

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11707
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636:612.33:615.322

Cytoprotective effects of curcumin on the state of the intestinal barrier in a model of LPS-induced inflammation

V. S. Nedzvetsky¹✉, O. V. Yanovska¹, D. F. Gufrij², O. A. Sheptukha¹, D. M. Masiuk¹

¹Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 17.12.2024

Received in revised form
20.01.2025

Accepted 21.01.2025

Dnipro State Agrarian
and Economic University,
Serhiya Yefremova Str., 25,
Dnipro, 49000, Ukraine.
Tel.: +38-099-783-33-25
E-mail: nedzvetskyvictor@ukr.net

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Nedzvetsky, V. S., Yanovska, O. V., Gufrij, D. F., Sheptukha O. A., & Masiuk, D. M. (2025). Cytoprotective effects of curcumin on the state of the intestinal barrier in a model of LPS-induced inflammation. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 27(117), 50–58. doi: 10.32718/nvlvet11707

Intestinal epithelium forms tissue barrier to prevent infectious agents invasion as well as provides interaction between external environment and internal body compartment. Intestinal barrier is functioning is susceptible to inflammatory complications. Barrier integrity requires physical intercellular adhesion of epithelial cells via tight junction proteins links. The interrelation between intestinal inflammation and barrier integrity was the aim of present study. The Caco-2 cell culture was exposed to lipopolysaccharide (LPS), curcumin and LPS+curcumin to assess the effect of this polyphenol on the intestinal barrier. Cell viability, TNF- α , and occludin contents were detected in cell lysates after 48 hours exposure. Obtained results demonstrated that LPS induced TNF- α upregulation and decrease in cell viability and occluding in dose-dependent manner. The treatment with curcumin didn't affected any studied parameters. Contrary, curcumin exposure ameliorates cell viability and occludin content in LPS-challenged cells. Therefore, the effect of curcumin on inflammatory provoked cells and normal balanced cells is differentiated in respect to cell proinflammatory reactivity. Furthermore, the protective effect of curcumin is associated with maintenance of LPS-compromised intestinal barrier. Obtained results evidence that soluble curcumin is a promised tool to protect the main intestinal functions including barrier integrity.

Key words: curcumin, intestinal epithelium, intercellular adhesion, occludin, TNF- α , intestinal inflammation.

Цитопротекторні ефекти куркуміну на стан інтестинального бар'єру в моделі ЛПС-індукованого запалення

В. С. Недзвєцький¹✉, О. В. Яновська¹, Д. Ф. Гуфрій², О. А. Шептуха¹, Д. М. Масюк¹

¹Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Кишковий епітелій утворює тканинний бар'єр для запобігання проникненню інфекційних агентів, а також забезпечує взаємодію між зовнішнім середовищем і внутрішніми тканинами організму. Функціонуючий кишковий бар'єр сприйнятливий до запальних ускладнень. Цілісність бар'єру вимагає фізичної міжклітинної адгезії епітеліальних клітин за допомогою цільних зв'язків білків. Взаємозв'язок між кишковим запаленням і цілісністю бар'єру був метою цього дослідження. Культуру клітин Caco-2 піддавали впливу ліпополісахариду (LPS), куркуміну та LPS+куркуміну для оцінки впливу цього поліфенолу на кишковий бар'єр. Життєздатність клітин, TNF- α та вміст оклюдину були виявлені в клітинних лізатах після 48 годин експозиції. Отримані результати продемонстрували, що LPS індукує регуляцію TNF- α та зниження життєздатності клітин і оклюзії залежно від дози. Лікування куркуміном не вплинуло на досліджувані параметри. Навпаки, вплив куркуміну покращує життєздатність клітин і вміст оклюдину в клітинах, заражених LPS. Таким чином, вплив куркуміну на клітини, спровоковані запаленням, і нормальні збалансовані клітини

ни диференціюється щодо клітинної прозапальної реактивності. Крім того, захисний ефект куркуміну пов'язаний із підтримкою кишкового бар'єру, порушеного LPS. Отримані результати свідчать про те, що розчинний куркумін є обіцяним інструментом для захисту основних функцій кишечника, включаючи цілісність бар'єру.

Ключові слова: куркумін, інтестинальний епітелій, міжклітинна адгезія, окклюдин, TNF- α , запалення кишечника.

Вступ

Підтримання здоров'я кишечника залишається актуальною проблемою як для людини, так і для тварин. Загальний механізм відокремлення організму людини і тварини від зовнішнього середовища, побудований з різних типів епітеліальних клітин, включаючи епітелій шлунково-кишкового тракту. У всьому світі постійно зростає кількість шкідливих факторів, які здатні порушувати функціонування кишечника та, як наслідок, викликати ускладнення в інших тканинах (Gierzyńska et al., 2022). Адгезивні контакти між сусідніми епітеліальними клітинами утворюють фізичний бар'єр, який перешкоджає проникненню патогенів і токсичних сполук. Іншою місією кишкового епітелію є транслокація харчових сполук, що проходять як через апікальну мембрану, так і через базолатеральну мембрану епітеліоцитів. Декілька ініціаторів можуть індукувати гіперпродукцію цитокинів, що разом з різними клітинними типами активують запальний процес (Azimirad et al., 2022; Masiuk et al., 2024).

Крім того, посилення реактивності інтестинального епітелію може призвести до функціональних порушень і зростанню проникності кишкового бар'єру (Stephens & von der Weid, 2020). Таким чином, токсичні властивості прозапальних сполук можуть вести до локальних ушкоджень інтестинального бар'єру та порушенню абсорбції поживних речовин (Zhang & Wu, 2021). Токсичність прозапальних факторів може спровокувати апоптоз в епітеліальних клітинах кишечника (Azimirad et al., 2022; Han et al., 2024). Інший шлях цитотоксичних ефектів інтестинального запалення може бути опосередкований генерацією окисного стресу та порушенням внутрішньоклітинного балансу Ca^{2+} (Yan et al., 2024).

Отже, індукція запального процесу в інтестинальних клітинах має складний і багатофакторіальний характер (Miner-Williams & Moughan, 2016). Ефективність антиоксидантів і абсорбентів вільних радикалів була визнана одним з універсальних і дієвих шляхів захисту різних типів клітин від ускладнень локальної та хронічної запальної реакції (Demir et al., 2020).

Куркумін або диферулоїлметан (1,7-біс(4-гідрокси-3-метоксифеніл)-1,6-гептадієн-3,5-діон) є поліфенольною природною сполукою, видобутою з кореневища *Curcuma longa* (Kotha & Luthria, 2019). Куркумін відомий як куркума і використовується як дієтична спеція та харчовий барвник. Куркумін є основним компонентом куркуми та має антиоксидантну (Mohajeri et al., 2018), протизапальну дію (Lei et al., 2023), виявляє противірусні (Witika et al., 2021), анти-мікробні (Heimesaat et al., 2024) і протипухлинні властивості (Lin et al., 2022). Куркумін добре відомий як багатогранна рослинна сполука з протизапальною дією. Цей поліфенол має здатність інгібувати утворення прозапальних факторів шляхом транскрипцій-

ного контролю як у трансформованих, так і в нормальних типах клітин (Guo et al., 2018; Gan et al., 2019). Крім того, куркумін виявляє цитопротекторні властивості стосовно пошкодження різних типів клітин включаючи нейроепітеліальні (Nedzvetsky et al., 2021). На жаль, фізико-хімічні властивості куркуміну значно обмежують його проникнення через гематоенцефалічний бар'єр, а також обумовлюють його низьку біодоступність внаслідок поганого розчинення у воді (Kotha & Luthria 2019). Було протестовано численні підходи для покращення як біодоступності, так і розчинності куркуміну. Сучасні технології дозволили легко виробляти водорозчинну фракцію куркуміну, яка може перетинати біологічні бар'єри, зокрема, інтестинальний та гемато-енцефалічний бар'єр (Nedzvetsky et al., 2021).

Докази цитопротекторної дії були отримані використовуючи куркумін та його похідні, включаючи природні аналоги куркуми, інші рослинні природні аналоги, синтетичні аналоги, ліпосоми та наночастинки, що містили куркумін (Oskouie et al., 2019; Geevarghese et al., 2023). Куркумін виявив протекторний ефект стосовно мукозальної проникності тонкого кишечника мишей (Yang et al., 2024). Антизапальний та антиокисні ефекти куркуміну були продемонстровані в моделі неопластичних ушкоджень епітелію товстого кишечника (Baptistella et al., 2024). Додавання куркуміну у корм підтримує інтестинальну бар'єрну функцію у бройлерів інфікованих *Eimeria tenella* (Chen et al., 2018). В моделі експериментального коліту у мишей куркумін знижував рівень некроптозу в клітинах інтестинального епітелію (Zhong et al., 2023). Дослідження показників запальної реакції та окисного стресу показало ефективність низької дози куркуміну стосовно регуляції експресії генів пов'язаних із запаленням та відновлення ушкоджень тонкого кишечника (Yang et al., 2023).

Найбільш важливими молекулярними механізмами дії куркуміну вважаються шляхи ядерний еритроїдний пов'язаний фактор 2 (Nrf2)- та ядерний фактор каппа-ланцюга (NF- κ B)-залежної регуляції (Liu et al., 2022). Саме ці шляхи контролюють активність антиоксидантної та запальної відповіді на широке коло стимулюючих факторів, включаючи екзогенні сполуки, інфекційні агенти та метаболічні порушення (Lobo de Sá et al., 2019; Zhu et al., 2020; Zamanian et al., 2024). Незважаючи на значне число досліджень ефектів куркуміну, залишаються незрозумілими молекулярні механізми регуляції куркуміном бар'єрної функції кишечника і зв'язок порушень міжклітинної адгезії інтестинального епітелію з про-запальними порушеннями. Загально визнаним маркером міжклітинної адгезії епітеліальних клітин є білок щільних контактів окклюдин, рівень експресії та синтезу якого є показником інтегративних властивостей інтестинального бар'єру (Kaminsky et al., 2021). NF- κ B є регулятором

транскрипції генів, які відповідають за продукцію про-запальних цитокінів, і таким чином, рівень NF- κ B корелює з інтенсивністю про-запальної реакції (Wang et al., 2022). Одним з таких NF- κ B-залежних цитокінів є фактор некрозу пухлин (TNF- α), який широко застосовується в якості маркеру про-запальних змін (Ye et al., 2021). В представленій роботі про-запальні ускладнення були ініційовані за допомогою експозиції клітин ліпополісахаридом (ЛПС), що є поширеною моделлю як *in vivo*, так і *in vitro* досліджень (Stephens & von der Weid, 2020).

Мета дослідження

Метою дослідження було визначення вмісту про-запального маркеру TNF- α та маркеру міжклітинної адгезії білку окклюдину в культурі клітин Сасо-2 стимульованих ЛПС, куркуміном та куркумін+ЛПС.

Матеріал і методи досліджень

Культивування клітин та експозиція. У представленій роботі ми використовували розчинну фракцію натурального куркуміну, виробленого корпорацією Sencient, для створення моделі для дослідження ефектів куркуміну на інтестинальну клітинну культуру Сасо-2.

Лінія клітин аденокарциноми товстої кишки людини Сасо-2 була придбана в American Type Culture Collection (HTB-37TM, ATCC, Manassas, VA). Культивування клітин Сасо-2 проводили в чашках об'ємом 75 см² у модифікованому середовищі Дульбекко Ігла та середовищі Хенка F12 (1:1) (DMEM/F12 містив високий вміст глюкози, 4500 мг/дл; HyClone, Invitrogen Company, США) з додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки (FBS), 1 % незамінних амінокислот, 1 % піруват натрію, 1 % глутамін і 1 % стрептоміцин/пеніцилін. Культуру клітин інкубували у зволоженої атмосфері при 37 °C і 5 % CO₂. Середовище замінювали кожні 48 год. Коли клітини досягали майже 90 % злиття, проводили відбір клітин для наступного пасажу з використанням 0,25 % трипсину-ЕДТА (0,25 % трипсину, 0,02 % ЕДТА). Перед початком вирощування клітин для експозиції було виконано мінімум 14 пасажів. Під час останнього пасажу клітини помістили в 6-лункові планшети з концентрацією 5×10⁵ клітин/лунку та культивували для отримання 100% злиття. Клітини при повному злитті промивали фосфатно-сольовим буфером (PBS) і культивували та зупиняли ріст за допомогою середовища, що містить 0,2 % FBS, за 12 годин до обробки. Клітини Сасо-2 піддавали дії ЛПС (2, 10 і 50 мкг/мл), куркуміну (1, 2 і 5 мкМ) і комбінованого ЛПС (50 мкг/мл) з різними дозами куркуміну. Контрольну групу обробляли рівним об'ємом диметилсульфоксиду (ДМСО).

Вплив ЛПС проводили для моделювання запалення кишечника. Конфлюентні клітини Сасо-2 піддавали дії ЛПС у дозах 2, 10 і 50 мкг/мл шляхом додавання вихідного розчину ЛПС, розчиненого в ДМСО, у концентрації 1 мг/мл. Конфлюентні клітини Сасо-2 інкубували з куркуміном у дозах 1, 2 і 5 мкМ кінцевої концентрації шляхом додавання вихідного розчину

ЛПС (200 мкМ). Клітини попередньо обробляли куркуміном протягом 60 хв, а потім LPS у дозі 50 мкг/мл додавали до середовища клітин, які спільно експонували ЛПС+куркумін.

Життєздатність клітин (аналіз MTT). Вплив ЛПС, куркуміну та одночасно куркумін+ЛПС на життєздатність клітин Сасо-2 оцінювали за допомогою аналізу MTT (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію бромід) (Bahuguna et al., 2017). Після прикріплення та початку росту клітини промивали PBS та експонували різними дозами куркуміну, ЛПС і ЛПС+куркумін, як зазначено вище, протягом 48 годин. Згодом середовище замінювали свіжим середовищем, що містило 10 мкл реагенту, міченого MTT, на 4 години. Потім в лунки додавали диметилсульфоксид (ДМСО, 100 мкл) та інкубували 10 хв. Значення оптичної густини вимірювали при 570 нм у присутності буфера Соренсена за допомогою планшет-рідера ELISA (SpectraMax 384 Plus, Molecular Devices, США).

Вестерн-блот аналіз. Клітини Сасо-2 культивували для досягнення конфлюентного моношару та експонували, як було раніше зазначено (Masiuk et al., 2024). Після 48 годин експозиції клітини контрольної групи та групи клітин, оброблених ЛПС, куркумін і ЛПС +куркумін, промивали в чашках Петрі холодним PBS і збирали пластиковим скребком без трипсинізації. Клітини, зібрані з кожної чашки Петрі, центрифугували та лізували в буфері RIPA, що містить суміш інгібіторів протеїназ та фосфатаз. Білкові фракції клітин Сасо-2 екстрагували протягом 60 хв при 4 °C. Після лізису клітинні екстракти центрифугували при 40000 g протягом 20 хв. Вміст загального білка в супернатантах вимірювали спектрофотометром за модифікованим методом Бредфорда з використанням BSA як стандарту (Markwell et al., 1978). Супернатант кожного білкового екстракту змішували з буфером Laemmli, що містив 0,1 М дитіотреїтол і кип'ятили протягом 5 хв. Фіксовані цим буферним розчином зразки заморожували та зберігали при -80 °C перед початком вестерн-блот аналізу.

Білки розділяли за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі (PAAG) з використанням 5–20 % градієнта акриламід. Після електрофорезу білки переносили з гелю на мембрану з полівініліденфториду (PVDF) за допомогою електро-блотингу. Після перенесення PVDF мембрану промивали трис-буферним фізіологічним розчином, що містив 0,1 % Tween-20 (TBS-T) і блокували в 1 % розчині бичачого сироваткового альбуміну (BSA) у TBS-T. Заблоковану мембрану досліджували протягом ночі при 4 °C на наявність первинних антитіл проти окклюдину (1:1000, Santa Cruz, sc-133256), анти-TNF- α (1:1000, Santa Cruz, sc-52746), та антитіл проти GAPDH (гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази) як нормалізуючого маркеру (1:2000, Santa Cruz, sc-365062). Після промивання мембрану інкубували з вторинними антитілами IgG миші, кон'югованими з пероксидазою хрому, при кімнатній температурі протягом 60 хв (1:10000, Abcam, ab6721). Імунозabarвлення проводили з використанням розчину люмінол-кумарова кислота-перекис водню методом посиленої хемілюмінес-

ценції з експозицією рентгенівської плівки 1 хв (Konica Minolta, Японія). Денситометричний аналіз результатів вестерн-блоту проводили за допомогою програмного забезпечення TotalLab TL120 (США). Значення інтенсивності, виявлене шляхом сканування кожної окремої смуги, було нормалізовано до інтенсивності, відповідної смузі GAPDH того ж зразка.

Статистичний аналіз. Усі експериментальні експозиції проводили в 4-х повторях. Для представлення кількісних ознак використовували середнє арифметичне ($\bar{x}$) і стандартну помилку середнього (SEM). Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу (ANOVA) за допомогою StatView 5.0 (SAS Institute

Inc., США). Графіки побудовані з використанням софту GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). Значення $P > 0,05$ були прийняті як статистично значущі.

Результати та їх обговорення

Аналіз життєздатності клітин проводився для підтвердження порушення, спричиненого ЛПС, і оцінки впливу куркуміну клітини кишечника. Отримані результати показали наявність дозозалежного зниження життєздатності клітин, викликане впливом ЛПС, порівняно з необробленими клітинами (рис. 1).

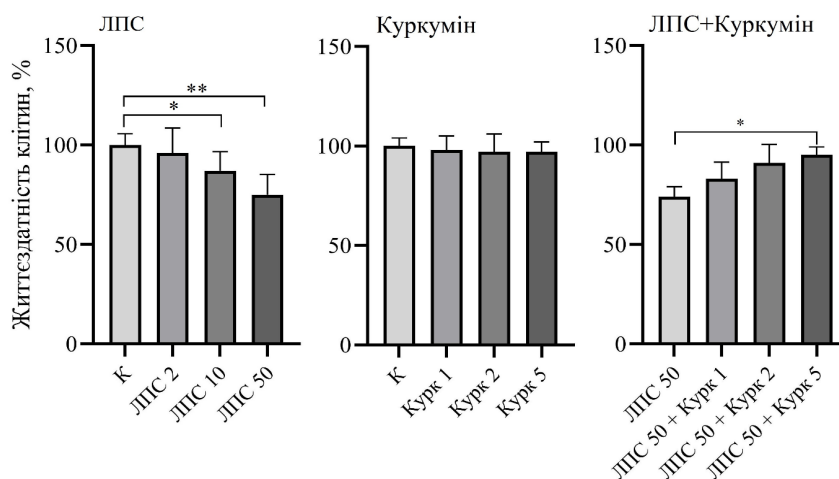


Рис. 1. Рівень життєздатності клітин Caco2 експонованих ЛПС, куркуміном та ЛПС+куркумін

Примітка: значення відповідають середнє $\pm$ стандартна похибка середнього 4 незалежних експериментів. Достовірність змін: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ порівняно з контрольною групою

Отримані результати не виявили жодних вагомих статистичних відмінностей щодо життєздатності клітин у групі, що зазнала впливу куркуміну, порівняно з контрольними клітинами, які не зазнали впливу. Навпаки, збільшення життєздатності клітин було виявлено в клітинах, які зазнали впливу куркумін+ЛПС, порівняно з групою, яка зазнала впливу ЛПС.

Було виявлено вміст TNF- α , щоб підтвердити прозапальні зміни в ЛПС-індукованій клітинній моделі. Статистично значуще збільшення вмісту TNF- α спостерігалось в клітинах Caco2, стимульованих ЛПС, порівняно з контролем (рис. 2).

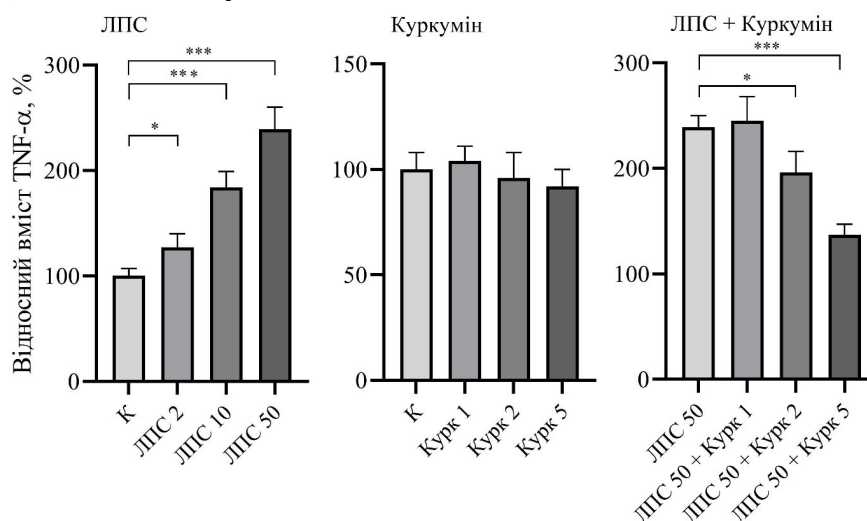


Рис. 2. Вміст TNF- α у клітині Caco2 експонованих LPS, куркуміном та LPS+куркумін

Примітка: значення відповідають середнє $\pm$ стандартна похибка середнього 4 незалежних експериментів. Достовірність змін: * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$ порівняно з контрольною групою

Навпаки, незначне збільшення вмісту TNF- α було виявлено в клітинах, оброблених куркуміном, порівняно з контрольною групою. Зменшення продукції TNF- α спостерігалось в клітинах Caco2, підданих куркумін+ЛПС, порівняно з клітинами, які піддавалися ЛПС стимуляції (рис. 2).

Для оцінки протекторної дії куркуміну на міжклітинну адгезію кишкового епітелію вимірювали вміст окклюдину. Отримані результати продемонстрували статистично значуще зниження вмісту окклюдину в клітинах, які зазнали впливу ЛПС (рис. 3).

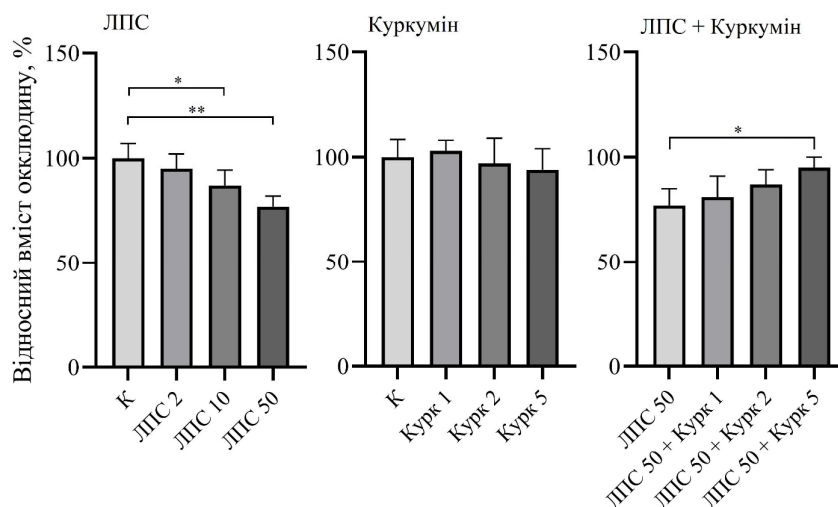


Рис. 3. Вміст окклюдину в клітинах Caco2 експонованих LPS, куркуміном та LPS+куркумін

Примітка: значення відповідають середнє $\pm$ стандартна похибка середнього 4 незалежних експериментів. Достовірність змін: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ порівняно з контрольною групою

Рівень окклюдину в групі впливу куркуміну був співмірним з таким у контрольній групі. Проте вміст окклюдину в клітинах, оброблених ЛПС+куркумін, був покращений порівняно з ЛПС-стимульованими клітинами.

Епітеліальні клітини кишечника вважаються основним типом, який формує інтестинальний бар'єр між організмом і довколишнім середовищем (Suzuki, 2020). Провідна роль запалення та шкідливий вплив на функціонування кишкових клітин підтверджується численними звітами про моделі як *in vivo*, так і *in vitro* (Wang et al., 2020; Zhang et al., 2023; Di Vincenzo et al., 2024). Незважаючи на нещодавній прогрес у дослідженнях функціонування кишкового бар'єру, молекулярні механізми його руйнування, що спричиняє феномен "дірявої кишки", все ще недостатньо вивчені (Di Vincenzo et al., 2024). Особливу роль у цілісності кишкового бар'єру відіграють молекули, отримані з клітин мікробіому, включаючи жирні кислоти, мурамілові пептиди, а також, рослинні та синтетичні антиоксиданти (Rathinam et al., 2019; Nedzvetsky et al., 2020; Tamchuk, 2023).

Обробка ЛПС клітин Caco2 широко використовується для моделювання кишкового мукозиту *in vitro* (Chen et al., 2018; Wu et al., 2019). Це дослідження мало на меті визначити вплив куркуміну на клітини кишкового епітелію, які піддаються впливу ЛПС, щоб перевірити модуляцію запальної відповіді шляхом продукції запальних цитокінів, зокрема, через визначення вмісту TNF- α . Результати цього дослідження показали, що індуковане ЛПС зниження життєздатності клітин пригнічувалося після застосування поліфенольних сполук у різних типах клітин. Спостережувані результати свідчать про те, що цитопротекторний

ефект антиоксидантів супроводжувався зниженням запалення кишечника.

Порушення кишкового бар'єру безпосередньо пов'язане з пошкодженням епітеліальних клітин (Di Tommaso et al., 2021). Захисна роль кишкового епітеліального бар'єру залежить від міжклітинних щільних з'єднань (ТJ) (Xu et al., 2020). Слід зазначити, що утворення білкових комплексів ТJ, у тому числі окклюдину та окклюденс зонули-1, має вирішальне значення для підтримки кишкового слизового бар'єру (Sánchez de Medina et al., 2014). Крім того, результати попереднього дослідження показали, що ЛПС спричиняє руйнування ТJ і високий рівень проникності слизової оболонки (Masiuk et al., 2024).

Нещодавно було продемонстровано, що запалення, викликане ЛПС, викликає зниження експресії Е-кадгерину в епітеліальних клітинах кишечника (Sittipo et al., 2024). Крім того, обробка ЛПС кокультури фібробластно-кишкових епітеліальних клітин призводить до зниження вмісту муцину 2, що супроводжується пригніченням цілісності кишкового бар'єру. Первинні кишкові епітеліальні клітини товстої та тонкої кишки розвинули однакові характеристики щодо експресії Е-кадгерину, що свідчить про важливу роль цього адгезивного білка в підтримці бар'єрної функції (Sittipo et al., 2024).

Запальна реакція є важливою частиною вродженого захисту від інфекційних агентів. Однак гіперактивна вироблення цитокінів, як правило, призводить до пошкодження клітини та дисбалансу в її функціонуванні (Váradi et al., 2017). Прозапальні цитокіни є ініціаторами як антимікробної запальної відповіді, так і різного роду ушкоджень, що супроводжуються надмірним виробництвом цитокінів (Meyer et al., 2023).

Підтверджено, що різні протизапальні засоби полегшують функціональне зниження та пошкодження клітин, спричинене запаленням. Отже, втручання різних ініціаторів експресії цитокінів може бути перспективним способом обмеження шкідливого ефекту прозапального зсуву.

Куркумін визнано сигнальною молекулою, яка може обмежувати NF- κ B-залежне вироблення цитокінів. Цей ефект ініціює клітинну відповідь проти можливої мікробної інвазії, де активація механізмів вродженого імунітету є найбільш адекватним способом. Куркумін демонструє численні цитопротекторні властивості, які залежать від його антиоксидантної, протизапальної та антимікробної дії. Цей поліфенол може інгібувати прозапальну активність у різних типах клітин шляхом стимуляції альтернативних шляхів у зв'язку з механізмом спостережуваних результатів у цьому дослідженні. Крім того, наші результати стосуються клітинної лінії Сасо-2, яка є визнаним об'єктом для створення експериментальних моделей ушкоджень інтестинального епітелію.

Тому необхідні подальші дослідження для диференціації шкідливих і корисних ефектів, які залежать від різної структури різних поліфенолів. Беручи до уваги, що NF- κ B модулює кишкове запалення, а також індукуює прозапальні зміни в інших типах клітин, стимуляція NF- κ B-залежної відповіді не є лише реакцією одного типу в інтестинальній системі. Численні шляхи задіяні в регулюванні гомеостатичної взаємодії всіх типів клітин кишечника, де існує фундаментальний зворотний зв'язок між про- та протизапальними механізмами для підтримки функцій кишечника (Ye et al., 2021). Одним із можливих способів полегшення запалення, спричиненого LPS, за допомогою куркуміну є його регуляторний вплив на виробництво цитокінів. Беручи до уваги, що ЛПС і куркумін є потужними для стимуляції різних шляхів, пов'язаних з Toll-подібними рецепторами та виробленням цитокінів, відповідно, одночасна стимуляція цих шляхів може взаємодіяти конкурентним чином і пригнічувати один одного. Молекулярний механізм, за допомогою якого куркумін здатний інгібувати прозапальні ускладнення, викликані кишковими ЛПС, може бути пов'язаний з багатьма властивостями куркуміну, які пригнічують реактивність клітин, включаючи надмірне виробництво цитокінів (Stephens & von der Weid, 2020).

Спостережуване підвищення рівня TNF- α в клітинах, оброблених ЛПС, було покращено за допомогою куркуміну в цьому дослідженні. Таким чином, один із регуляторних ефектів куркуміну можна пов'язати з його протизапальними властивостями. Отримані в нашому дослідженні результати щодо зниження вмісту TNF- α в клітинах Сасо2, в наслідок стимуляції ЛПС+куркумін, порівняно з клітинами, обробленими ЛПС, вперше повідомляються відповідно до доступних літературних даних. Беручи до уваги, що адгезивні білки відіграють вирішальну роль у рухливості клітин, отримані результати є доказом того, що куркумін може відновлювати вміст окклюдину в кишкових епітеліальних клітинах шляхом придушення запальної реакції та відновлення синтезу окклюдину. Таким чином, вплив куркуміну стимулює регуляторні

шляхи, які пов'язані з інгібуванням запалення та підтримкою функції кишкового бар'єру. Бар'єрна функція кишечника може бути порушена під впливом різних токсикантів, які спроможні активувати про-запальні шляхи. Враховуючи отримані результати можна передбачити, що куркумін є потенціальним цитопротекторним засобом проти ефектів подібних токсикантів.

Підтверджено, що про-запальні цитокіни є ініціаторами як антимікробної запальної відповіді, так і різного роду ушкоджень, що супроводжуються надмірним виробництвом цитокінів (Meyer et al., 2023). Здоров'я кишечника та бар'єрна функція тонкої кишки опосередкована кількістю білків щільного з'єднання, де окклюдин є ключовим мембранним білком для підтримки функції епітеліального бар'єру (Kaminsky et al., 2021). Зниження вмісту окклюдину вважається однією з найбільш критичних аномалій при кишкових захворюваннях (Huang et al., 2023). Таким чином, спостережуване в нашому дослідженні зниження вмісту окклюдину демонструє зв'язок між прозапальною регуляцією TNF- α і порушенням цілісності кишкового бар'єру. Крім того, застосування куркуміну відновило вміст окклюдину в ЛПС-стимульованих клітинах Сасо2, що забезпечило підтримку міжклітинних щільних з'єднань та бар'єрну функцію. Результати, отримані нами щодо захисної дії куркуміну щодо підтримки цілісності кишкового бар'єру, представлені вперше.

Зменшення вмісту окклюдину у LPS групі може бути опосередковане прозапальним NF- κ B-залежним шляхом, який пов'язаний із безліччю каскадів клітинної відповіді (Wang et al., 2022). Проте було повідомлено про новий механізм, який може модулювати кишковий бар'єрну функцію за допомогою передачі сигналів мікроРНК (Rawat et al., 2020). Клітини Сасо-2, оброблені IL-1, продукують кілька мікроРНК, які зв'язують мРНК окклюдину і, відповідно, на деякий час інгібують експресію окклюдину. Таким чином, наша гіпотеза повністю відповідає результатам інших досліджень.

Результати, отримані в нашому дослідженні, показали, що вплив куркуміну на епітеліальні Сасо-2 клітини, які не були експоновані ЛПС та/або експоновані ЛПС, були різними. Недостовірні відмінності у життєздатності клітин, вмісті TNF- α та окклюдину визначені в клітинах, які інкубували з куркуміном в дозах 1, 2 та 5 мкМ. Проте, всі вищезазначені параметри були покращені в куркумін+ЛПС-експонованих клітинах ефектом дози куркуміну 5 мкМ (рис. 1-3). Таким чином, застосування куркуміну може мати захисний ефект через зниження регуляції запального цитокіну TNF- α та білка щільних з'єднань окклюдину. Крім того, наявні дані узгоджуються з повідомленими даними про зв'язок між прозапальними змінами та порушенням цілісності кишкового бар'єру (Ge et al., 2020). Крім того, представлені результати підтверджують гіпотезу про передбачувану цитопротекторну дію куркуміну на функціонування кишечника шляхом підтримки балансу в переключенні одних типів програмованої загибелі клітин на інші (Nedzvetsky et al., 2021).

Висновки

Результати показали, що водорозчинний куркумін пригнічує продукцію прозапального TNF- α у клітинах кишечника, стимульованих ЛПС. Застосування куркуміну покращує життєздатність клітин і вміст оклюдину в клітинах Caco-2 за умов ЛПС-індукованого запалення. Цитопротекторний ефект куркуміну може бути пов'язаний із диференційованою стимуляцією регуляторних шляхів, що контролюють синтез прозапальних цитокінів, зокрема TNF- α .

Отримані дані свідчать про потенціал куркуміну для відновлення кишкового бар'єру після запальних ушкоджень. Його використання як дієтичної добавки може бути перспективним для захисту здоров'я кишечника продуктивних тварин від різних шкідливих факторів.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори повідомляють про відсутність будь якого конфлікту інтересів у даній роботі.

References

- Azimirad, M., Noori, M., Azimirad, F., Gholami, F., Naseri, K., Yadegar, A., Asadzadeh Aghdaei, H., & Zali, M. R. (2022). Curcumin and capsaicin regulate apoptosis and alleviate intestinal inflammation induced by *Clostridioides difficile* in vitro. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 21(1), 41. DOI: 10.1186/s12941-022-00533-3.
- Baptistella, M. M., Assunção, R. R. S., Sales de Oliveira, C., Siqueira, A. P., Gonçalves Dos Santos, E., de Freitas Silva, M., Lima, E. T. F., Caixeta, E. S., Novaes, R. D., Ferreira, E. B., Ionta, M., Viegas, C., Jr, & Francielli de Oliveira, P. (2024). A synthetic resveratrol-curcumin hybrid derivative exhibits chemopreventive effects on colon pre-neoplastic lesions by targeting Wnt/ β -catenin signaling, anti-inflammatory and antioxidant pathways. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 76(5), 479–488. DOI: 10.1093/jpp/rgad077.
- Chen, G., Ran, X., Li, B., Li, Y., He, D., Huang, B., Fu, S., Liu, J., & Wang, W. (2018). Sodium Butyrate Inhibits Inflammation and Maintains Epithelium Barrier Integrity in a TNBS-induced Inflammatory Bowel Disease Mice Model. *EBioMedicine*, 30, 317–325. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.03.030.
- Demir, E., Nedzvetzky, V. S., Ağca, C. A., & Kirici, M. (2020). Pristine C60 Fullerene Nanoparticles Ameliorate Hyperglycemia-Induced Disturbances via Modulation of Apoptosis and Autophagy Flux. *Neurochemical research*, 45(10), 2385–2397. DOI: 10.1007/s11064-020-03097-w.
- Di Tommaso, N., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R. (2021). Intestinal Barrier in Human Health and Disease. *International journal of environmental research and public health*, 18(23), 12836. DOI: 10.3390/ijerph182312836.
- Di Vincenzo, F., Del Gaudio, A., Petito, V., Lopetuso, L. R., & Scaldaferri, F. (2024). Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Internal and emergency medicine*, 19(2), 275–293. DOI: 10.1007/s11739-023-03374-w.
- Gan, Z., Wei, W., Wu, J., Zhao, Y., Zhang, L., Wang, T., & Zhong, X. (2019). Resveratrol and Curcumin Improve Intestinal Mucosal Integrity and Decrease m6A RNA Methylation in the Intestine of Weaning Piglets. *ACS omega*, 4(17), 17438–17446. DOI: 10.1021/acsomega.9b02236.
- Ge, P., Luo, Y., Okoye, C. S., Chen, H., Liu, J., Zhang, G., Xu, C., & Chen, H. (2020). Intestinal barrier damage, systemic inflammatory response syndrome, and acute lung injury: A troublesome trio for acute pancreatitis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 132, 110770. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110770.
- Geevarghese, A. V., Kasmani, F. B., & Dolatyabi, S. (2023). Curcumin and curcumin nanoparticles counteract the biological and managerial stressors in poultry production: An updated review. *Research in veterinary science*, 162, 104958. DOI: 10.1016/j.rvsc.2023.104958.
- Gieryńska, M., Szulc-Dąbrowska, L., Struzik, J., Mielcarska, M. B., & Gregorczyk-Zboroch, K. P. (2022). Integrity of the intestinal barrier: the involvement of epithelial cells and microbiota - a mutual relationship. *Animals (Basel)*, 12(2), 145. DOI: 10.3390/ani12020145.
- Guo, Y., Wu, R., Gaspar, J. M., Sargsyan, D., Su, Z. Y., Zhang, C., Gao, L., Cheng, D., Li, W., Wang, C., Yin, R., Fang, M., Verzi, M. P., Hart, R. P., & Kong, A. N. (2018). DNA methylome and transcriptome alterations and cancer prevention by curcumin in colitis-accelerated colon cancer in mice. *Carcinogenesis*, 39(5), 669–680. DOI: 10.1093/carcin/bgy043.
- Han, S. H., Lee, H. D., Lee, S., & Lee, A. Y. (2024). *Taraxacum coreanum* Nakai extract attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and intestinal barrier dysfunction in Caco-2 cells. *Journal of ethnopharmacology*, 319(Pt 1), 117105. DOI: 10.1016/j.jep.2023.117105.
- Heimesaat, M. M., Mousavi, S., Lobo de Sá, F. D., Peh, E., Schulzke, J. D., Bücker, R., Kittler, S., & Bereswill, S. (2024). Oral curcumin ameliorates acute murine campylobacteriosis. *Frontiers in immunology*, 15, 1363457. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1363457.
- Huang, Y., Su, Y., Qin, R., Wang, L., Zhang, Z., Huang, W., Fan, X., Yao, Y., & Wang, H. (2023). Mechanism by which oleracein E alleviates TNBS-induced ulcerative colitis. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 35(8), 854–864. DOI: 10.1097/MEG.0000000000002597.
- Kaminsky, L. W., Al-Sadi, R., & Ma, T. Y. (2021). IL-1 β and the Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier. *Frontiers in immunology*, 12, 767456. DOI: 10.3389/fimmu.2021.767456.
- Kotha, R. R., & Luthria, D. L. (2019). Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules (Basel)*, 24(16), 2930. DOI: 10.3390/molecules24162930.
- Lei, F., Zeng, F., Yu, X., Deng, Y., Zhang, Z., Xu, M., Ding, N., Tian, J., & Li, C. (2023). Oral hydrogel nanoemulsion co-delivery system treats inflammatory bowel disease via anti-inflammatory and promoting

- intestinal mucosa repair. *Journal of nanobiotechnology*, 21(1), 275. DOI: 10.1186/s12951-023-02045-4.
- Lin, Y., Liu, H., Bu, L., Chen, C., & Ye, X. (2022). Review of the Effects and Mechanism of Curcumin in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in pharmacology*, 13, 908077. DOI: 10.3389/fphar.2022.908077.
- Liu, X., Guan, P. Y., Yu, C. T., Yang, H., Shan, A. S., & Feng, X. J. (2022). Curcumin alleviated lipopolysaccharide-induced lung injury via regulating the Nrf2-ARE and NF- κ B signaling pathways in ducks. *Journal of the science of food and agriculture*, 102(14), 6603–6611. DOI: 10.1002/jsfa.12027.
- Lobo de Sá, F. D., Butkevych, E., Natramilarasu, P. K., Fromm, A., Mousavi, S., Moos, V., Golz, J. C., Stingl, K., Kittler, S., Seinige, D., Kehrenberg, C., Heimesaat, M. M., Bereswill, S., Schulzke, J. D., & Bücker, R. (2019). Curcumin Mitigates Immune-Induced Epithelial Barrier Dysfunction by *Campylobacter jejuni*. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4830. DOI: 10.3390/ijms20194830.
- Markwell, M. A., Haas, S. M., Bieber, L. L., & Tolbert, N. E. (1978). A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Analytical biochemistry*, 87(1), 206–210. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90586-9.
- Masiuk, D. M., Kokariyev, A. V., Buzoianu, S. G., Firth, A. M., & Nedzvetsky, V. S. (2024). An isotonic protein solution favorably modulated the porcine intestinal immune response and cellular adhesion markers and reduced PEDV shedding in vivo. *Vet Immunol Immunopathol*, 271, 110753. DOI: 10.1016/j.vetimm.2024.110753.
- Masiuk, D. M., Nedzvetsky, V. S., & Baydas, G. (2025). Muramyl peptide blend ameliorates intestinal inflammation and barrier integrity in Caco-2 cells. *Karbala International Journal of Modern Science*, 11(1), 7. DOI: 10.33640/2405-609X.3389.
- Meyer, F., Wendling, D., Demougeot, C., Prati, C., & Verhoeven, F. (2023). Cytokines and intestinal epithelial permeability: A systematic review. *Autoimmunity reviews*, 22(6), 103331. DOI: 10.1016/j.autrev.2023.103331.
- Miner-Williams, W. M., & Moughan, P. J. (2016). Intestinal barrier dysfunction: implications for chronic inflammatory conditions of the bowel. *Nutrition research reviews*, 29(1), 40–59. DOI: 10.1017/S0954422416000019.
- Mohajeri, M., Behnam, B., Cicero, A. F. G., & Sahebkar, A. (2018). Protective effects of curcumin against aflatoxicosis: A comprehensive review. *Journal of cellular physiology*, 233(4), 3552–3577. DOI: 10.1002/jcp.26212.
- Nedzvetsky, V. S., Agca, C. A., & Baydas, G. (2020). The peptidoglycan fraction enriched with muramyl pentapeptide from *Lactobacillus bulgaricus* inhibits glioblastoma U373MG cell migration capability and upregulates parp1 and NF- κ B levels. *Biotechnol Acta*, 13(2), 65–79. DOI: 10.15407/biotech13.02.065.
- Nedzvetsky, V. S., Gasso, V. Y., Agca, C. A., & Sukharrenko, E. V. (2021). Soluble curcumin ameliorates motility, adhesiveness and abrogate parthanatos in cadmium-exposed retinal pigment epithelial cells. *Biosystems Diversity*, 29(3), 235–243. DOI: 10.15421/012129.
- Oskouie, M. N., Aghili Moghaddam, N. S., Butler, A. E., Zamani, P., & Sahebkar, A. (2019). Therapeutic use of curcumin-encapsulated and curcumin-primed exosomes. *Journal of cellular physiology*, 234(6), 8182–8191. DOI: 10.1002/jcp.27615.
- Rathinam, V. A. K., Zhao, Y., & Shao, F. (2019). Innate immunity to intracellular LPS. *Nature immunology*, 20(5), 527–533. DOI: 10.1038/s41590-019-0368-3.
- Rawat, M., Nighot, M., Al-Sadi, R., Gupta, Y., Viszwapriya, D., Yochum, G., Koltun, W., & Ma, T. Y. (2020). IL1B Increases Intestinal Tight Junction Permeability by Up-regulation of MIR200C-3p, Which Degrades Occludin mRNA. *Gastroenterology*, 159(4), 1375–1389. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.06.038.
- Sánchez de Medina, F., Romero-Calvo, I., Mascaraque, C., & Martínez-Augustin, O. (2014). Intestinal inflammation and mucosal barrier function. *Inflammatory bowel diseases*, 20(12), 2394–2404. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000204.
- Sittipo, P., Anggradita, L. D., Kim, H., Lee, C., Hwang, N. S., Lee, Y. K., & Hwang, Y. (2024). Cell Surface Modification-Mediated Primary Intestinal Epithelial Cell Culture Platforms for Assessing Host-Microbiota Interactions. *Biomaterials research*, 28, 0004. DOI: 10.34133/bmr.0004.
- Stephens, M., & von der Weid, P. Y. (2020). Lipopolysaccharides modulate intestinal epithelial permeability and inflammation in a species-specific manner. *Gut microbes*, 11(3), 421–432. DOI: 10.1080/19490976.2019.1629235.
- Suzuki, T. (2020). Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, 91(1), e13357. DOI: 10.1111/asj.13357.
- Tamchuk, L. M. (2023). The changes in microbiome key taxa content of broiler chickens' duodenal induced by fatty acids blend supplement. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 11(4), 27–33. DOI: 10.32819/2023.11020.
- Váradi, J., Harazin, A., Fenyvesi, F., Réti-Nagy, K., Gogolák, P., Vámosi, G., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vasvári, G., Róka, E., Haines, D., Deli, M. A., & Vecsernyés, M. (2017). Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone Protects against Cytokine-Induced Barrier Damage in Caco-2 Intestinal Epithelial Monolayers. *PloS one*, 12(1), e0170537. DOI: 10.1371/journal.pone.0170537.
- Wang, J. W., Pan, Y. B., Cao, Y. Q., Wang, C., Jiang, W. D., Zhai, W. F., & Lu, J. G. (2020). Loganin alleviates LPS-activated intestinal epithelial inflammation by regulating TLR4/NF- κ B and JAK/STAT3 signaling pathways. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 36(4), 257–264. DOI: 10.1002/kjm2.12160.
- Wang, Z., Wang, Q., Gong, L., Liu, T., Wang, P., Yuan, Z., & Wang, W. (2022). The NF- κ B-Regulated miR-221/222/Syndecan-1 Axis and Intestinal Mucosal Barrier Function in Radiation Enteritis. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 113(1), 166–176. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.01.006.
- Witika, B. A., Makoni, P. A., Matafwali, S. K., Mweetwa, L. L., Shandele, G. C., & Walker, R. B. (2021). Enhancement of Biological and Pharmacological Proper-

- ties of an Encapsulated Polyphenol: Curcumin. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(14), 4244. DOI: 10.3390/molecules26144244.
- Wu, X. X., Huang, X. L., Chen, R. R., Li, T., Ye, H. J., Xie, W., Huang, Z. M., & Cao, G. Z. (2019). Paeoniflorin Prevents Intestinal Barrier Disruption and Inhibits Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation in Caco-2 Cell Monolayers. *Inflammation*, 42(6), 2215–2225. DOI: 10.1007/s10753-019-01085-z.
- Xu, J., Liang, R., Zhang, W., Tian, K., Li, J., Chen, X., Yu, T., & Chen, Q. (2020). Faecalibacterium prausnitzii-derived microbial anti-inflammatory molecule regulates intestinal integrity in diabetes mellitus mice via modulating tight junction protein expression. *Journal of diabetes*, 12(3), 224–236. DOI: 10.1111/1753-0407.12986.
- Yan, Z., Niu, L., Wang, S., Gao, C., & Pan, S. (2024). Intestinal Piezo1 aggravates intestinal barrier dysfunction during sepsis by mediating Ca²⁺ influx. *Journal of translational medicine*, 22(1), 332. DOI: 10.1186/s12967-024-05076-z.
- Yang, H., Yu, C., Yin, Z., Guan, P., Jin, S., Wang, Y., & Feng, X. (2023). Curcumin: a potential exogenous additive for the prevention of LPS-induced duck ileitis by the alleviation of inflammation and oxidative stress. *Journal of the science of food and agriculture*, 103(3), 1550–1560. DOI: 10.1002/jsfa.12252.
- Yang, Q., Wan, Q., & Wang, Z. (2024). Curcumin mitigates polycystic ovary syndrome in mice by suppressing TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway activation and reducing intestinal mucosal permeability. *Scientific reports*, 14(1), 29848. DOI: 10.1038/s41598-024-81034-5.
- Ye, M., Wang, C., Zhu, J., Chen, M., Wang, S., Li, M., Lu, Y., Xiao, P., Zhou, M., Li, X., & Zhou, R. (2021). An NF-κB-responsive long noncoding RNA, PINT, regulates TNF-α gene transcription by scaffolding p65 and EZH2. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 35(9), e21667. DOI: 10.1096/fj.202002263R.
- Zamanian, M. Y., Alsaab, H. O., Golmohammadi, M., Yumashev, A., Jabba, A. M., Abid, M. K., Joshi, A., Alawadi, A. H., Jafer, N. S., Kianifar, F., & Obakiro, S. B. (2024). NF-κB pathway as a molecular target for curcumin in diabetes mellitus treatment: Focusing on oxidative stress and inflammation. *Cell biochemistry and function*, 42(4), e4030. DOI: 10.1002/cbf.4030.
- Zhang, L. M., Xin, Y., Song, R. X., Zheng, W. C., Hu, J. S., Wang, J. X., Wu, Z. Y., & Zhang, D. X. (2023). CORM-3 alleviates the intestinal injury in a rodent model of hemorrhage shock and resuscitation: roles of GFAP-positive glia. *Journal of molecular histology*, 54(4), 271–282. DOI: 10.1007/s10735-023-10133-w.
- Zhang, Y. J., & Wu, Q. (2021). Sulforaphane protects intestinal epithelial cells against lipopolysaccharide-induced injury by activating the AMPK/SIRT1/PGC-1α pathway. *Bioengineered*, 12(1), 4349–4360. DOI: 10.1080/21655979.2021.1952368.
- Zhong, Y., Tu, Y., Ma, Q., Chen, L., Zhang, W., Lu, X., Yang, S., Wang, Z., & Zhang, L. (2023). Corrigendum: Curcumin alleviates experimental colitis in mice by suppressing necroptosis of intestinal epithelial cells. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1240661. DOI: 10.3389/fphar.2023.1240661.
- Zhu, H., Wang, X., Wang, X., Liu, B., Yuan, Y., & Zuo, X. (2020). Curcumin attenuates inflammation and cell apoptosis through regulating NF-κB and JAK2/STAT3 signaling pathway against acute kidney injury. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 19(15), 1941–1951. DOI: 10.1080/15384101.2020.1784599.