологов по диагностике и лечению БК, заболеваемость БК в Российской Федерации составляет от 0,3 до 20,2 на 100 тыс. населения, в то время как распространенность достигает 322 на 100 тыс. Распространенность БК выше в северных широтах и западной части РФ, ниже в азиатской части страны, однако в последние годы эта грань стирается [2]. В патогенезе поражения слизистой оболочки толстого кишечника при БК ведущее значение имеют активация нейтрофилов, моноцитов/макрофагов при участии IL-23, TNF-альфа и др. факторов врожденного иммунитета и иммунорегуляции [3, 4]. Известные терапевтические подходы при БК направлены на индукцию и поддержание ремиссии и включают применение производных 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), кортикостероидов, иммуносупрессантов, биологическую терапию, в частности, применение моноклональных антител против TNF-альфа, а также хирургические подходы. При этом, примерно треть пациентов, страдающих БК, нечувствительны к традиционной терапии, у многих из них в ходе лечения развивается непереносимость, а также ряд серьезных побочных эффектов, таких как лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, гиперчувствительность и др. Таким образом, поиск, разработка и обоснование применения новых терапевтических подходов, в том числе эффективных лекарственных препаратов с минимальным количеством побочных эффектов при БК является актуальной задачей. В данном отношении особый интерес представляет куркума длинная (лат. *Curcuma longa*), которая используется в медицине в виде корневищ. Основным действующим началом корневищ куркумы является куркуминоидный комплекс, одним из компонентов которого является куркумин, обладающий антиоксидантными, цитопротекторными, противовоспалительными свойствами [5]. В последние годы интенсивно изучаются особенности фармакокинетики куркумина, продемонстрирована его эффективность и безопасность

Crohn's disease (CD) is a chronic inflammatory disease with segmental lesions of various parts of the gastrointestinal tract and localization in the terminal ileum and proximal part of the colon [1]. CD presents an urgent problem of modern gastroenterology in connection with an increase in its frequency, prevalence, severity of complications, and complexities of therapy. According to the Russian Association of Coloproctologists and the Association of Gastroenterologists for Diagnosis and Treatment of CD, the incidence of CD in the Russian Federation is from 0.3 to 20.2 per 100 thousand people, while the prevalence reaches 322 per 100 thousand. The prevalence of CD is higher in the northern latitudes and the western part of the Russian Federation, lower in the Asian part of the country, however, in recent years, this line has been erased [2]. In the pathogenesis of damage to the mucous membrane of the large intestine in CD, the activation of neutrophils, monocytes/macrophages with the participation of IL-23, TNF-alpha, and other factors of innate immunity and immunoregulation are of leading importance [3, 4]. Known therapeutic approaches in CD are aimed at inducing and maintaining remission and include the use of 5-aminosalicylic acid derivatives (5-ASA), corticosteroids, immunosuppressants, biological therapy, in particular, the use of monoclonal antibodies against TNF-alpha, as well as surgical approaches. At the same time, about a third of patients with CD are not sensitive to traditional therapy, many of them develop intolerance during treatment, as well as a number of serious side effects, such as leukopenia, agranulocytosis, thrombocytopenia, hypersensitivity, etc. Thus, the search, the development and justification of the use of new therapeutic approaches, including effective drugs with a minimum of side effects in CD, is an urgent task. In this regard, of particular interest is turmeric long (lat. *Curcuma longa*), which is used in medicine in the form of rhizomes. The main active principle of rhizomes of turmeric is the curcuminoid complex, one of the components of which is curcumin, which has antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory properties [5]. In recent years, the pharmacokinetics of curcumin have been intensively studied, its effectiveness and safety have been demonstrated in relation to a number of human diseases, in particular diseases of the cardiovascular system, musculoskeletal system, diabetes and many others. Data on the ability of curcumin to modulate various signaling pathways were obtained: cyclooxygenase-2 (COX-2) activity, production of pro-inflammatory cytokines, C-reactive protein (CRP),

в отношении ряда заболеваний человека, в частности, заболеваний сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата, диабета и многих других. Получены данные о способности куркумина модулировать различные сигнальные пути: активность циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), продукцию провоспалительных цитокинов, С-реактивного белка (СРБ), простагландина E2, креатинина и др. [3].

**Цель работы** — исследовать влияние экстракта куркумы в составе ректальных суппозиторий оригинального состава на клинический статус и показатели врожденного иммунитета в крови при экспериментальной БК.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 35 белых крысах линии Wistar массой 240-260 г. в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986, Страсбург), Рекомендациями Европейской Комиссии 2007/526/ЕС от 18 июня 2007 года, Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Случайным образом были сформированы 3 группы крыс: I (n=7) — интактный контроль; II (n=14) — животные с БК; III (n=14) — животные с БК в условиях применения ректальных суппозиторий с куркумином. БК моделировали в соответствии с алгоритмом, описанным Morris G.P. et al. [6]: 30 мг сухой тринитробензосульфоновой кислоты (ТНБС) («Sigma-aldrich», USA) растворяли в 150 мл 50% этанола, после чего ректально вводили 0,25 мл полученного раствора ТНБС с помощью медицинского полиуретанового катетера с внешним диаметром, равным 2 мм, на глубину 8 см [7]. Животные были лишены корма за 24 часа до начала исследования, для общей анестезии был использован препарат «Золетил-100» («Zoletil», «Virbac SanteAnimale», Франция) в дозе 20 мг/кг. Развитие БК верифицировали по клинической картине и морфологии очага повреждения в толстом кишечнике. Ректальные суппозитории для крыс, массой 0,3 г, содержащие 10% экстракт куркумы длинной (*Curcuma longa* L., Диамарт, Индия) оригинального состава (тема охраноспособна, подана заявка на изобретение) готовили на основе смеси полиэтиленгликолей различной молекулярной массы («Sigma aldrich», Германия) с использованием комплекса фармакотехнологических исследований, и применяли каждые 12 часов с момента индукции БК. Исследования проводили на 5 и 7 сутки от индукции БК, когда были наиболее выражены клинические и морфологические проявления. Для оценки клинического статуса при БК использовали индекс активности болезни DAI (disease activity index) в соответствии со шкалой, разработанной Cooper H.S. et al. [8], адаптированной для оценки исследуемой патологии у

prostaglandin E2, creatinine, etc. [3]. Aim of work. The purpose of the work is to study the effect of turmeric extract in the composition of rectal suppositories of the original composition on the clinical status and indicators of innate immunity in the blood in experimental CD.

### Materials and methods

The work was carried out on 35 white Wistar rats weighing 240-260 g in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experiments or other scientific purposes (ETS No. 123 of 03/18/1986, Strasbourg), European Commission Recommendations 2007/526 / EC of 18 June 2007, Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 3 groups of rats were randomly formed: I (n=7) — intact control; II (n=14) — animals with CD; III (n=14) — animals with CD in the context of the use of rectal suppositories with curcumin. BC was modeled according to the algorithm described by Morris G.P. et al. [6]: 30 mg of dry trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) (Sigma-aldrich, USA) was dissolved in 150 ml of 50% ethanol, after which 0.25 ml of the obtained TNBS solution was rectally injected using a medical polyurethane catheter with an external diameter equal to 2 mm, to a depth of 8 cm [7]. The animals were deprived of food 24 hours before the start of the study; the drug Zoletil-100 (Zoletil, Virbac SanteAnimale, France) was used for general anesthesia at a dose of 20 mg / kg. The development of CD was verified by the clinical picture and morphology of the lesion in the large intestine. Rectal suppositories for rats weighing 0.3 g, containing 10% turmeric extract with a long mass (*Curcuma longa* L., Diamart, India) of the original composition (subject to protection, patent application filed) was prepared on the basis of a mixture of polyethylene glycols of various molecular weights («Sigma aldrich», Germany) using a complex of pharmacotechnological studies, and was used every 12 hours from the time of induction of CD. Studies were carried out on days 5 and 7 from the induction of CD, when the clinical and morphological manifestations were most pronounced. To assess the clinical status in CD, the disease activity index (DAI) was used in accordance with the scale developed by Cooper H.S. et al. [8], adapted to evaluate the studied pathology in rats. Evaluation was performed for each rat daily, based on three parameters: weight loss, stool consistency, and rectal bleeding. Each parameter was evaluated on a 4-point scale from 0 to 4, scores were summarized, the minimum value of the index was 0, and the maximum was 12. The term “loose stools” refers to unformed feces with a paste consistency, the term “diarrhea” means the absence of a formed stool with frequency of bowel movements more than 3 times a day. Rectal bleeding was defined as the presence of fresh blood on the hair around the anus and in the stool, and occult blood in the stool was determined using a benzidine test. The serum concentration of IL-23 was determined using

крыс. Оценка проводилась для каждой крысы ежедневно, исходя из трех параметров: потеря веса, консистенция стула и ректальное кровотечение. Каждый параметр оценивали по 4-х бальной шкале от 0 до 4, баллы суммировали, минимальное значение индекса — 0, максимальное — 12. Под термином «жидкий стул» понимали несформированные каловые массы с консистенцией пасты, термином «диарея» — отсутствие сформированного стула с частотой дефекаций более 3-х раз в сутки. Ректальное кровотечение определяли как присутствие свежей крови на шерсти вокруг ануса и в каловых массах, скрытую кровь в каловых массах определяли с помощью бензидиновой пробы.

Концентрацию в сыворотке IL-23 определяли с помощью специфических тест-систем для крыс фирмы «ELISA Kit» (Китай) на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Personal LAB» (Италия). Общий анализ крови выполняли с помощью автоматического гематологического анализатора для ветеринарии BC-2800Vet (Mindray, Китай). Подсчет лейкоцитарной формулы проводили в мазках крови, фиксированных метиловым спиртом и окрашенных азур II-эозином по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали 200 лейкоцитов с дифференциацией сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, а их количество выражали в абсолютных ( $10^9/\text{л}$ ) величинах. Оценку фагоцитоза проводили путем смешивания 200 мкл нейтрофилов с 20 мкл взвеси частиц монодисперсного (с диаметром 1,7 мкм) полистерольного латекса. После инкубации при температуре  $37^\circ\text{C}$  из суспензии готовили препараты, которые высушивали, фиксировали метанолом и окрашивали азур II-эозином по Романовскому-Гимзе. С помощью иммерсионной микроскопии учитывали активность фагоцитоза — % клеток, захвативших хотя бы одну частицу латекса, интенсивность фагоцитоза — число поглощенных микросфер латекса в 100 подсчитанных клетках и фагоцитарное число — число поглощенных микросфер латекса на один фагоцит. Результат выражали в %.

Исследование кислородзависимого метаболизма нейтрофилов периферической крови проводили, учитывая интенсивность восстановления нейтрофилами нитросинего тетразолия (НСТ) в его нерастворимую форму — диформазан по методу А.Н. Маянского и М.Е. Вискмана (1979). Проводили спонтанный и индуцированный НСТ-тест [9]. Результат выражали в %. Данные обрабатывали с помощью пакета программ «Statistica 10.0 for Windows». Характеристика выборок представлена в формате «Me ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ )», где Me — медиана,  $Q_{25}$ ,  $Q_{75}$  — значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Краскела – Уоллиса, Манна – Уитни, Вальда – Вольфовитца). Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

specific test systems for rats from ELISA Kit (China) using the Personal LAB automated enzyme-linked immunosorbent analyzer (Italy). Complete blood count was performed using an automatic hematology analyzer for veterinary medicine BC-2800Vet (Mindray, China). The leukocyte formula was calculated in blood smears fixed with methyl alcohol and stained with azure II-eosin according to Romanovsky-Giemsa. 200 leukocytes with differentiation of segmented and stab neutrophils, lymphocytes, monocytes were counted, and their number was expressed in absolute ( $10^9/\text{L}$ ) values. Phagocytosis was assessed by mixing 200  $\mu\text{l}$  of neutrophils with 20  $\mu\text{l}$  of a suspension of monodisperse particles (with a diameter of 1.7  $\mu\text{m}$ ) of polystyrene latex. After incubation at a temperature of  $37^\circ\text{C}$ , preparations were prepared from the suspension, which were dried, fixed with methanol, and stained with azure II — eosin according to Romanowski-Giemsa. Using immersion microscopy, phagocytosis activity was taken into account — % of cells that captured at least one latex particle, phagocytosis intensity — the number of latex microspheres absorbed in 100 counted cells, and phagocytic number — the number of latex microspheres absorbed per phagocyte. The result was expressed in %. A study of the oxygen-dependent metabolism of peripheral blood neutrophils was carried out, taking into account the intensity of neutrophil recovery of nitro blue tetrazolium (HCT) into its insoluble form — diformazan according to the method of A.N. Mayansky and M.E. Wicksman (1979). Spontaneous and induced HCT tests were performed [9]. The result was expressed in %. The data was processed using the software package “Statistica 10.0 for Windows”. The characteristics of the samples are presented in the format “Me ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ )”, where Me is the median,  $Q_{25}$ ,  $Q_{75}$  are the values of the lower and upper quartiles, respectively. The statistical hypotheses in the groups were tested using nonparametric criteria (Kruskel – Wallis, Mann – Whitney, Wald – Wolfowitz). Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## Results and discussion

In experimental CD, on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> day of observation, the frequency of bowel movements increased, the stool consistency changed, blood appeared in feces, and body weight decreased, which was reflected in a statistically significant increase in the DAI index on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days of the experiment (table 1).

Weight loss averaged 10%, it is believed that it is due to both diarrhea and a systemic inflammatory response, in particular the anorexigenic effect of some pro-inflammatory cytokines [10]. In addition, there was a decrease in motor activity of animals. The dose of TNBS was chosen so that animal mortality was minimal or absent. In our experiments, animal mortality within 7 days of CD was absent. In the dynamics of CD, the DAI value on day 7 significantly exceeded the value on day 5 ( $p < 0.05$ ). So, with TNBS-induced colitis in rats, the clinical picture

### Результаты исследования и их обсуждение

При экспериментальной БК на 5 и 7 сутки наблюдения увеличивалась частота дефекаций, изменялась консистенция кала, появлялась кровь в каловых массах, снижалась масса тела, что нашло отражение в статистически значимом увеличении индекса DAI на 5 и 7 сутки эксперимента (Таблица 1).

Таблица 1

Влияние локального применения экстракта куркумы в составе ректальных суппозиторий на индекс активности болезни при экспериментальной БК (Me ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ ))

Группы животных	Группа 1 Интakтные (n=7)	Группа 2 БК		Группа 3 БК+ККМ	
		5 сутки (n=7)	7 сутки (n=7)	5 сутки (n=7)	7 сутки (n=7)
DAI, y.e.	0	8,00 (6,00-10,00) $p_{1-2}<0,01$	11,00 (11,00-11,00) $p_{1-2}<0,01$	4,00 (4,00-5,00) $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}<0,01$	4,00 (4,00-4,00) $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}<0,01$

Примечание. p — показатель значимости различий между группами.

Потеря веса в среднем составила 10%, принято считать, что она обусловлена как диареей, так и системным воспалительным ответом, в частности, анорексигенным эффектом некоторых провоспалительных цитокинов [10]. Кроме этого, отмечалось снижение двигательной активности животных. Доза ТНБС была подобрана таким образом, чтобы смертность животных была минимальной или отсутствовала. В наших экспериментах смертность животных в течение 7 суток БК отсутствовала. В динамике БК значение DAI на 7 сутки достоверно превышало значения на 5 сутки ( $p<0,05$ ). Итак, при ТНБС-индуцированном колите у крыс наблюдается клиническая картина, характерная для БК.

Результаты оценки показателей врожденного иммунитета при экспериментальной БК представлены в таблице 2. На 5 сутки в крови возрастало общее количество лейкоцитов, количество сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов; на 7 сутки увеличивалось общее количество лейкоцитов, количество лимфоцитов. Итак, при экспериментальной БК увеличивается количество лейкоцитов в крови преимущественно за счет лимфоцитов на 5 и 7 сутки наблюдения, а также за счет нейтрофилов и моноцитов на 5 сутки эксперимента. При оценке функциональной активности нейтрофилов крови выявлено, что на 5 сутки статистически значимо увеличивается активность фагоцитоза, фагоцитарное число, повышается активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста. На 7 сутки наблюдения увеличиваются показатели поглотительной способности — активность фагоцитоза, фагоцитарное число, а также показатели НСТ-редуцирующей способности — активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста, активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста. Далее нами проведена оценка концентрации ИЛ-23 в сыворотке в динамике эксперимен-

characteristic of CD is observed. The results of the assessment of indicators of innate immunity in experimental CD are presented in table 2. On the 5th day in the blood, the total number of leukocytes, the number of segmented neutrophils, lymphocytes, monocytes increased; on the 7th day, the total number of leukocytes and the number of lymphocytes increased. So, in experimental CD, the number of leukocytes in the blood increases mainly due to lymphocytes on the 5th and 7th day of observation, as well as due to neutrophils and monocytes on the 5th day of the experiment. When assessing the functional activity of blood neutrophils, it was revealed that on the 5th day, the activity of phagocytosis, phagocytic number is statistically significantly increased, the activity and intensity of the spontaneous HCT test increases. On the 7th day of observation, the absorption capacity indicators increase — phagocytosis activity, phagocytic number, as well as HCT-reducing ability indicators — the activity and intensity of the spontaneous HCT test, the activity and intensity of the induced HCT test. Next, we assessed the concentration of IL-23 in serum in the dynamics of experimental CD as one of the key cytokines in coordinating the immune response in this pathology. On the 5th and 7th day of observation, the concentration of IL-23 in serum is statistically significantly increased. In the dynamics of BC, the concentration of IL-23 is 7 days higher than 5 days ( $p<0.05$ ) of the experiment. Under conditions of local use of turmeric extract in animals with CD, changes in clinical parameters were recorded: increased feed intake, increased motor activity of rats in cells, animals spent more time on grooming. These signs were reflected in the integrated indicator for assessing the clinical status of DAI, the values of which are presented in table 1. As can be seen, on days 5 and 7 of the experiment, the DAI indicator significantly decreased. Note that, despite the decrease, the DAI values on days 5 and 7 significantly differed from the values in the group of intact animals, which allows us to speak on these observation periods only about partial restoration of DAI in CD against the background of the use of rectal suppositories with turmeric extract. In the dynamics of experimental BC, the DAI values on day 7 did not significantly differ from the values on day 5 ( $p>0.05$ ). Assessment of innate immunity in experimental CD in the context of the use of rectal suppositories with turmeric extract is presented in table 2.

Таблица 1

The effect of local application of turmeric extract in rectal suppositories on the disease activity index in experimental CD (Me ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ ))

Animal group	Group 1 Intact (n=7)	Group 2 CD		Group 3 CD+CCM	
		5 day (n=7)	7 day (n=7)	5 day (n=7)	7 day (n=7)
DAI, c.u.	0	8,00 (6,00-10,00) $p_{1-2}<0,01$	11,00 (11,00-11,00) $p_{1-2}<0,01$	4,00 (4,00-5,00) $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}<0,01$	4,00 (4,00-4,00) $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}<0,01$

Note. p — is an indicator of the significance of differences between groups.

тальной БК как одного из ключевых цитокинов координации иммунного ответа при этой патологии. На 5 и 7 сутки наблюдения концентрация ИЛ-23 в сыворотке статистически значимо увеличивается. В динамике БК концентрация ИЛ-23 на 7 сутки выше, чем на 5 сутки ( $p < 0,05$ ) эксперимента.

Таблица 2

Влияние локального применения экстракта куркумы в составе ректальных суппозиториях на показатели врожденного иммунитета при экспериментальной БК (Me ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ ))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=7)	Группа 2 БК 5 сутки (n=7)	Группа 2 БК 7 сутки (n=7)	Группа 3 БК+ККМ 5 сутки (n=7)	Группа 3 БК+ККМ 7 сутки (n=7)
Лейкоциты, *10 <sup>9</sup> /л	6,00 (4,00-6,00)	8,77 (6,50-9,90)*	8,00 (6,00-8,00)*	5,99 (5,40-6,60)#	5,40 (4,70-5,80)#
ПЯН, *10 <sup>9</sup> /л	0,03 (0,00-0,05)	0,09 (0,03-0,13)	0,03 (0,00-0,05)	0	0
СЯН, *10 <sup>9</sup> /л	1,35 (0,96-1,47)	3,13 (1,88-3,65)*	1,35 (0,96-1,47)	1,93 (1,60-2,30)*#	1,60 (0,89-1,73)
НФ, *10 <sup>9</sup> /л	1,35 (0,99-1,53)	3,20 (1,96-3,74)*	1,35 (0,99-1,53)	1,93 (1,60-2,30)*#	1,60 (0,89-1,73)
ЛЦ, *10 <sup>9</sup> /л	3,88 (3,04-4,25)	4,89 (1,97-6,01)*	5,88 (5,04-6,25)*	3,40 (1,90-4,99)#	3,42 (3,05-3,84)#
МЦ, *10 <sup>9</sup> /л	0,24 (0,21-0,27)	0,58 (0,29-0,77)*	0,24 (0,21-0,27)	0,55 (0,41-0,84)*	0,34 (0,22-0,37)
АФ, %	36,0 (32,0-40,0)	58,5 (45,0-64,0)*	43,0 (38,0-67,0)*	58,0 (45,0-64,0)*	44,5 (38,0-65,0)*
ФЧ, у.е.	1,88 (1,90-2,00)	14,15 (14,15-19,0)*	13,40 (9,60-16,10)*	4,20 (14,2-19,0)*#	9,20 (9,2-11,0)*#
НСТ-тест спонт., акт-ть, %	4,0 (4,0-5,0)	15,0 (15,0-16,0)*	8,5 (2,0-12,0)	9,0 (4,0-10,0)*#	5,5 (5,0-9,0)#
НСТ-тест спонт., инт-ть, у.е.	0,06 (0,05-0,07)	0,19 (0,19-0,20)*	0,09 (0,02-0,12)	0,10 (0,06-0,14)*#	0,05 (0,05-0,09)
НСТ-тест инд., акт-ть, %	5,0 (4,0-6,0)	8,5 (8,0-12,0)	10,0 (7,0-16,0)*	6,5 (3,0-13,0)*#	9,0 (7,0-10,0)*
НСТ-тест инд., инт-ть, у.е.	0,06 (0,06-0,06)	0,07 (0,05-0,19)	0,11 (0,07-0,16)*	0,07 (0,05-0,19)	0,09 (0,08-0,11)*
ИЛ-23, пг/мл	32,16 (28,95-43,42)	71,57 (59,51-73,18)*	86,04 (78,81-91,67)*	32,16 (22,52-48,25)#	35,62 (25,66-44,81)#

Примечание. \* — значимые ( $p < 0,01$ ) различия с группой 1, # — с группой 2; ПЯН — палочкоядерные нейтрофилы, СЯН — сегментоядерные нейтрофилы, НФ — нейтрофилы, ЭФ — эозинофилы, БФ — базофилы, ЛЦ — лимфоциты, МЦ — моноциты, АФ — активность фагоцитоза, ФЧ — фагоцитарное число.

В условиях локального применения экстракта куркумы у животных с БК зафиксированы изменения клинических параметров: увеличилось потребление корма, повысилась двигательная активность крыс в клетках, животные больше времени уделяли грумингу. Указанные признаки нашли отражение в интегральном показателе оценки клинического статуса DAI, значения которого представлены в таблице 1. Как видно, на 5 и 7 сутки эксперимента показатель DAI достоверно сни-

Table 2

The effect of local application of turmeric extract in rectal suppositories on the indicators of innate immunity in experimental CD (Me ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ ))

Indicators	Group 1 Intact (n=7)	Group 2 CD 5 day (n=7)	Group 2 CD 7 day (n=7)	Group 3 CD+CCM 5 day (n=7)	Group 3 CD+CCM 7 day (n=7)
Leukocytes, *10 <sup>9</sup> /l	6,00 (4,00-6,00)	8,77 (6,50-9,90)*	8,00 (6,00-8,00)*	5,99 (5,40-6,60)#	5,40 (4,70-5,80)#
Stabs, *10 <sup>9</sup> /l	0,03 (0,00-0,05)	0,09 (0,03-0,13)	0,03 (0,00-0,05)	0	0
Segs, *10 <sup>9</sup> /l	1,35 (0,96-1,47)	3,13 (1,88-3,65)*	1,35 (0,96-1,47)	1,93 (1,60-2,30)*#	1,60 (0,89-1,73)
ANC, *10 <sup>9</sup> /l	1,35 (0,99-1,53)	3,20 (1,96-3,74)*	1,35 (0,99-1,53)	1,93 (1,60-2,30)*#	1,60 (0,89-1,73)
LC, *10 <sup>9</sup> /l	3,88 (3,04-4,25)	4,89 (1,97-6,01)*	5,88 (5,04-6,25)*	3,40 (1,90-4,99)#	3,42 (3,05-3,84)#
MNC, *10 <sup>9</sup> /l	0,24 (0,21-0,27)	0,58 (0,29-0,77)*	0,24 (0,21-0,27)	0,55 (0,41-0,84)*	0,34 (0,22-0,37)
PA, %	36,0 (32,0-40,0)	58,5 (45,0-64,0)*	43,0 (38,0-67,0)*	58,0 (45,0-64,0)*	44,5 (38,0-65,0)*
PN, c.u.	1,88 (1,90-2,00)	14,15 (14,15-19,0)*	13,40 (9,60-16,10)*	4,20 (14,2-19,0)*#	9,20 (9,2-11,0)*#
NBT-test spont., activity, %	4,0 (4,0-5,0)	15,0 (15,0-16,0)*	8,5 (2,0-12,0)	9,0 (4,0-10,0)*#	5,5 (5,0-9,0)#
NBT-test spont., intensity, c.u.	0,06 (0,05-0,07)	0,19 (0,19-0,20)*	0,09 (0,02-0,12)	0,10 (0,06-0,14)*#	0,05 (0,05-0,09)
NBT-test ind., activity, %	5,0 (4,0-6,0)	8,5 (8,0-12,0)	10,0 (7,0-16,0)*	6,5 (3,0-13,0)*#	9,0 (7,0-10,0)*
NBT-test ind., intensity, c.u.	0,06 (0,06-0,06)	0,07 (0,05-0,19)	0,11 (0,07-0,16)*	0,07 (0,05-0,19)	0,09 (0,08-0,11)*
IL-23, pg/ml	32,16 (28,95-43,42)	71,57 (59,51-73,18)*	86,04 (78,81-91,67)*	32,16 (22,52-48,25)#	35,62 (25,66-44,81)#

Note. \* — significant ( $p < 0,01$ ) differences with group 1, # — with group 2; stabs — stab neutrophils, segs — segmented neutrophils, ANC — Absolute Neutrophil Count, EF — eosinophils, BF — basophils, MLC — mixed lymphocyte culture, MNC — monocytes, PA — phagocytic activity, PN — phagocytic number.

On the 5<sup>th</sup> day of observation, the total number of leukocytes significantly decreases due to a decrease in the number of segmented neutrophils and lymphocytes, on the 7<sup>th</sup> day of the experiment, the total number of leukocytes decreases due to lymphocytes. It should be noted that in all periods of observation the total number of leukocytes did not differ from the values in the group of intact animals, and in the dynamics of the experiment on day 7 there were no significant differences with 5 days of the experiment. The results obtained allow us to talk about restoring the representation of leukocytes in the blood mainly due to segmented neutrophils and lymphocytes. Next, the effect of the use of rectal suppositories with turmeric extract in experimental CD on the functional activity of blood neutrophils was investigated. When assessing the absorption capacity of neutrophils, it was revealed that on the 5<sup>th</sup> and

жался. Отметим, что, несмотря на снижение, значения DAI на 5 и 7 сутки достоверно отличались от значений в группе интактных животных, что позволяет говорить на данных сроках наблюдения только о частичном восстановлении DAI при БК на фоне применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы. В динамике экспериментальной БК значения DAI на 7 сутки значимо не отличаются от значений на 5 сутки ( $p > 0,05$ ).

Оценка показателей врожденного иммунитета при экспериментальной БК в условиях применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы представлена в таблице 2.

На 5 сутки наблюдения значимо снижается общее количество лейкоцитов за счет снижения числа сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, на 7 сутки эксперимента общее количество лейкоцитов снижается за счет лимфоцитов. Отметим, что во все сроки наблюдения общее количество лейкоцитов не отличалось от значений в группе интактных животных, а в динамике эксперимента на 7 сутки не зафиксировано значимых отличий с 5 сутками эксперимента. Полученные результаты позволяют говорить о восстановлении представительства лейкоцитов в крови преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. Далее исследовано влияние применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы при экспериментальной БК на функциональную активность нейтрофилов крови. При оценке поглотительной способности нейтрофилов выявлено, что на 5 и 7 сутки наблюдения снижается фагоцитарное число. При этом, во все сроки наблюдения показатели активности фагоцитоза, фагоцитарного числа были выше, чем в группе интактных животных. При оценке НСТ-редуцирующей активности нейтрофилов крови обнаружено, что на 5 сутки эксперимента снижается активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста, активность индуцированного НСТ-теста, на 7 сутки зафиксировано статистически значимое снижение только активности спонтанного НСТ-теста. Отметим, что все показатели во все сроки наблюдения, кроме активности спонтанного НСТ-теста на 7 сутки не достигали значений в группе интактных животных. Итак, результаты оценки функциональной активности нейтрофилов крови при экспериментальной БК в условиях применения ректальных суппозиториях с экстрактом куркумы позволяют говорить о снижении и частичном восстановлении поглотительной активности нейтрофилов на 5 и 7 сутки наблюдения, снижении НСТ-редуцирующей активности нейтрофилов в спонтанном режиме на 5 и 7 сутки, в индуцированном режиме — на 5 сутки наблюдения. Как видно из таблицы 2, уровень ИЛ-23 в сыворотке снижается на 5 и 7 сутки эксперимента. Причем, концентрация ИЛ-23 в сыворотке на 5 и 7 сутки не имеет отличий с группой интактных животных, что позволяет констатировать полное восстановление его концентрации в сыворотке.

7<sup>th</sup> day of observation, the phagocytic number decreases. At the same time, during all periods of observation, indicators of phagocytosis activity, phagocytic number were higher than in the group of intact animals. When assessing the NBT-reducing activity of blood neutrophils, it was found that on the 5<sup>th</sup> day of the experiment the activity and intensity of the spontaneous NBT-test decreases, the activity of the induced NBT-test, on the 7<sup>th</sup> day, a statistically significant decrease in the activity of the spontaneous NBT-test was recorded only. Note that all indicators in all observation periods, except for the activity of the spontaneous NBT test on day 7, did not reach values in the group of intact animals. Thus, the results of evaluating the functional activity of blood neutrophils in experimental CD under the conditions of using rectal suppositories with turmeric extract suggest a decrease and partial restoration of the absorption activity of neutrophils on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> day of observation, and a decrease in the NBT-reducing activity of neutrophils in spontaneous mode on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> day, in the induced mode on the 5<sup>th</sup> day of observation. As can be seen from table 2, the level of IL-23 in serum is reduced on the 5<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> day of the experiment. Moreover, the concentration of IL-23 in serum on days 5 and 7 has no differences with the group of intact animals, which allows us to state the complete restoration of its concentration in serum. Thus, the clinical picture of TNBS-induced colitis in rats is consistent with changes in CD and other researchers, which allows us to use the presented experimental model to study the pathogenesis and approbation of the effectiveness of new therapeutic approaches [10]. The clinical and morphological picture typical of CD unfolds after 48 hours from the rectal administration of TNBS and persists for 7 days [11]. It is believed that TNBS acts as a hapten and induces, after repeated exposure by rectal administration, a Th1-dependent immune response against hapten-modified autologous proteins (antigens) in the wall of the colon or microbial proteins of the intestinal microbiota with the participation of various pro-inflammatory cytokines and mediators, which leads to transmural leukocyte infiltration and inflammation [12, 13]. In addition, a 50% solution of ethyl alcohol, used as a solvent for TNBS, causes additional damage to the mucous membrane of the large intestine [14]. In the dynamics of experimental CD in the blood, the number of lymphocytes, monocytes, neutrophils increases, the absorption and NBT-reducing abilities of blood neutrophils increase. The mechanism of increasing the number of leukocytes in the blood and activating the function of blood neutrophils includes the initial tissue response to TNBS damage, when neutrophils rush to the focus of primary alteration — cells of the first line of defense, later monocytes, which, on the one hand, form the zone of secondary alteration due to damage and cell death around primary alteration, secreting enzymes, ROS, on the other hand, is a source of cellular mediators of inflammation (prostaglandins, leukotrienes, ROS, cytokines — IL-1, TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, GM-CSF et al.). The pro-inflammatory cytokines in the first hours after the

Таким образом, клиническая картина ТНБС-индуцируемого колита у крыс соответствует изменениям при БК и данным других исследователей, что позволяет применять представленную экспериментальную модель для изучения патогенеза и апробации эффективности применения новых терапевтических подходов [10]. Типичная для БК клиническая и морфологическая картина разворачивается уже через 48 ч от ректального введения ТНБС и сохраняется в течение 7 суток [11]. Полагают, что ТНБС выступает в роли гаптена и индуцирует после повторного воздействия путем ректального введения Th1-зависимый иммунный ответ против гаптен-модифицированных аутологических белков (антигенов) в стенке толстого кишечника или микробных белков кишечной микрофлоры с участием различных провоспалительных цитокинов и медиаторов, что приводит к трансмуральной инфильтрации лейкоцитами и воспалению [12, 13]. Кроме этого, используемый в качестве растворителя для ТНБС 50% раствор этилового спирта вызывает дополнительное повреждение слизистой оболочки толстого кишечника [14].

В динамике экспериментальной БК в крови увеличивается количество лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, растет поглотительная и НСТ-редуцирующая способности нейтрофилов крови. Механизм увеличения количества лейкоцитов в крови и активации функции нейтрофилов крови включает первичную реакцию тканей на повреждение ТНБС, когда в очаг первичной альтерации устремляются нейтрофилы — клетки первой линии обороны, позднее — моноциты, которые, с одной стороны, формируют зону вторичной альтерации за счет повреждения и гибели клеток вокруг первичной альтерации, выделяя ферменты, АФК, с другой стороны — являются источником клеточных медиаторов воспаления (простагландины, лейкотриены, АФК, цитокины — ИЛ-1, ТНФ-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-6, ИЛ-8, ГМ-КСФ и др.). Провоспалительные цитокины в первые часы после повреждения вызывают демаргинацию пристеночного пула нейтрофилов, выход зрелых нейтрофилов из костного мозга, а также активацию циркулирующих в крови нейтрофилов (хемотаксис, адгезия к сосудам в зоне повреждения, эмиграция в очаг повреждения, активация киллинговой способности — генерации АФК, ферментов). Это было зарегистрировано нами на 5 сутки эксперимента, когда эффект медиаторов воспаления на миелоидный и лимфоидный ростки костного мозга в виде активации пролиферации и дифференцировки клеток проявляется увеличением количества новых нейтрофилов и лимфоцитов в крови и увеличением поглотительной и НСТ-редуцирующей активности нейтрофилов крови. Данные изменения сохранялись и на 7 сутки, за исключением увеличения количества нейтрофилов крови, что, по всей видимости, связано с преимущественной ролью мононуклеарных лейкоцитов — лимфоцитов и моноцитов, на данном этапе развития БК. Как

damage cause the demarcation of the parietal pool of neutrophils, the exit of mature neutrophils from the bone marrow, as well as the activation of neutrophils circulating in the blood (chemotaxis, adhesion to vessels in the lesion area, emigration to the lesion site, activation of the killing ability — generation of ROS, enzymes) We recorded this on the 5<sup>th</sup> day of the experiment, when the effect of inflammatory mediators on myeloid and lymphoid bone marrow growths in the form of activation of cell proliferation and differentiation is manifested by an increase in the number of new neutrophils and lymphocytes in the blood and an increase in the absorption and HCT-reducing activity of blood neutrophils. These changes persisted on the 7<sup>th</sup> day with the exception of an increase in the number of blood neutrophils, which, most likely, is associated with the predominant role of mononuclear leukocytes — lymphocytes and monocytes at this stage of development of CD. As is known, the maintenance of inflammation in the large intestine and other parts of the gastrointestinal tract in CD is ensured mainly by immunopathological reactions involving, first of all, various subpopulations of lymphocytes. We also note that on the 5<sup>th</sup> day of the experiment there was no statistically significant increase in the NBT-reducing ability of blood neutrophils in the induced mode, and on the day there was no increase in the functional reserve of blood neutrophils, which may reflect both depletion of their ability to generate ROS and switching participation in tissue damage from polymorphonuclear leukocytes to mononuclear. The IL-23 / Th17 axis plays a key role in the pathogenesis of CD, and gene polymorphisms of this pathway are characteristic of patients with CD [15, 16, 17]. IL-23 in CD is of fundamental importance in the final differentiation of Th0 into Th17 after exposure to IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-21, TNF- $\alpha$ , activation of innate immune lymphoid cells (ILCs), CD8+, NK-, NKT cells. Th17-associated effector cytokines, such as IL-17A and IL-17F, IL-21, IL-22, etc. induce and support the inflammatory process in the intestinal wall due to the recruitment of neutrophils with the participation of IL-8, macrophage synthesis of pro-inflammatory mediators, secretion matrix metalloproteinases with intestinal fibroblasts [18]. The concentration of IL-23 in patients with CD increases in serum and in the intestinal wall and correlates with disease activity; in animals knocked out along the IL-23 / Th17 pathway, CD is not modeled using traditional chemical agents [19, 20]. IL-23 is also considered as a link between the reactions of innate and adaptive immunity in the pathogenesis of CD and a potential therapeutic target [21]. We believe that the changes in the indices of innate immunity in CD detected by us under local use of turmeric extract are due to the protective effects of the curcuminoid complex of bioflavonoids in the lesion of the colon, possibly with a limitation in the area and intensity of secondary alteration, which leads to less formation of inflammatory mediators (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alpha, GM-CSF, G-CSF, etc.), their release into the blood and the effects on the vascular and bone marrow pools of leukocytes, as well as on prolifera-



известно, поддержание воспаления в толстом кишечнике и других отделах ЖКТ при БК обеспечивается преимущественно иммунопатологическими реакциями с участием, прежде всего, различных субпопуляций лимфоцитов. Отметим также, что на 5 сутки эксперимента не было статистически значимого увеличения НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов крови в индуцированном режиме, а на сутки — увеличения функционального резерва нейтрофилов крови, что может отражать как истощение их способности генерировать АФК, так и переключение участия в повреждении тканей с полиморфноядерных лейкоцитов на мононуклеарные. Ось ИЛ-23/Th17 занимает ключевую роль в патогенезе БК, а полиморфизмы генов этого пути характерны для больных с БК [15, 16, 17]. ИЛ-23 при БК имеет принципиальное значение в конечной дифференцировке Th0 в Th17 после воздействия ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-21, TNF- $\alpha$ , активации лимфоидных клеток врожденного иммунитета (ILCs), CD8+, NK-, NKT-клеток. Th17-связанные эффекторные цитокины, такие как ИЛ-17A и ИЛ-17F, ИЛ-21, ИЛ-22 и др. индуцируют и поддерживают воспалительный процесс в стенке кишечника за счет рекрутирования нейтрофилов при участии ИЛ-8, синтеза макрофагами провоспалительных медиаторов, секреции матриксных металлопротеиназ фибробластами кишечника [18]. Концентрация ИЛ-23 у больных с БК повышается в сыворотке и в стенке кишечника и коррелирует с активностью заболевания, у нокаутированных по пути ИЛ-23/Th17 животных не моделируется БК с использованием традиционных химических агентов [19, 20]. ИЛ-23 также рассматривается как связующее звено между реакциями врожденного и адаптивного иммунитета в патогенезе БК и потенциальная терапевтическая мишень [21].

Полагаем, что обнаруженные нами изменения показателей врожденного иммунитета при БК в условиях локального применения экстракта куркумы 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 (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF-альфа, GM-CSF, G-CSF и др.), 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. Изменение функциональной активности нейтрофилов крови в условиях локального применения экстракта куркумы при экспериментальной БК, как и снижение количества лейкоцитов в крови, может быть обусловлено ограничением деструктивных процессов в очаге повреждения толстого кишечника, уменьшением синтеза провоспалительных медиаторов, приводящих к активации фагоцитов как в зоне повреждения, так и при поступлении в кровь и активирующих циркулирующие нейтро-

tion and differentiating cells of myeloid and lymphoid series in the bone marrow. The change in the functional activity of blood neutrophils in the conditions of local use of turmeric extract in experimental CD, as well as a decrease in the number of leukocytes in the blood, may be due to the restriction of destructive processes in the lesion of the colon, a decrease in the synthesis of pro-inflammatory mediators, leading to the activation of phagocytes both in the damage zone and upon entry into the bloodstream and activating circulating neutrophils. This assumption, to a certain extent, is confirmed by the results of a study of the concentration of IL-23 in serum, on the pro-inflammatory and immunoregulatory effects of which, as well as on the participation in the pathogenesis of CD, was noted above. The mechanism of the immunotropic effects of turmeric extract at this stage of the study is not completely clear, since the direct effect of curcumin on immune cells can hardly be said; there are no data on the presence of receptors on immunocompetent cells for curcumin in the available literature. However, a decrease in the severity of leukocyte infiltration of the lesion of the large intestine, a decrease in the activity of phagocytic cells and the production of proinflammatory factors and mediators limit the secondary alteration zone and are likely to be factors that decrease the activity of immune responses involving lymphocyte subpopulations and maintain the activity of the inflammatory process in the large intestine. One of the key mechanisms of action of turmeric extract under conditions of local application in CD can be its antioxidant effect, which is widely described in the literature and demonstrated for various pathologies in vivo and in vitro experiments, as well as in clinical conditions.

## Conclusions

1. During experimental TNBS-induced CD, clinical signs of the disease were recorded, progressing from 5 to 7 days of observation, the number of lymphocytes, monocytes, neutrophils in the blood increased, the absorption and HCT-reducing activity of neutrophils increased, and the concentration of IL-23 in serum increased.

2. The use of rectal suppositories with turmeric extract in experimental CD leads to a decrease in the number of leukocytes in the blood mainly due to segmented neutrophils and lymphocytes, a decrease in the absorption and HCT-reducing ability of blood neutrophils, and a decrease in the concentration of IL-23 in serum.

филы. Данное предположение, в определенной мере, подтверждается результатами исследования концентрации ИЛ-23 в сыворотке, о провоспалительных и иммунорегуляторных эффектах которого, а также об участии в патогенезе БК было отмечено выше. Механизм иммунотропных эффектов экстракта куркумы на данном этапе исследования полностью не ясен, поскольку о прямом действии куркумина на иммунные клетки вряд ли можно говорить, данных о наличии рецепторов на иммунокомпетентных клетках для куркумина в доступной литературе нет. Однако, снижение выраженности лейкоцитарной инфильтрации очага повреждения толстого кишечника, снижение активности фагоцитирующих клеток и продукции провоспалительных факторов и медиаторов ограничивают зону вторичной альтерации и, вероятно, являются факторами снижения активности иммунных реакций с участием субпопуляций лимфоцитов и поддержания активности воспалительного процесса в толстом кишечнике. 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.

### Выводы

1. При экспериментальной ТНБС-индуцированной БК зафиксированы клинические признаки заболевания, прогрессирующие от 5 к 7 суткам наблюдения, в крови увеличивается количество лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, повышается поглотительная и НСТ-редуцирующая активность нейтрофилов, увеличивается концентрация ИЛ-23 в сыворотке.

2. Применение при экспериментальной БК ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы приводит к снижению в крови количества лейкоцитов преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, снижению поглотительной и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов крови, снижению концентрации ИЛ-23 в сыворотке.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гончарик И.И. Болезнь Крона. Военная медицина. 2013; 1: 113-117.
2. Ивашкин В., Шелыгин Ю., Халиф И., Белоусова Е и соавт. Клинические рекомендации российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению болезни Крона; 2016: 11-22.
3. Gupta S.C., Patchva S., Aggarwal B.B. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. AAPS J. 2013; 15: 95-218.
4. Longman R.S., Diehl G.E., Victorio D.A., Huh J.R., Galan C., Miraldi E.R, Swaminath A., Bonneau R., Scherl E.J., Littman D.R. CX3CR1+ mononuclear phagocytes support colitis-associated innate lymphoid cell production of IL-

### REFERENCES

1. Goncharik I.I. Crohn's disease. Military medicine. 2013; 1: 113-117. (In Russ.)
2. Ivashkin V., Shelygin J., Khalif I., Belousova E. et al. Crohn's disease in adults. Clinical recommendations of Russian gastroenterological association and association of coloproctologists for diagnostics and treatment of Crohn's disease; 2016: 11-22. (In Russ.)
3. Gupta S.C., Patchva S., Aggarwal B.B. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. AAPS J. 2013; 15: 95-218.
4. Longman R.S., Diehl G.E., Victorio D.A., Huh J.R., Galan C., Miraldi E.R, Swaminath A., Bonneau R., Scherl E.J., Littman D.R. CX3CR1+ mononuclear phagocytes support colitis-associated innate lymphoid cell production of IL-

22. J Exp Med. 2014; 211: 1571–1583.
5. Гайдарова А., Корощенко Г., Айзман Р. Влияние куркумы и куркумина на углеводный обмен при аллоксан-индуцированном сахарном диабете у крыс. Современные проблемы науки и образования. 2014; 5: 597.
6. Morris G.P., Beck P.L., Herridge M.S., Depew W.T., Szewczuk M.R., Wallace J.L. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*. 1989; 3 (96): 795–803.
7. Wirtz S., Popp V., Jindermann M., Gerlach K., Weigmann B., Fichtner-Feigl S., Neurath M.F. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc*. 2017; 12 (7): 1295 – 1309.
8. Cooper, H.S., Murthy, S.N., Shah, R.S. et. al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab. Invest*. 1993; 69 (2): 238–249.
9. Виксман М., Маянский А. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: методически рекомендации. Казань: Казанский НИИЭМ. 1979: 11-14.
10. Antoniou E., Margonis G.A., Angelou A. et al. The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Ann Med Surg (Lond)*. 2016; 11: 9-15.
11. Cheon G., Cui Y., Yeon D., Kwon S., Park B. Mechanisms of motility change on trinitrobenzenesulfonic Acid-induced colonic inflammation in mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2012; 16: 437–446.
12. Bramhall M., Flórez-Vargas O., Stevens R., Brass A., Cruickshank S. Quality of methods reporting in animal models of colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2015; 21 (6): 1248–59.
13. Randhawa P., Singh K., Singh N., Jaggi A.. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014; 18 (4): 279–88.
14. Ikeda M., Takeshima F., Isomoto H., Shikuwa S., Mizuta Y., Ozono Y., Kohno S. Simvastatin attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, but not oxazolone-induced colitis. *Dig Dis Sci*. 2008; 53: 1869–1875.
15. 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; 18 (3): 2643–2650.
16. Plavec T., Kuchař M., Benko A., Lišková V., Černý J., Berlec A., Malý P. Engineered *Lactococcus lactis* Secreting IL-23 Receptor-Targeted REX Protein Blockers for Modulation of IL-23/Th17-Mediated Inflammation. *Microorganisms*. 2019; 7 (5): 152.
17. Borecki K., Zawada I., Salkić N., 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; 16 (9): 1551.
18. Jiang W., Su J., Zhang X., Cheng X., Zhou J., Shi R., Zhang H. Elevated levels of Th17 cells and Th17-related
22. J Exp Med. 2014; 211: 1571–1583.
5. Gajdarova A., Koroshchenko G., Aizman R. Influence of turmeric and curcumin on carbohydrate metabolism in alloxan-induced diabetic rats. *Modern problems of science and education*. 2014; 5: 597. (In Russ.)
6. Morris G.P., Beck P.L., Herridge M.S., Depew W.T., Szewczuk M.R., Wallace J.L. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*. 1989; 3 (96): 795–803.
7. Wirtz S., Popp V., Jindermann M., Gerlach K., Weigmann B., Fichtner-Feigl S., Neurath M.F. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc*. 2017; 12 (7): 1295 – 1309.
8. Cooper, H.S., Murthy, S.N., Shah, R.S. et. al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab. Invest*. 1993; 69 (2): 238–249.
9. Viksman M., Mayanskyi A. Виксман М., Маянский А. A method assessment of the functional activity of human neutrophils by the reaction of nitro blue tetrazolium reduction: methodological recommendations. *Kazan: Kazan NIEM*. 1979: 11-14. (In Russ.)
10. Antoniou E., Margonis G.A., Angelou A. et al. The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Ann Med Surg (Lond)*. 2016; 11: 9-15.
11. Cheon G., Cui Y., Yeon D., Kwon S., Park B. Mechanisms of motility change on trinitrobenzenesulfonic Acid-induced colonic inflammation in mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2012; 16: 437–446.
12. Bramhall M., Flórez-Vargas O., Stevens R., Brass A., Cruickshank S. Quality of methods reporting in animal models of colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2015; 21 (6): 1248–59.
13. Randhawa P., Singh K., Singh N., Jaggi A.. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014; 18 (4): 279–88.
14. Ikeda M., Takeshima F., Isomoto H., Shikuwa S., Mizuta Y., Ozono Y., Kohno S. Simvastatin attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, but not oxazolone-induced colitis. *Dig Dis Sci*. 2008; 53: 1869–1875.
15. 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; 18 (3): 2643–2650.
16. Plavec T., Kuchař M., Benko A., Lišková V., Černý J., Berlec A., Malý P. Engineered *Lactococcus lactis* Secreting IL-23 Receptor-Targeted REX Protein Blockers for Modulation of IL-23/Th17-Mediated Inflammation. *Microorganisms*. 2019; 7 (5): 152.
17. Borecki K., Zawada I., Salkić N., 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; 16 (9): 1551.
18. Jiang W., Su J., Zhang X., Cheng X., Zhou J., Shi R., Zhang H. Elevated levels of Th17 cells and Th17-related cytokines are associated with disease activity in patients

cytokines are associated with disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Res.* 2014; 63: 943–950.

19. Quezada S.M., McLean L.P., Cross R.K. Adverse events in IBD therapy: the 2018 update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 12 (12): 1183-1191.

20. Ma C., Panaccione R., Khanna R., Feagan B.G., Jairath V. IL12/23 or selective IL23 inhibition for the management of moderate-to-severe Crohn's disease? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2019; 38-39: 101604.

21. Catana CS, Berindan Neagoe I, Cozma V et al. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2015; 21 (19): 5823-5830.

with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Res.* 2014; 63: 943–950.

19. Quezada S.M., McLean L.P., Cross R.K. Adverse events in IBD therapy: the 2018 update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 12 (12): 1183-1191.

20. Ma C., Panaccione R., Khanna R., Feagan B.G., Jairath V. IL12/23 or selective IL23 inhibition for the management of moderate-to-severe Crohn's disease? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2019; 38-39: 101604.

21. Catana CS, Berindan Neagoe I, Cozma V et al. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2015; 21 (19): 5823-5830.

#### Авторы

Осиков Михаил Владимирович

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии  
prof.osikov@yandex.ru

Симонян Елена Владимировна

Кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармации и химии фармацевтического факультета  
elenasimonian@yandex.ru

Бакеева Алнна Евгеньевна

лаборант кафедры фармации и химии фармацевтического факультета  
a.kurenkova01@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
454092, Российская Федерация, Уральский федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

#### Authors

Mikhail V. Osikov

Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Pathological physiology  
prof.osikov@yandex.ru

Elena V. Simonyan

Cand. Sci. (Pharmaceutical), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacy and Chemistry  
elenasimonian@yandex.ru

Alina Ye. Bakeeva

Laboratory assistant of the Department of Chemistry and Pharmacy  
a.kurenkova01@yandex.ru

South-Ural State Medical University

64 Vorovsky ul. Chelyabinsk Russian Federation 454092