

## Efectul biochimic al curcuminului în hiperlipidemia indusă la șobolani

### Biochemical effect of curcumin on hyperlipidemia induced in rats

Omayma A.R.<sup>1</sup>, Ragab A.D.<sup>1</sup>, Abdel-Majeed A.<sup>1</sup>, Hassanin K.M.<sup>2</sup>, Abdelghaffar M.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamentul de Biochimie, Facultatea de Medicină Veterinară, Universitatea Benha, Egypt.

<sup>2</sup>Departamentul de Biochimie, Facultatea de Medicină Veterinară, Universitatea Beni-Suef, Egypt.

**Cuvinte cheie:** hiperlipidemie, diabet zaharat, curcumin, profilului lipidic, inflamație, interleukina-6.

**Key words:** hyperlipidemia, diabetes, curcumin, lipid profile, inflammation, Interleukin-6.

#### Rezumat

Acest studiu a fost efectuat pentru a investiga efectul suplimentării orale de curcumin, extract de usturoi și ulei de măsline asupra profilul lipidic, oxidului nitric, adiponectinei, endotelinei-1, glicemiei și asupra unor marker inflamatori la șobolani sănătoși, diabetici și cu hiperlipidemie prin completarea dietei cu un conținut ridicat de grăsimi și colesterol. Patruzeci de femele adulte de șobolani albinoși au fost împărțiți în patru grupe egale a câte 10 șobolani fiecare. Grupul (1): control negativ cu dietă normală, grupul (2): șobolani hrăniți cu dieta normală și supliment oral de curcumin, grupul (3): control pozitiv cu dieta hiperlipidemică, grupul (4): șobolani hrăniți cu dietă hiperlipidemică și supliment de curcumin (350 mg / 1 kg greutate corporală) pe cale orală. Rezultatele obținute au relevat că suplimentul de curcumin la șobolani hiperlipidemici a produs o creștere semnificativă a colesterolului HDL, oxidului nitric, adiponectinei și a concentrației de endotelina-1 și o reducere semnificativă a colesterolului total seric, triacilglicerolilor, colesterolului LDL, glucozei, hemoglobinei glicate (HbA1c) și a nivelurilor de proteina C reactiva de înaltă sensibilitate și Interleukina-6. Aceste rezultate sugerează că suplimentul de curcumin poate avea unele beneficii pentru pacienții care suferă de dislipidemie și diabet.

#### Abstract

This study was performed to investigate the effect of oral supplementation of curcumin, garlic extract and olive oil on lipid profile, nitric oxide, adiponectin, endothelin-1, blood glucose and some inflammatory markers in normal, diabetic and hyperlipidemic rats supplementing high fat and cholesterol-enriched diet. Forty female adult albino rats were divided into four equal groups of 10 rats each. Group (1): negative control received normal diet only, group (2): rats fed on normal diet and received curcumin orally, group (3): positive control received hyperlipidemic diet, group (4): rats fed on hyperlipidemic diet and received curcumin (350 mg/ 1 kg b.w.) orally. The obtained results revealed that, curcumin supplementations to hyperlipidemic rats showed a significant increase in serum HDL-cholesterol, nitric oxide, adiponectin and Endothelin-1 concentrations and significantly decrease in serum total cholesterol, triacylglycerols, LDL-cholesterol, Fasting blood glucose, Glycated Hemoglobin (HbA1C), high sensitive C-reactive protein and Interleukin-6 levels. These results suggest that, curcumin supplementations may have some benefits in patients suffering from dyslipidemia and diabetes.

#### Introducere

Hiperlipidemia este o afecțiune comună cauzată de stilul de viață în țările dezvoltate și este cauza majoră a bolilor coronariene. Ea rezultă din anomalii ale metabolismului lipidic sau al transportului plasmatic a lipidelor ori ca o tulburare în sinteza și degradarea lipoproteinelor plasmatică (Jang et al., 2008).

Consecința hiperlipidemiei poate provoca ateroscleroza, și astfel, riscul de boală coronariană și accident vascular cerebral este

crescut. Diabetul zaharat este asociat cu hiperlipidemia, care este un factor de risc semnificativ pentru bolile cardiovasculare (El-Moselhy et al., 2011).

Incidența diabetului zaharat de tip 2 este în creștere rapidă în întreaga lume. Tipul 2 de diabet zaharat (denumit anterior non-insulino-dependent) reprezintă peste 90% din cazurile diagnosticate de diabet (Pillarsetti și Saxena, 2004).

Diabetul zaharat este un factor de risc bine cunoscut pentru boala aterosclerotică și

cardiovasculară, care confera un risc semnificativ crescut de boala coronariană (CHD). Profilul lipidic modificat se caracterizează prin niveluri ridicate a acizilor grași liberi (FFA) și triacilglicerolilor, precum și o reducere a colesterolului HDL (HDL-C), împreună cu depunerea de grăsime în exces în diferite țesuturi, inclusiv ficat (Banerjee et al., 2004).

O acumulare anormală de grăsime în ficat și mușchi provoacă rezistența la insulină care culminează cu reducerea celulelor beta în diabetul de tip 2 (Seo et al., 2008).

Curcuminul a fost utilizat pe scară largă în medicina tradițională din Asia de Sud-Est. Acesta previne multe boli, inclusiv afecțiuni biliare, anorexie, tuse, diabet, tulburări hepatice, reumatism, sinuzita, cancerul, și Alzheimer (Aggarwal și Harikumar 2009).

Mai multe studii au indicat faptul că curcuminul joacă un rol benefic ca și antioxidant, anticarcinogen și agent antiinflamator (Suzuki et al, 2005; Kurup et al, 2007; Ansari et al, 2007; Kurup și Barrios , 2008).

Prin urmare, scopul acestei lucrări a fost de a investiga efectele antihiperlipidemice ale suplimentării orale de curcumin, extract de usturoi și ulei de măsline asupra unor markeri inflamatorii, a glucozei sanguine, profilul lipidic, adiponectinei și a endotelinei-1 din serul femelelor de șobolani hrăniți cu o dieta bogata in grasimi.

## Material și metodă

### Animale experimentale

40 femele adulte de șobolani albinoși de (4 - 6) săptămâni, cântărind 140 -160 g au fost utilizate în cadrul anchetei experimentale a acestui studiu.

Șobolani au provenit de la Institutul de Cercetare Oftalmologică, Giza, Egipt. Animalele au fost adăpostite în cuști de metal separate și păstrate în condiții de mediu și nutriționale constante și a permis accesul liber la dieta standard cu pelete iar apa a fost furnizată ad libitum.

**Dieta** furnizată șobolanilor a fost conformă cu NRC (1995) (Tabelul 1).

### Inducerea experimentală a diabetului

Pulberea de streptozotocină produsă de Sigma Chemical Co (USA) a fost utilizată pentru inducerea diabetului. Conform (Mrudula et al., 2007), streptozotocin este un analog al N-acetil glucozaminei care este ușor transportată în celulele beta pancreatice de către Glut2 și produce toxicitate  $\beta$ -celulară, rezultând în deficit de insulina (Mrudula et al., 2007).

**Tabelul 1.**  
Compoziția rațiilor de bază și a celor bogate în grăsimi administrate șobolanilor

Ingrediente	Nivel (%) în rația de bază	Nivel (%) în dieta bogată în grăsimi
Ulei	15.00	13.00
Porumb	44.15	44.15
Făină soia (44%)	20.51	20.51
Tărâțe de grâu	12.33	12.33
Colesterol	0.00	1.00
Ulei de cocos	0.00	2.00
Melasă	3.00	3.00
Sare	0.50	0.50
Lizină	0.18	0.18
DL-Metionină	0.74	0.74
Premix mineralo-vitaminic	2.00	1.50
Calcar furajer	1.59	1.09
<b>Total</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

Curcuminul a fost dizolvat în soluție de dimetil sulfoxid (DMSO) (7%) (Rong et al., 2012) și administrat oral în doză de (350 mg / kg greutate corporală / zi), timp de 6 săptămâni (Aggarwal et al., 2003).

Șobolani au fost împărțiți aleatoriu în 4 grupe egale, a câte 10 șobolani fiecare, plasați în cuști individuale și clasificați după cum urmează:

- **grupul 1:** control negativ cu dietă normală, grupul
- **grupul 2:** șobolani hrăniți cu dieta normala si supliment oral de curcumin, grupul
- **grupul 3:** control pozitiv cu dieta hiperlipidemica, grupul
- **grupul 4:** șobolani hrăniți cu dietă hiperlipidemică și supliment de curcumin (350 mg/kgc, pe cale orală).

**Probele de sânge** au fost colectate de la toate grupele de animale după 2, 4 și 6

săptămâni de la debutul administrării de curcumin, usturoi și ulei de măsline. Probele au fost colectate dimineața din plexul retro-orbital al ochiului.

**Serul** a fost separat prin centrifugare la 3000 rpm timp de 10 minute. Serul a fost aspirat și transferat în tuburi sterile etichetate și păstrate într-un congelator la (- 70°C) până la utilizarea pentru examenul biochimic.

- Colesterolului total (Schettler, 1975).
- Triacilglicerolii (Schettler, 1975).
- Colesterolul HDL (Gordon et al, 1977).
- Colesterolul LDL (Friedewald, 1972).
- Glucoza sanguina (Trinder, 1969).
- Proteina C reactiva de înaltă sensibilitate (Kimberly et al., 2003).
- Oxidul nitric (Montgomery și Dymock, 1961).
- Endotelina-1 (Rolinski, 1994).
- Hemoglobina glicată (Trivelli et al, 1971).
- Adiponectina (Yamauchi et al, 2002) și
- Interleukina-6 (Hirano, 1990).

Datele obținute au fost analizate statistic cu ajutorul unei analize a varianței (ANOVA) urmat de testul multiplu Duncan.

Toate analizele au fost efectuate cu ajutorul programului SPSS (pachet statistic pentru științe sociale, 1999; ver.10.0), valorile de  $p \leq 0.05$  fiind considerate semnificative.

## Rezultate și discuții

Rezultatele obținute prezentate în Tabelul 2 au arătat că hiperlipidemia și diabetul au cauzat creșterea semnificativă a colesterolului seric total, triacilglicerolilor, colesterolului LDL, glucozei, hemoglobinei glicate, proteinei C reactive de înaltă sensibilitate, interleukinei-6 și endotelinei-1 comparativ cu grupul de control normal.

Administrarea orală de curcumin, extract de usturoi și ulei de măsline cauzează o reducere semnificativă ai tuturor parametrilor comparativ cu rezultatele obținute pentru grupul de control pozitiv.

Hiperlipidemia și diabetul au indus scăderea semnificativă a concentrațiilor serice a colesterolului HDL, adiponectinei și oxidului

nitric comparativ cu rezultatele grupului de control.

Tabelul reprezintă valoarea medie a rezultatelor obținute pentru fiecare parametru pentru probele colectate după 2, 4 și 6 săptămâni de la debutul administrării de curcumin, extract usturoi și ulei de măsline

**Tabelul 2**

Efectul curcuminului asupra colesterolului seric total, trigliceridelor serice, colesterolului LDL, glucozei sanguine, hemoglobinei glicate, proteinei C reactive de înaltă sensibilitate, interleukinei 6, endotelinei-1, colesterolului HDL, adiponectinei și nivelului de oxid nitric din sânge.

Parametru investigat	Grupul			
	G1	G2	G3	G4
FBS	92.79a ±0.63	93.89ab ±0.61	77.11e ±2.25	106.68d ±1.57
Adiponectina	5.93d ±0.05	4.52b ±0.06	2.77a ±0.08	8.42f ±0.06
Proteina C reactiva de înaltă sensibilitate	0.52b ±0.02	0.46ab ±0.02	1.22d ±0.04	0.91c ±0.04
IL-6 (interleukina-6)	67.26e ±0.69	61.16cd ±0.37	83.35f ±0.54	54.17a ±0.6
NO (oxid nitric)	76.24d ±0.47	94.48e ±0.46	66.63a ±0.47	111.70g ±0.41
Colesterol	142.49c ±0.40	125.10b ±0.51	241.18g ±2.35	155.59d ±1.26
Trigliceride	99.27c ±0.38	89.94b ±0.47	199.48 ±1.55	135.27d ±1.27
HDL-C (colesterol HDL)	40.72d ±0.48	43.36e ±0.45	27.71a ±0.55	34.85c ±0.54
LDL (colesterol LDL)	130.31e ±0.71	114.12a ±0.81	195.81f ±0.80	114.07a ±1.47
Hemoglobina glicată	5.02a ±0.11	5.05a ±0.08	7.02c ±0.11	5.63b ±0.07
Endotelina-1	0.96bc ±0.04	0.87ab ±0.04	1.67d ±0.05	1.02c ±0.04

### Legenda:

E.S. : Eroare standard

a, b, c: Valori medii cu diferite litere superscript de pe același rând sunt semnificativ diferite cu ( $p \leq 0.05$ ).

Rezultatele obținute au demonstrat că suplimentul de curcumin are efecte potențiale în prevenirea hiperlipidemiei, diabetului zaharat și în cazul protecției cardiovasculare.

Interesant, rezultatele au arătat că suplimentarea de curcumin a îmbunătățit semnificativ profilul lipidic, așa cum reiese din creșterea semnificativă a nivelului colesterolului HDL și scăderea colesterolului seric total, triacilglicerolilor și a nivelului de colesterol LDL (LDL-C).

Aceste rezultate sunt aproape similare cu cele raportate de (Karthikesan et al., 2010), care a investigat efectul curcuminului asupra nivelului glucozei serice și profilul lipidic la

șobolanii hiperlipidemici prin inhibarea generării de radicali superoxizi.

Rezultatele obținute indica de asemenea faptul ca extractul de curcumin, usturoiul și uleiul de măsline au crescut nivelul seric de oxid nitric. Aceste rezultate au fost similare cu cele obținute în studiul efectuat de (Patumraj et al., 2006), care a aratat ca extractul de curcumin poate creste nivelul seric al oxidului nitric la șobolanii cu diabet zaharat.

Curcuminul ar putea crește în mod semnificativ nitroprusiatul de sodiu, vasodilatația indusă de nitroprusiatul de sodiu in diabet si ar putea spori relaxarea celulelor musculare netede atunci când este activată de oxidul nitric.

Rezultate similare în ceea ce privește nivelul adiponectinei serice au fost raportate de (Wongcharoen și Phrommintikul 2009), care au arătat că curcuminul îmbunătățește nivelul adiponectinei serice la șobolani hiperlipidemici, curcuminul inhiband caile proteinkinazei mitogen independente activate (MAPK), cai ce sunt activate de stimularea inflamatorie .

A fost confirmat faptul că curcuminul, usturoiul si uleiul de masline au efect anti-inflamator și scad nivelurile de proteină C reactivă si interleukina-6 la șobolanii obezi, această sugestie fiind susținută de studiul (Juha et al., 2007), care a arătat că extractul de curcumin reduce nivelurile de proteină C reactivă de înaltă sensibilitate și interleukina-6 la persoanele obeze. Ei explica faptul că extractul de curcumin regleaza expresia produșilor genei NF-kB cum ar fi factorul de necroză tumorală (TNF), interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6), interleukin- 8 (IL-8), proteina interferon macrofag 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), moleculele de adeziune, proteina C-reactivă (CRP).

De asemenea, Diego și col., (2013) au arătat că usturoiul scade nivelurile de proteină C reactivă si interleukina-6 din serul sanguin al pacientilor cu hiperlipidemie.

Rezultatele obținute au arătat că suplimentul de curcumin a crescut nivelul seric de endotelina-1 iar rezultatele noastre au fost similare studiului desfășurat de (Chiu et al., 2009), care a arătat că curcuminul ar putea imbunatati nivelul seric de endotelina-1 la

șobolanii diabetici ca factori vasoactivi precum ET-1, care poate acționa ca un mediator al fibronectinei (FN) exprimat în diabet prin factorul de transcriere NF-kB. S-a demonstrat că curcuminul exercită unul dintre efectele sale benefice prin inhibarea NF-kB.

## Concluzii

Studiul de față a demonstrat că suplimentul de curcumin are efecte pozitive asupra profilului lipidic, nivelul de glucoza din sange si a markerilor inflamatori serici care pot fi dezvoltati în hiperlipidemie și diabet zaharat.

Efectele antioxidante ale curcuminului s-au dovedit a atenua diabetul indus de streptozotocină și pot preveni complicațiile cardiovasculare diabetice. De asemenea, studiul a demonstrat ca curcuminul este o substanța vasodilatatoare puternică având și puterea de a reduce puterea aterogenă a colesterolului.

Astfel, se recomandă ca suplimentul de curcumin este util în tratamentul hiperlipidemiei, tulburărilor cardiovasculare și rezistenței la insulină. Acesta trebuie să fie utilizat cu grijă și sub supraveghere medicală pentru a obține beneficiile sale terapeutice și pentru a evita efectele secundare ale acestuia

## Bibliografie

1. **Abdel-Aal, N.M., Ahmad, A.T., Froelicher, E.S., Batieha, A.M., Hamza, M.M., Ajlouni, K.M.** (2008). Prevalence of dyslipidemia in patients with type 2 diabetes in Jordan. *Saudi Med J*; 29:1423-1428.
2. **Aggarwal, B.B., Harikumar, K.B.** (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol*; 41: 40-59.
3. **Aggarwal, B.B., Kumara, A., Bharati, A.C.** (2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*; 23: 363-398.
4. **Amitai, E., Edna, P., Ehud, G., Zehava, S., Yehonatan, S.** 2013. Effects of Allicin on Cardiovascular Risk Factors in Spontaneously Hypertensive Rats. *IMAJ* 15: 170-173.
5. **Ansari, N.M., Bhandari, U., Pillai, K.K.** (2007). Protective role of curcumin in myocardial oxidative

- damage induced by isoproterenol in rats. *Hum Exp Toxicol*; 26: 93–8.
6. **Ashraf, M.Z., Hussain, M, E., Fahim, M.** (2005). Antiatherosclerotic effects of dietary supplementations of garlic and turmeric: Restoration of endothelial function in rats. *Life Sciences*; 77: 837-857.
  7. **Banerjee, P.K., Franz, M., Sampson, L., Liu, S., Jacobs, D.R., Spiegelman, D., Willett, W., Rimm, E.** (2004). Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *Am J Clin Nutr*; 80(5): 1237-45.
  8. **El-Moselhy, M.A., Taye, A., Sharkawi, S.S., El-Sisi, S.F.I., Ahmed, A.F.** (2011). The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF- $\alpha$  and free fatty acids. *Food and Chemical Toxicology*; 49: 1129-1140.
  9. **Friedewald, W.J., Levy, R.J., Fredrichson, D.S.** (1972). Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.*, 18: 499 – 502.
  10. **Gordon, T., Castell, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B., Dawber, T.R.** (1977). High-density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med*; 62, 707-714.
  11. **Hirano, T.** (1990). Biological and clinical aspects of interleukin-6. *Immunol. Today* 11:443.
  12. **Juha, S., Mauno, V., Hannu, K., Markku, L.** (2007). Levels of adiponectin, C-reactive protein and interleukin-1 receptor antagonist are associated with the relative change in body mass index between childhood and adulthood. DOI: 10.3132/dvdr.060.
  13. **Karthikesan, K., Pari, L., Menon, V.P.** (2010). Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents. *Chemico-Biological Interactions*; 188: 643 – 650.
  14. **Kimberly, M.M., Vesper, H.W., Caudill, S.P., Cooper, G.R., Rifai, N., Dati, F., Myers, G.L.** (2003). Standardization of immunoassays for measurement of high-sensitivity C-reactive protein. Phase-I: evaluation of secondary reference materials. *Clinical Chemistry*; 49: 611 – 616.
  15. **Kurup, V.P., Barrios, C.S., Raju, R., Johnson, B.D., Levy, M.B., Fink, J.N.** (2007). Immune response modulation by curcumin in a latex allergy model. *Clin Mol Allergy*; 5:1.
  16. **Kurup, V.P., Barrios, C.S.** (2008). Immunomodulatory effects of curcumin in allergy (review). *Mol Nutr Food Res*; 52:103 1–9.
  17. **Montgomery, H.A.C., Dymock, J.F.** (1961). Colorimetric determination of nitrite. *Analyst* 86: 414.
  18. **Mrudula, T., Suryanarayana, P., Srinivas, P.N., Reddy, G.B.** (2007). Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Biochem Biophys Res Commun*; 361: 5: 28–32.
  19. **Patumraj, S., Wongeakin, N., Sridulyakul, P., Jariyapongskul, A., Futrakul, N., Bunnag, S.** (2006). Combined effects of curcumin and vitamin C to protect endothelial dysfunction in the iris tissue of STZ-induced diabetic rats. *Clin Hemorheol Microcirc*; 35:48: 1–9.
  20. **Pillariseti, S., Saxena, U.** (2004). Role of oxidative stress and inflammation in the origin of Type 2 diabetes—a paradigm shift. *Expert Opin Ther Targets*; 8: 40: 1–8.
  21. **Rolinski, B., Sadri, I., Bogner, J., Goebel, F.D.** (1994). Determination of endothelin-1 immunoreactivity in plasma, cerebrospinal fluid and urine. *Res Exp Med.*; 194(1): 9 – 24.
  22. **Rong, S., Zhao, Y., Bao, W., Xiao, X., Wang, D., Nussler, A. K., Yan, H., Yao, P., Liu, L.** (2012). Curcumin prevents chronic alcohol-induced liver disease involving decreasing ROS generation and enhancing antioxidative capacity. *Phytomedicine*; 19 545 – 550.
  23. **Schettler, G., Nussel, E.** (1975). Colorimetric determination of Triglycerides and cholesterol. *Arb. Med. Soz. Med. Prav. Med*; 10: 25.
  24. **Seo, K.I., Choi, M.S., Jung, U.J., Kim, H.J., Yeo, J., Jeon, S.M., Lee, M.K.** (2008). Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. *Mol. Nutr. Food Res*; 52, 1 – 10.
  25. **Suzuki, M., Nakamura, T., Iyoki, S., Fujiwara, A., Watanabe, Y., Mohri, K.** (2005). Elucidation of anti-allergic activities of curcumin-related compounds with a special reference to their anti-oxidative activities. *Biol Pharm Bull*; 28:14 38 – 43.
  26. **Trinder, P.** (1969). Determination of blood glucose using an oxidaseperoxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J. Clin. Path*; 22(2): 158–161.
  27. **Trivelli, La et al**, (1971). *New Engl J Med* 284: 353.
  28. **Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, Y., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Frogue, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B.B., Kadowaki, T.** (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine* 8: 1288-1295.
  29. **Wongcharoen, W., Phrommintikul, A.** (2009). The protective role of curcumin in cardiovascular diseases. *International Journal of Cardiology*; 133: 145-151.