

# Wpływ wieku i suplementacji kurkumina na skuteczność mechanizmów detoksykacyjnych w tkankach szczura<sup>\*)</sup>

MARZENA GUTOWICZ, AGNIESZKA AUGUSTYN, JUSTYNA PYRZANOWSKA\*, EWA WIDY-TYSZKIEWICZ\*, ANNA BARAŃCZYK-KUŹMA

Katedra i Zakład Biochemii WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

\*Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej WUM, Krakowskie Przedmieście 26/28, 00-325 Warszawa

Gutowicz M., Augustyn A., Pyrzanowska J., Widy-Tyszkiewicz E., Barańczyk-Kuźma A.

## Effect of age and curcumin supplementation on the efficiency of detoxification in rat tissues

### Summary

Curcumin is a yellow pigment extracted from the rhizome of *Curcuma Longa*. It has been used in Asia for several thousand years as a spice, antibacterial, anti-inflammatory and digestive agent. Current research reports that curcumin exhibits antioxidative, anticancer and neuroprotective properties. The aim of this study was to compare the activity of catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) and arginase (ARG) in the rat kidney, heart and skeletal muscle during aging, as well as to determine the effect of systematic curcumin supplementation on the activity of the above enzymes in old animals. Studies were conducted on adult (6 months of age) and old (22 months of age) Wistar Albino Glaxo males. The animals were separated into four groups of 7-8 rats each. Groups I and II were given a standard diet without curcumin, groups III and IV were on a diet supplemented with 10 and 50 mg/kg b.w. of curcumin, respectively. Ageing was observed to have no effect on CAT activity in any of the tissues under investigation, whereas GST activity decreased in both the kidney and the skeletal muscle but not in the heart. In the kidney the level of GSH significantly decreased, but ARG activity increased.

After the administration of curcumin to old rats, the activities of CAT and GST increased in the kidney and the skeletal muscle, but not in the heart. The level of GSH was higher in the kidney, but ARG activity remained unchanged. Thus, curcumin supplementation has a positive effect on detoxification processes in extrahepatic tissues of old rats.

**Keywords:** age, curcumin, catalase, glutathione S-transferase, arginase

Kurkumina (diferulometan) jest to roślinny związek polifenolowy otrzymywany z kłączy ostryżu indyjskiego. Od wielu tysięcy lat wykorzystywana jest w Azji Wschodniej nie tylko jako przyprawa ale również jako lek (27). Współczesne badania nad efektami biologicznymi kurkuminy potwierdzają jej właściwości przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i neuroprotektoryjne. Działanie przeciwzapalne kurkuminy polega prawdopodobnie na hamowaniu aktywności jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, który reguluje ekspresję cytokin prozapalnych, cyklooksygenazy 2 czy syntazy tlenku azotu. Inaktywacja NF- $\kappa$ B przyczynia się również do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych i angiogenezy (1, 3, 26). Kurkumina indukuje apoptozę poprzez aktywację kaspaz i obniżenie poziomu białek antyapoptotycznych (24). Znane są właści-

wości antyoksydacyjne kurkuminy zarówno poprzez bezpośrednie wymiatanie wolnych rodników, jak i wpływ na wzrost stężenia takich antyoksydantów, jak glutation czy tioredoksyna. Kurkumina podwyższa też aktywności enzymów antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych (4, 18). Etiologia wielu chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera, wiązana jest ze stresem oksydacyjnym. Stwierdzono, że podawanie kurkuminy transgenicznym myszom ze zmutowanym genem APP kodującym  $\beta$ -amyloid obniża poziom stresu oksydacyjnego, agregację zmutowanego białka i hamuje stan zapalny (28). Również badania *in vitro* pokazują, że kurkumina chroni komórki PC12 przed toksycznością  $\beta$ -amyloidu (19). Badania indyjsko-amerykańskie sugerują, że w Indiach choroba Alzheimera występuje rzadziej dzięki większemu spożyciu kurkuminy (7).

Do wzrostu syntezy wolnych rodników oraz gromadzenia się w organizmie związków toksycznych docho-

<sup>\*)</sup> Badania były finansowane z tematów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego 1WK/N/2009 i 2010.

dzi nie tylko w stanach patologicznych, ale i w trakcie starzenia się organizmu (11). Nadmiar reaktywnych produktów metabolizmu może być wynikiem spadku poziomu antyoksydantów i/lub obniżenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych, do których należą badane w obecnej pracy katalaza, transferaza S-glutationowa i arginaza.

Katalaza to żelazoproteina, której główną funkcją jest inaktywacja nadtlenu wodoru. W środowisku o wysokim stężeniu nadtlenu wodoru katalaza przeprowadza reakcję jego dysproporcjonowania, a w środowisku o niskim stężeniu  $H_2O_2$  wykazuje aktywność peroksydazową (8). Transferaza S-glutationowa należy do enzymów II fazy biotransformacji i katalizuje reakcję sprzęgania zredukowanego glutationu z wieloma związkami elektrofilowymi, zarówno endo-, jak i egzogennymi, chroniąc komórkę przed ich toksycznym działaniem (2). Oprócz aktywności transferazowej wiele izoenzymów transferazy S-glutationowej wykazuje aktywność peroksydazową (niezależną od selenu) przede wszystkim w stosunku do organicznych nadtlenuków (10). Transferaza S-glutationowa działa także jako białko transportowe dla wielu związków hydrofobowych, w tym wielu leków, bilirubiny, hormonów (13, 17). Zredukowany glutation (GSH,  $\gamma$ -glutamylcysteinyloglicyna), poza współdziałaniem z transferazą i peroksydazą glutationową, jest jednym z bardziej skutecznych antyoksydantów. Jego antyoksydacyjne właściwości związane są z obecnością grupy tiolowej, a mechanizm działania polega na redukcji nadtlenu wodoru i nadtlenuków organicznych oraz regeneracji innych antyoksydantów, takich jak: witamina C, tokoferole czy karotenoidy (5). Glutation, poza udziałem w naprawie oksydacyjnie uszkodzonych składników komórkowych, uczestniczy w tak ważnych procesach, jak transkrypcja, replikacja, wzrost i różnicowanie się komórek czy apoptoza (29).

Arginaza katalizuje reakcję hydrolizy argininy do ornityny i mocznika. W wątrobie ssaków jest to ostatnia reakcja cyklu mocznikowego, którego celem jest inaktywacja amoniaku. W pozostałych tkankach znaczenie arginazy jest związane z powstawaniem ornityny, będącej substratem do syntezy tak ważnych związków, jak: prolina, glutaminian czy poliaminy uczestniczące w podziałach, wzroście i różnicowaniu się komórek (15, 21, 23).

We wcześniejszych badaniach własnych (12) wykazano, że w wątrobie starych szczurów podawanie kurkuminy w diecie powoduje wzrost aktywności katalazy i arginazy, wzrost stężenia zredukowanego glutationu, ale nie wpływa na aktywność transferazy S-glutationowej (12).

Celem wcześniejszych badań było określenie wpływu suplementacji diety kurkumina na aktywność badanych uprzednio enzymów i poziom glutationu w tkankach pozawątrobowych, takich jak: nerka, mięsień sercowy i mięsień szkieletowy.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono ogółem na 31 szczurach, samcach rasy Wistar Albino Glaxo. Zwierzęta przebywały w stałej temperaturze ( $20^{\circ}C$ ) i wilgotności (60%) z zachowaniem 12-godzinnej rytmu dobowego światło/ciemność oraz otrzymywały bez ograniczeń wodę i dietę standardową (LSM, Motycz). Zostały one podzielone na 4 grupy. Grupę I stanowiły szczury 6-miesięczne (dorosłe) o masie ciała 350-400 g ( $n = 8$ ), grupę II – szczury 22-miesięczne (stare) o masie ciała 600-800 g ( $n = 7$ ). Grupy I i II nie otrzymywały kurkuminy w diecie. Grupę III i IV stanowiły szczury w wieku 22 miesięcy (stare) otrzymujące przez 10 tygodni przed dekapitacją różne dawki kurkuminy (CPE-014 Arjuna Natural Extracts Ltd; India). Grupa III ( $n = 8$ ) otrzymywała kurkuminę w ilości 10 mg/kg m.c., grupa IV ( $n = 8$ ) w dawce 50 mg/kg m.c. Po dekapitacji izolowano nerkę, mięsień sercowy i mięsień szkieletowy uda. Tkanki zamrażano, a następnie homogenizowano w 10 mM buforze sodowo-fosforanowym, pH 7,6 z 0,25 M sacharozą w stosunku 1 : 5 i wirowano przy  $12\ 000 \times g$  przez 15 min. W otrzymanym supernatancie badano aktywność katalazy (CAT) wg Góth (14) i transferazy S-glutationowej (GST) wg Habig i wsp. (16), stosując 1 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzen jako substrat elektrofilowy. Aktywność arginazy (ARG) oznaczano z ilości uwalnianej ornityny wg Chinard (9), stosując 10 mM bufor wodorowęglanowy, pH 7,6. Poziom zredukowanego glutationu (GSH) mierzono wg Sedlak i wsp. (25). Stężenie białka oznaczano spektrofotometrycznie metodą Bradford (6). Otrzymane wyniki analizowano statystycznie przy użyciu testu t-Studenta, stosując program Statistica 9 (StatSoft Inc.).

Badania prowadzono za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy AM w Warszawie (obecnie WUM).

## Wyniki i omówienie

Aktywność katalazy w nerce szczurów będących na diecie bez kurkuminy (grupa I i II) była zbliżona do aktywności tego enzymu w mięśni sercowym, ale około 3-4-krotnie wyższa niż w mięśni szkieletowym (tab. 1). We wszystkich badanych tkankach aktywność katalazy nie zmieniała się z wiekiem i u szczurów 6-miesięcznych była taka sama jak u 22-miesięcznych (tab. 1). Podanie kurkuminy, zarówno w dawce 10, jak i 50 mg/kg m.c. powodowało istotny statystycznie wzrost aktywności katalazy w nerce i mięśni szkieletowym ( $p < 0,05$ ). Obserwowany wzrost nie był jednak zależny od wysokości stosowanych w obecnej pracy dawek, co mogło wynikać ze zbyt małej (5-krotnej) rozpiętości pomiędzy stosowanymi dawkami (tab. 1, ryc. 1). W mięśni sercowym aktywność katalazy nie zmieniała się po podaniu kurkuminy (w porównaniu do grupy zwierząt starych), nieco rosła przy wyższej dawce kurkuminy, w porównaniu do aktywności u młodszych zwierząt ( $p < 0,05$ ) (tab. 1, ryc. 1). Jak wykazano wcześniej, w wątrobie szczura aktywność katalazy wzrastała po podaniu kurkuminy o 20-25% (12). Interesujące jest, że aktywność katalazy w badanych tkankach pozawątrobowych, w przeciwieństwie do wątroby, nie spada

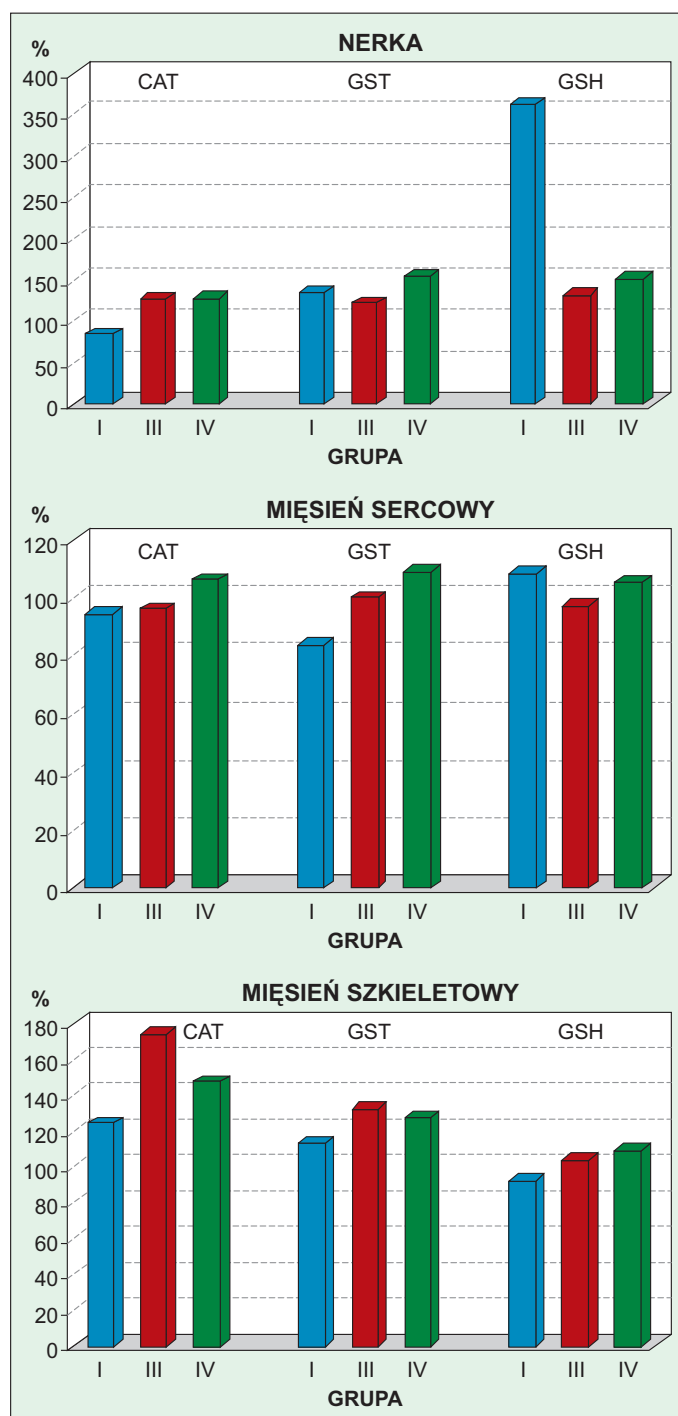
Tab. 1. Aktywność enzymów detoksykacyjnych i poziom glutationu w nerce, mięśniu sercowym i szkieletowym szczurów w zależności od wieku i dawki kurkuminy

Grupa	Oznaczone parametry		
	CAT U/mg	GST μmol/min/mg	GSH nmol/mg
<b>Nerka</b>			
I	25,73 ± 3,03	0,29 ± 0,02	13,49 ± 2,92
II	29,00 ± 4,49	0,21 ± 0,04 <sup>a</sup>	3,72 ± 0,55 <sup>a</sup>
III	36,65 ± 7,36 <sup>bc</sup>	0,26 ± 0,07	4,94 ± 1,15 <sup>bc</sup>
IV	36,98 ± 8,37 <sup>bc</sup>	0,33 ± 0,08 <sup>c</sup>	5,60 ± 0,92 <sup>bc</sup>
<b>Mięsień sercowy</b>			
I	32,11 ± 7,14	0,21 ± 0,02	2,47 ± 0,36
II	34,05 ± 6,14	0,26 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,28 ± 0,63
III	32,85 ± 3,81	0,26 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,21 ± 0,54
IV	36,16 ± 4,87 <sup>b</sup>	0,28 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,40 ± 0,81
<b>Mięsień szkieletowy</b>			
I	9,32 ± 1,14	0,08 ± 0,04	1,50 ± 0,35
II	7,49 ± 3,20	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,63 ± 0,30
III	13,07 ± 3,40 <sup>bc</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>bc</sup>	1,69 ± 0,26
IV	11,04 ± 3,70 <sup>c</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>bc</sup>	1,77 ± 0,68

Objaśnienia: grupa I – szczury 6-mies. karmione bez kurkuminy; grupa II – szczury 22-mies. karmione bez kurkuminy; grupa III – szczury 22-mies. karmione z kurkumina w ilości 10 mg/kg m.c.; grupa IV – szczury 22-mies. karmione z kurkumina w ilości 50 mg/kg m.c. Różnice istotne statystycznie: a – grupa II wobec grupy I; b – grupy III i IV wobec grupy I; c – grupy III i IV wobec grupy II

z wiekiem. Jednak wzrost aktywności tego enzymu po podaniu kurkuminy umożliwił skuteczniejsze rozkładanie nadtlenu wodoru, a tym samym zmniejszenie ilości reaktywnych form tlenu.

Aktywność transferazy S-glutationowej w nerce szczurów kontrolnych była podobna do aktywności w mięśniu sercowym, natomiast w mięśniu szkieletowym zwierząt starych prawie 4-krotnie niższa niż w sercu tej samej grupy wiekowej (tab. 1). W nerce i mięśniu szkieletowym była ona niższa u starych szczurów (grupa II) niż u młodszych (grupa I) ( $p < 0,05$ ). Po podaniu kurkuminy aktywność GST w nerce wzrastała znamienne (o około 50%) dopiero przy wyższej dawce ( $p < 0,05$ ), w mięśniu sercowym nie zmieniała się (w porównaniu do starych szczurów), natomiast w mięśniu szkieletowym rosła już przy dawce niższej, jednak wzrost ten nie był zależny od wysokości stosowanej dawki ( $p < 0,001$ ) (tab. 1, ryc. 1). Kurkumina, która, jak wykazaliśmy wcześniej, nie wpływa na aktywność transferazy S-glutationowej w wątrobie szczurów (12), powoduje jednak podwyższenie aktywności tego enzymu w nerce i mięśniu szkieletowym. Na obecnym etapie badań nie można powiedzieć, czy jest to bezpośredni wpływ na aktywność, czy może skutek wzrostu ekspresji tego białka. Uzyskane wyniki wskazują jednak na pozytyw-



Ryc. 1. Procentowe porównanie aktywności katalazy (CAT), transferazy S-glutationowej (GST), poziomu glutationu (GSH) w nerce, mięśniu sercowym i szkieletowym szczurów

Objaśnienia: Aktywność enzymów i poziom glutationu oznaczano jak podano w rozdziale Materiał i metody. Każdy wynik jest średnią z 3-4 oznaczeń wykonanych dla tkanek wyizolowanych z 7-8 szczurów. Oznakowanie grup jak w opisie do tab. 1. Za 100% przyjęto wartości w odpowiedniej tkance zwierząt kontrolnych w wieku 22-miesiący (grupa II)

ny wpływ podawania kurkuminy na skuteczność tworzonej przez GST bariery ochronnej.

Stężenie zredukowanego glutationu było około 4-krotnie niższe ( $p < 0,0001$ ) w nerce szczurów starych (grupa II) w porównaniu do zwierząt dorosłych (grupa I) (tab. 1, ryc. 1). Po podaniu kurkuminy zwiększało się

ono, odpowiednio, o 33 i 50% w obecności niższej i wyższej dawki kurkuminy ( $p < 0,05$  i  $0,0001$ ) (tab. 1, ryc. 1). W mięśniu szkieletowym poziom GSH był o około 30% niższy niż w mięśniu sercowym, ale nie zmieniał się ani w zależności od wieku, ani od dawki kurkuminy (tab. 1, ryc. 1).

Aktywność arginazy w nerce dorosłego szczura wynosiła  $0,037 \pm 0,003$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  białka i była około 100-krotnie niższa niż w wątrobie (12). U zwierząt starych aktywność arginazy była znamiennej wyższa ( $p < 0,001$ ) i wynosiła  $0,061 \pm 0,011$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  białka. Jak wykazali Liu i Zhang (20), do związanego z procesem starzenia się wzrostu aktywności arginazy dochodzi także w mózgu, a także, jak wykazaliśmy wcześniej (12), w wątrobie szczurów. Podwyższona aktywność arginazy wskazuje na zwiększony podczas starzenia katabolizm L-argininy, aminokwasu kluczowego dla wielu syntez. Kurkumina nie wpływała na arginazę w nerce, gdzie po suplementacji diety dawką 10 mg/kg m.c. aktywność wynosiła  $0,057 \pm 0,015$ , a dawką 50 mg/kg m.c.  $0,060 \pm 0,008$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  białka. Różny wpływ procesu starzenia oraz kurkuminy na aktywność arginazy w wątrobie i nerce szczura prawdopodobnie związany jest z różnymi izoenzymami występującymi w tych tkankach oraz ich różną funkcją fizjologiczną (udział w cyklu mocznikowym w wątrobie, a syntezy ornityny i jej pochodnych w nerce) (22). W mięśniach szkieletowych i w mięśniu sercowym aktywność arginazy była kilkadziesiąt razy niższa niż w nerce, co uniemożliwiło określenie zmian po podaniu kurkuminy.

Podsumowując, można stwierdzić, że proces starzenia nie wpływa na aktywność katalazy w nerce, mięśniu sercowym i szkieletowym. Prowadzi jednak do spadku aktywności GST w nerce i mięśniu szkieletowym oraz znacznego obniżenia poziomu GSH w nerce, co zmniejsza skuteczność tworzonej przez te związki bariery ochronnej. Zwiększa także degradację L-argininy w nerce, co może być przyczyną zmian w procesach anabolicznych.

Podawanie kurkuminy starym szczurom podwyższa aktywność katalazy i transferazy S-glutationowej w nerce i mięśniu szkieletowym, ale nie w sercu. Podwyższa także poziom zredukowanego glutationu w nerce, lecz nie wpływa na aktywność arginazy nerkowej, która pozostaje wyższa niż u osobników dorosłych.

Można więc stwierdzić, że podawanie kurkuminy w diecie ma pozytywny wpływ na efektywność procesów detoksykacyjnych w tkankach pozawątrobowych osobników starych.

## Piśmiennictwo

1. Aggarwal B. B., Shishodia S., Sandur S. K., Pandey M. K., Sethi G.: Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochem. Pharmacol.* 2006, 72, 1605-1621.
2. Barańczyk-Kuźma A., Kuźma M., Gutowicz M., Kaźmierczak B., Sawicki J.: Glutathione S-transferase pi as a target for tricyclic antidepressants in human brain. *Acta Biochim. Pol.* 2004, 51, 207-212.
3. Bengmark S.: Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NF $\kappa$ B, cyclooxygenase-2, lipoxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: A shield against acute and chronic diseases. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 2006, 30, 45-51.
4. Biswas S., Rahman I.: Modulation of steroid activity in chronic inflammation: A novel anti-inflammatory role for curcumin. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008, 52, 987-994.
5. Bliska A., Kryczyk A., Włodek L.: Różne oblicza biologicznej roli glutationu. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2007, 61, 438-453.
6. Bradford M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, 72, 248-254.
7. Calabrese V., Bates T. E., Mancuso C., Cornelius C., Ventimiglia B., Cambria M. T., Di Renzo L., De Lorenzo A., Dinkova-Kostova A. T.: Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008, 52, 1062-1073.
8. Chelikani P., Fita I., Loewen P. C.: Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol. Life Sci.* 2004, 61, 192-208.
9. Chinard F. P.: Photometric estimation of prolin and ornithine. *J. Biol. Chem.* 1952, 199, 91-95.
10. Ciszevska-Pilczyńska A., Barańczyk-Kuźma A.: Glutathione conjugation in male reproductive system: studies on glutathione-S-transferase of bull and boar epididymis. *Acta Biochim. Pol.* 2000, 47, 223-231.
11. Galaris D., Mantzaris M., Amorgianiotis C.: Oxidative stress and aging: the potential role of iron. *Hormones* 2008, 7, 114-122.
12. Gutowicz M., Cholojczyk M., Pyrzanowska J., Widy-Tyszkiewicz E., Barańczyk-Kuźma A.: Wpływ kurkuminy na detoksykacyjne i antyoksydacyjne mechanizmy w wątrobie szczurów podczas starzenia. *Medycyna Wet.* 2008, 64, 955-957.
13. Gutowicz M., Kaźmierczak B., Barańczyk-Kuźma A.: Wpływ zatrucia heroiną na aktywność i ekspresję transferazy S-glutationowej w korze mózgowej człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2006, 4, 377-381.
14. Góth L.: A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin. Chim. Acta* 1991, 196, 143-152.
15. Graboń W.: Arginina – podstawowy aminokwas w procesie nowotworzenia. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2006, 60, 483-489.
16. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B.: Glutathione S-transferases; the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974, 249, 7130-7139.
17. Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R.: Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005, 45, 51-88.
18. Iqbal M., Sharma S. D., Okazaki Y., Fujisawa M., Okada S.: Dietary Supplementation of Curcumin Enhances Antioxidant and Phase II Metabolizing Enzymes in ddY Male Mice: Possible Role in Protection against Chemical Carcinogenesis and Toxicity. *Pharmacol. Toxicol.* 2003, 92, 33-38.
19. Lim G. P., Chu T., Yang F., Beech W.: The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci.* 2001, 21, 8370-8377.
20. Liu P., Jing Y., Zhang H.: Age-related changes in arginine and its metabolites in memory-associated brain structures. *Neurosci.* 2009, 164, 611-628.
21. Mielczarek M., Chrzanowska A., Scibior D., Skwarek A., Ashamiss F., Lewandowska K., Barańczyk-Kuźma A.: Arginase as a useful factor for the diagnosis of colorectal cancer liver metastases. *Int. J. Biol. Markers* 2006, 21, 40-44.
22. Mielczarek-Puta M., Chrzanowska A., Barańczyk-Kuźma A.: Nowe oblicza arginazy. Część I. Struktura i właściwości. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2008, 62, 206-213.
23. Mielczarek-Puta M., Chrzanowska A., Graboń W., Barańczyk-Kuźma A.: Nowe oblicza arginazy. Część II. Rola w fizjologii i patologii. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2008, 62, 214-221.
24. Moragoda L., Jaszewski R., Majumdar A. P.: Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells. *Anticancer Res.* 2001, 21, 873-878.
25. Sedlak J., Lindsay R. H.: Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968, 25, 192-205.
26. Steward W. P., Gescher A. J.: Curcumin in cancer management: Recent results of analogue design and clinical studies and desirable future research. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008, 52, 1005-1009.
27. Wongcharoen W., Phrommintikul A.: The protective role of curcumin in cardiovascular diseases. *Int. J. Cardiol.* 2009, 133, 145-151.
28. Yang F., Lim G. P., Begum A. N., Ubeda O. J.: Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 5892-5901.
29. Zasadowski A., Wýsocki A. D., Barski D., Spodniewska A.: Some aspects of reactive oxygen species (ROS) and antioxidative system agent's action. *Short Review. Acta Toxicol.* 2004, 12, 5-19.

Adres autora: prof. dr hab. Anna Barańczyk-Kuźma, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: anna.kuzma@wum.edu.pl