

دوزهای مختلف کورکومین بر پارامترهای اسپرم و میزان استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش مدل پیری القا شده با دی گالاکتوز

مهديه يوسفی طبّا (MSc)^۱، شبنم محمدی (PhD)^{۲*}، مهدی جلالی (PhD)^۱، فریمه بهشتی (PhD)^۳

۱- گروه علوم تشریح و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- مرکز تحقیقات التهاب نوروزنیک، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

دریافت: ۹۷/۴/۳۰، اصلاح: ۹۷/۹/۳، پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: پیری با کاهش ترشح هورمون تستوسترون و القاء آپوپتوز در بیضه همراه است. هدف از این تحقیق بررسی اثرات کورکومین ماده موثره گیاه زردچوبه بر کیفیت اسپرم و میزان استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش مدل پیری القا شده با دی گالاکتوز می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش نژاد بلب سی بطور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی کنترل، شم، دی گالاکتوز و کورکومین ۱ تا ۳ تقسیم شدند. به گروه دی گالاکتوز mg/kg ۳۰۰ دی گالاکتوز و به گروه کورکومین ۱ تا ۳ علاوه بر دی گالاکتوز دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و mg/kg ۲۵ کورکومین به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز تزریق شد. سپس میزان استرس اکسیداتیو بر اساس پارامترهای بیوشیمیایی و آنالیز اسپرم بر طبق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی در روز ۴۲ آزمایش بررسی شد. **یافته ها:** میانگین تعداد اسپرم در گروه کنترل ($4/17 \pm 0/84$) بود در حالیکه پس از دریافت mg/kg ۳۰۰ از دی گالاکتوز به صورت معنی داری کاهش یافت ($3/06 \pm 0/86$). پارامترهای اسپرم در گروههای دریافت کننده کورکومین نسبت به گروه دی گالاکتوز افزایش معنی داری داشت ($P < 0/05$). افزایش معنی داری در سطح تیول و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه کورکومین ۳ نسبت به گروه دی گالاکتوز ($P \leq 0/001$) و کاهش معنی داری در سطح آنزیم کاتالاز و مالون دی آلدئید در گروه دی گالاکتوز نسبت به گروه کورکومین ۱، کورکومین ۲ و کورکومین ۳ مشاهده گردید ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز کورکومین به مدت ۲ هفته باعث بهبود پارامترهای اسپرم و کاهش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه موش مدل پیری القا شده با دی گالاکتوز می شود.

واژه های کلیدی: کورکومین، پیری، اسپرم، موش.

مقدمه

رادیكالهای آزاد تولید شده، نمی باشد لذا استرس اکسیداتیو در بافت ها ایجاد می شود که منجر به بیماری های مختلف می گردد (۱و۲). از سوی دیگر مطالعات نشان داده که فرآیند پیری با ایجاد اختلال در عملکرد سیستم ایمنی، کاهش ترشح هورمونهای جنسی و القاء آپوپتوز همراه است. کورکومین از جمله پلی فنل های طبیعی و ماده موثره ریشه گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) است که رنگ زرد- نارنجی زردچوبه به خاطر وجود آن می باشد. مطالعات نشان می دهد که کورکومین دارای قدرت آنتی اکسیدانی قوی می باشد و در انسان اثر سمی برای آن گزارش نشده است (۳). به علاوه، کورکومین دارای خاصیت ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد دیابتی می باشد (۴و۵). این ماده باعث بهبود سطح سرمی تستوسترون، تعداد و تحرک اسپرم در موش های تحت درمان با مترونیدازول

فرآیند پیری پدیده بیولوژیکی است که با گذشت زمان به تدریج کارایی بسیاری از اعمال فیزیولوژیک بدن و ظرفیت هموستاز بدن کاهش می یابد و مواد آسیب رسان در سلول تجمع می یابند. با افزایش سن، کاهش ترشح هورمون تستوسترون، کاهش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن به همراه افزایش آپوپتوز و افزایش سطح رادیكالهای آزاد مشاهده می گردد (۱و۲). پدیده پیری بر دستگاههای مختلف بدن از جمله سیستم عصبی، ادراری و تناسلی اثر می گذارد. عوامل متفاوتی نظیر شرایط محیطی و تغذیه در روند این پروسه تاثیر بسزایی دارند. بیش از ۳۰۰ تئوری برای فرآیند پیری ارائه شده است که بسیاری از آنها با هم همپوشانی دارند. از جمله شاخص ترین آنها تئوری رادیكالهای آزاد می باشد که در این تئوری مطرح می شود طی پدیده پیری، سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن قادر به خنثی کردن همه

این مقاله حاصل پایان نامه مهديه يوسفی طبّا دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۵۱۴۴۵ دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر شبنم محمدی

آدرس: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات التهاب نوروزنیک. تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۰۲۴۵۹

E-mail: mohammadish@mums.ac.ir

شده است (۶). Cheraghi و همکاران اثرات محافظتی کورکومین در برابر سمیت حاد آلومینیوم در سیستم تناسلی رت‌های نر را گزارش کردند (۷). کورکومین باعث محافظت بیضه و بهبود کیفیت سیمن در برابر اثرات اکسیداتیو ناشی از دی فتالات شد (۸). در مطالعه دیگری ۲۰ میکرومول کورکومین باعث بهبود تحرک اسپرم و افزایش سطح هورمون FSH پس از در معرض قرار گیری با لامپ فلورسنت به مدت ۴۵ روز گردید (۹).

تجویز ۵ میکرومول کورکومین در محیط *in vitro* باعث افزایش تحرک، قابلیت زنده ماندن و یکپارچگی غشا اسپرم شد (۱۰). Liao و همکاران نیز افزایش ۴۰٪ در طول عمر *C. Elegans* و کاهش رنگدانه های لیپوفوشین به واسطه تجویز ۲۰Mm کورکومین مشاهده کردند (۱۱). با توجه به اهمیت فرآیند پیری و تاثیر آن بر سیستمهای بیولوژیکی مختلف بدن، مطالعه بر روی عواملی که می توانند اثرات محافظتی در این فرآیند داشته باشند، ضروری به نظر می رسد. از آنجائیکه تاکنون مطالعه ای در مورد اثرات حفاظتی کورکومین بر روند پیری در دستگاه تولید مثل نر صورت نگرفته است. در این مطالعه از مدل پیری ایجاد شده با D-گالاکتوز که یکی از پذیرفته ترین روشها برای ایجاد پیری در مدل های حیوانی می باشد، استفاده شد (۱۲). هدف از تحقیق حاضر بررسی اثرات دوزهای مختلف کورکومین بر پارامترهای اسپرم و میزان استرس اکسیداتیو در موش مدل پیری القا شده با دی گالاکتوز می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد IR.MUMS.fm.REC.۱۳۹۶.۴۶۶، ۴۸ سر موش نر بالغ نژاد بальبی سی از خانه حیوانات دانشکده پزشکی تهیه و در شرایط استاندارد (دمای اتاق ۲۲±۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰±۵ درصد، سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. حیوانات در طول مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موشها بطور تصادفی به شش گروه (کنترل، شم، دی گالاکتوز- کورکومین ۱ تا ۳) تقسیم شدند. گروه کنترل تزریقی دریافت نکرد. گروه شم حلال دی گالاکتوز (نرمال سالین + DMSO) را به صورت داخل صفاقی دریافت کرد. گروه دی گالاکتوز ۳۰۰ mg/kg دی گالاکتوز به مدت ۶ هفته و به صورت داخل صفاقی دریافت کرد. گروه کورکومین ۱ (دی گالاکتوز + ۲۵ mg/kg کورکومین)، گروه کورکومین ۲ (دی گالاکتوز + ۵۰ mg/kg کورکومین) و گروه کورکومین ۳ (دی گالاکتوز + ۱۰۰ mg/kg کورکومین) را به صورت داخل صفاقی و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند (۱۳و۱۴). سپس آنالیز اسپرم و سطح استرس اکسیداتیو در روز ۴۲ آزمایش بررسی گردید. با توجه به اینکه ۴۲ روز زمان لازم بود تا مدل پیری ایجاد شود روز ۴۲ برای نمونه گیری انتخاب شد.

بررسی کیفیت اسپرم: به منظور بررسی پارامترهای اسپرم، بعد از ۴۲ روز، قطعات خرد شده اپیدیدیم در نرمال سالین قرار گرفت و به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در انکوباتور CO₂ قرار داده شد. سپس تحرک، تعداد اسپرم و مرفولوژی اسپرم براساس دستورالعمل WHO بررسی شد. به علاوه برای بررسی قابلیت زنده ماندن اسپرمها از رنگ آمیزی حیاتی اتونژین β استفاده گردید (۱۴و۱۵).

اندازه گیری سطح گروههای تیول: به ۵۰ میکرولیتر از محلول هموژن بافت بیضه بافر تریس اضافه و جذب در ۴۱۲ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده

شد (A1). سپس ۲۰ میکرولیتر معرف دی تیو نیترو بنزوئیک اسید افزوده شد و پس از ۱۵ دقیقه انکوبه در دمای اتاق، جذب آن مجدداً در ۴۱۲ نانومتر بررسی شد (A2). میزان جذب بلانک به عنوان B در نظر گرفته شده، با فرمول زیر غلظت تیول بر حسب میکرومول بر گرم محاسبه شد (۱۶).

$$(A2-A1-B) \times 1.07/0.05 \times 13.6$$

اندازه گیری سطح مالون دی آلدئید: ۱ میلی لیتر از محلول هموژن بافت بیضه با تری کلرواستیک اسید اسید کلریدریک مخلوط و ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن، با دوز ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شده و جذب آن در ۵۲۲ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شده و غلظت مالون دی آلدئید بر حسب نانومول بر گرم محاسبه گردید (۱۶).

اندازه گیری سطح آنزیم کاتالاز: به طور خلاصه، ۳۰ مولار پراکسید هیدروژن به نمونه بافتی هموژن در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار افزوده شد. سپس نمونه داخل دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید (۱۷).

اندازه گیری سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: اندازه گیری این آنزیم با استفاده از روش madesh و همکاران صورت پذیرفت. پس از هموژن کردن بافت در بافر فسفات سالین ۱۰ میلی مولار در pH=۷/۴، محلول استاندارد آنزیم با غلظت‌های مختلف تهیه و منحنی استاندارد رسم گردید. در ادامه، ۶۵ میکرولیتر بافر فسفات سالین، ۳۰ میکرولیتر (MTT ۱/۲۵ میلی مول) و ۷۵ میکرولیتر پیروگال (۱۰۰ میکرو مول) با ۱۰ میکرولیتر هموژن بافتی مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. بعد از آن ۷۵ میکرولیتر دی متیل سولفید اکسید اضافه شده و جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا خوانده شد (۱۸). **آنالیز آماری:** داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

یافته های پارامترهای اسپرم: میانگین تعداد اسپرم بر حسب میلیون بر میلی لیتر در گروه کنترل (۴/۱۷±۰/۸۴) بود در حالیکه پس از دریافت ۳۰۰ mg/kg از دی گالاکتوز تعداد اسپرم به صورت معنی داری کاهش یافت (۳/۰۶±۰/۸۶). تعداد اسپرم در تمام گروه های دریافت کننده کورکومین ($P \leq 0.001$) نسبت به گروه دی گالاکتوز افزایش معنی داری داشت (جدول ۱). آنالیز آماری تفاوت معنی داری بین تعداد اسپرم در گروه های مختلف دریافت کننده کورکومین نشان نداد ($P < 0.05$). میانگین درصد تحرک اسپرم در گروه کنترل (۸۲/۵±۹/۷۲) بود در حالیکه پس از دریافت دی گالاکتوز به صورت معنی داری کاهش یافت (۵۱/۲۵±۱۲/۵۱). آنالیز آماری تفاوت معنی داری بین تحرک اسپرم در گروه کورکومین ۱ ($P \leq 0.001$)، گروه کورکومین ۲ ($P \leq 0.001$)، گروه کورکومین ۳ ($P \leq 0.001$)، نسبت به گروه دی گالاکتوز نشان داد. کمترین میزان تحرک در گروه دی گالاکتوز مشاهده شد (۵۱/۲۵٪) و بالاترین میزان تحرک در بین گروه‌های دریافت کننده کورکومین در گروه کورکومین ۳ مشاهده شد (۸۱/۵٪). تزریق دی گالاکتوز منجر به کاهش معنی داری در میزان مرفولوژی طبیعی اسپرم نسبت به گروه کنترل گردید ($P = 0.001$) به طوری که از ۶۲/۷۷±۸۲/۷۵ به ۵۳/۱۲±۶۱/۷۵ رسید. تجویز کورکومین در هر سه دوز این

شد. افزایش معنی داری در سطح تیول گروه کورکومین ۳ ($p=0/000$) نسبت به گروه‌های دی گالاکتوز ($p\leq 0/001$)، کورکومین ۱ ($p\leq 0/001$) و کورکومین ۲ ($p\leq 0/001$) مشاهده شد (نمودار ۱).

یافته های میزان سطح مالون دی آلدئید (MDA): میانگین میزان مالون دی آلدئید در گروه کنترل $0/52 \pm 0/17$ نانومول/گرم بود در حالیکه در گروه دی گالاکتوز به $1/55 \pm 0/29$ افزایش یافت. آزمون آماری تفاوت معنی داری بین میانگین سطح مالون دی آلدئید در گروه دی گالاکتوز ($p\leq 0/001$)، گروه کورکومین ۱ ($p=0/001$) و گروه کورکومین ۲ ($p=0/002$) نسبت به گروه کنترل و شم نشان داد. به علاوه، تفاوت معنی داری در گروه‌های کورکومین ۱ ($p=0/001$)، کورکومین ۲ ($p=0/006$) و کورکومین ۳ ($p\leq 0/001$) نسبت به گروه دی گالاکتوز مشاهده شد (نمودار ۲).

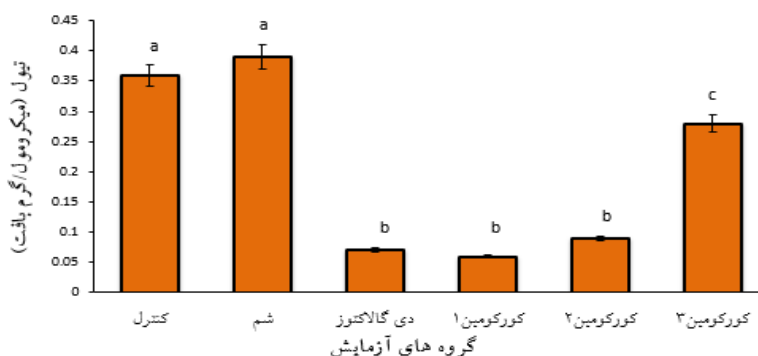
کاهش را جبران نموده و منجر به افزایش معنی دار درصد مرفولوژی طبیعی اسپرم نسبت به گروه دی گالاکتوز گردید ($p<0/05$). در بین گروه‌های دریافت کننده کورکومین بیشترین درصد مرفولوژی طبیعی اسپرم ($80/5\%$) در گروه دریافت کننده دوز 50 mg/kg بدست آمد. آنالیز آماری تفاوت معنی داری بین درصد زنده ماندن اسپرم در گروه کورکومین ۱ ($p=0/008$)، گروه کورکومین ۲ ($p=0/006$)، گروه کورکومین ۳ ($p=0/001$)، گروه کنترل ($p\leq 0/001$) و گروه شم ($p=0/001$) نسبت به گروه دی گالاکتوز نشان داد. با تجویز 100 mg/kg از کورکومین بیشترین میزان درصد زنده ماندن ($82/25\%$) مشاهده گردید.

یافته های میزان سطح تیول: تفاوت معنی داری بین میانگین سطح تیول در گروه دی گالاکتوز ($p\leq 0/001$)، گروه کورکومین ۱ ($p\leq 0/001$)، گروه کورکومین ۲ ($p\leq 0/001$) و گروه کورکومین ۳ ($p=0/003$) نسبت به گروه کنترل و شم مشاهده

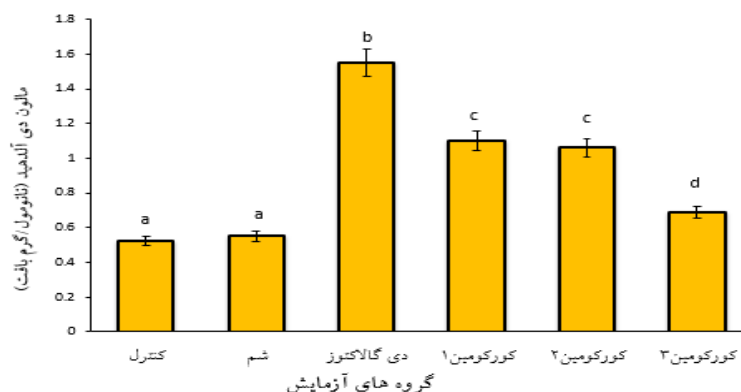
جدول ۱. اثر تجویز کورکومین بر پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک، مرفولوژی و زنده ماندن) در گروه های مختلف مورد مطالعه

گروه	تعداد اسپرم (میلیون/میلی لیتر)	تحرک اسپرم (%) Mean±SD	مرفولوژی طبیعی اسپرم (%) Mean±SD	قابلیت زنده ماندن اسپرم (%) Mean±SD
کنترل	$4/17 \pm 0/84^{\#}$	$82/5 \pm 9/72^{\#}$	$82/75 \pm 7/22^{\#}$	$85/75 \pm 7/22^{\#}$
شم	$4/1 \pm 0/63^{\#}$	$82/5 \pm 8/79^{\#}$	$83/37 \pm 7/4^{\#}$	$82/12 \pm 8/64^{\#}$
دی گالاکتوز	$3/06 \pm 0/86^*$	$51/25 \pm 12/51^*$	$61/75 \pm 12/53^*$	$61/75 \pm 15/39^*$
کورکومین ۱	$4/74 \pm 0/53^{\#}$	$77/87 \pm 11/48^{\#}$	$78/25 \pm 6/6^{\#}$	$79 \pm 8/64^{\#}$
کورکومین ۲	$4/61 \pm 0/39^{\#}$	$78 \pm 11/92^{\#}$	$80/5 \pm 10/12^{\#}$	$79/62 \pm 6/47^{\#}$
کورکومین ۳	$4/58 \pm 0/58^{\#}$	$81/5 \pm 10/86^{\#}$	$77/5 \pm 10/3^{\#}$	$82/25 \pm 7/4^{\#}$

($p<0/05$): تفاوت معنی دار با گروه کنترل در همان ستون، ($p<0/05$): تفاوت معنی دار با گروه دی گالاکتوز در همان ستون



نمودار ۱. مقایسه سطح تیول در بافت بیضه گروه‌های مختلف آزمایش



نمودار ۲. مقایسه سطح مالون دی آلدئید (MDA) در بافت بیضه گروه‌های مختلف آزمایش

به دوز بود. لذا آنتی اکسیدان ها شمشیر دو لبه هستند که دوز و زمان مناسب آنها اثرات مطلوبی داشته در صورتی که انتخاب دوز و مدت زمان نامناسب، اثرات معکوسی را به دنبال دارد (۲۰). Tvrdá و همکاران مشاهده کردند که دوزهای مختلف کورکومین در محیط *in vitro* باعث جلوگیری از استرس اکسیداتیو و مهار رادیکالهای آزاد در گامت نر گاو می شود (۲۱). تجویز خوراکی ۱۰۰ mg/kg کورکومین به مدت ۲۸ روز اثرات سمی حشره کش ایمیداکلوپراید را کاهش داد و باعث بهبود پارامترهای اسپرم، مارکرهای استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستوپاتولوژیکی بیضه در گروه درمان شده با کورکومین شد (۲۲).

در مطالعه حاضر تفاوت واضحی در سطح تیول و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰mg/kg کورکومین نسبت به گروه دی گالاتوز مشاهده شد. به علاوه، سطح آنزیم کاتالاز و مالون دی آلدئید در گروه دی گالاتوز نسبت به گروه های دریافت کننده کورکومین کاهش چشمگیری یافت. نتایج یک تحقیق نشان داد که پیش درمان با کورکومین باعث کاهش درصد مرفولوژی غیر طبیعی اسپرم و سطح سرمی تیوبارینتوریک اسید در موشهای دریافت کننده مترونیازول و ۵/۰ گرمی اشعه ایکس شده و سطح آنزیم های گلوکاتینون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می دهد (۲۳). نتایج مطالعه Chandra و همکاران نشان داد که در گروه تحت درمان با کورکومین هیستوپاتولوژی بیضه، تعداد اسپرم، سطح هورمون تستوسترون، اندکس بیضه و سطح سوپراکسید دیسموتاز نسبت به گروه کرومیوم بهبود یافت (۲۴). سازگار با این مطالعات، نتایج تحقیق ما نیز نشان داد که دوز مناسب کورکومین باعث بهبود پارامترهای اسپرم و افزایش سطح آنتی اکسیدانهای سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می شود. به علاوه، سطح مالون دی آلدئید را به طور چشمگیری کاهش می دهد.

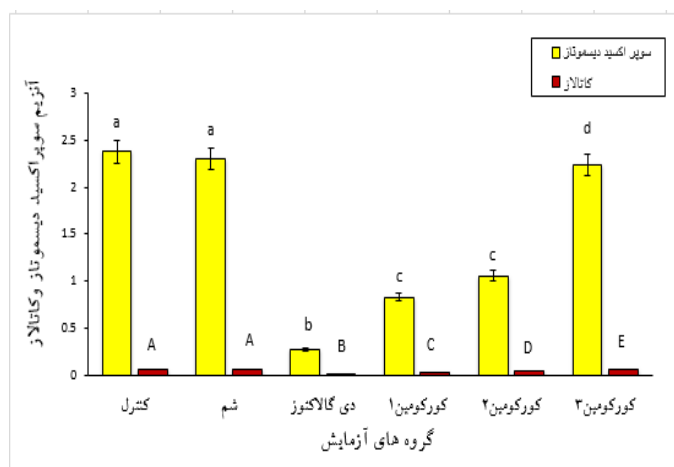
تجویز ۲۰۰mg/kg کورکومین نیز، اثرات محافظتی بر سمیت بیضوی ناشی از دگزامتازون داشت و باعث افزایش بیان ژن Bcl2، بهبود اسپرماتوژنز و هیستوپاتولوژی بیضه گردید (۲۵). بهبود پارامترهای اسپرم، هیستوپاتولوژی بیضه، کاهش سطح مالون دی آلدئید و سلول های تانل مثبت به دنبال تزریق داخل صفاقی ۱۵ mg/kg کورکومین به مدت ۳۵ روز در موشهای در معرض سدیم آرسنیت گزارش شد. به هر حال تغییری در اندکس بیضه در گروههای مورد آزمایش مشاهده نگردید (۲۶).

تجویز ۱۰۰ mg/kg کورکومین به مدت ۴ هفته باعث بهبود در قطر توپول ها، سطح سرمی تستوسترون و کاهش سلولهای آپوپتیک در مقایسه با گروه کادمیوم شد (۱۳). درمان با ۱۰۰ mg/kg کورکومین به مدت ۸ هفته، آسیب بیضه در رت های دیابتی را بهبود بخشید و باعث کاهش سلولهای آپوپتیک در مقایسه با گروه دیابتی شد (۲۷). Mu و همکاران اثرات مثبت کورکومین را بر اختلال اسپرماتوژنز ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا در رت ها گزارش کردند. در گروه دریافت کننده کورکومین کاهش بیان ژنهای آپوپتوتیک و نیز تعداد سلول های تانل مثبت بیضه مشاهده شد (۲۸). در مورد مکانیسم احتمالی اثر کورکومین این طور به نظر می رسد که کورکومین با اثر بر ژن های دخیل در آپوپتوز نظیر ژن های Bax و Bcl2 بر پدیده آپوپتوز اثر می کند (۲۹ و ۴۰).

به علاوه کورکومین با اثر سطح مالون دی آلدئید و سیستم آنتی اکسیدانی بدن منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می شود. در این مطالعه بهتر بود به جای موش مدل پیری، از موش هایی که به طور طبیعی پیر شده اند، استفاده می شد که به علت عدم مهیا بودن شرایط نگهداری این کار ممکن نبود. به علاوه، بهتر بود بیان ژن های

یافته های میزان سطح آنزیم SOD و CAT: میانگین میزان سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه کنترل ۲/۳۸±۰/۳۶ واحد/گرم بود در حالیکه در گروه دی گالاتوز به ۰/۲۳±۰/۲۸ کاهش یافت. آزمون آماری افزایش معنی داری در میانگین سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بین گروه شم و کنترل با گروه دی گالاتوز (p≤۰/۰۰۱)، گروه کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱) و گروه کورکومین ۲ (p≤۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین، افزایش معنی داری بین میانگین سطح سوپراکسید دیسموتاز در گروه کورکومین ۳ با گروه کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱)، گروه کورکومین ۲ (p=۰/۰۰۲) و گروه دی گالاتوز (p≤۰/۰۰۱) مشاهده گردید (نمودار ۳).

میانگین میزان سطح آنزیم کاتالاز در گروه کنترل ۰/۰۶±۰/۰۱ واحد/گرم بود در حالیکه در گروه دی گالاتوز به ۰/۰۱±۰/۰۱ کاهش یافت. آزمون آماری تفاوت معنی داری بین میانگین سطح آنزیم کاتالاز گروه کنترل و شم با گروه دی گالاتوز (p≤۰/۰۰۱)، گروه کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱) و گروه کورکومین ۳ (p≤۰/۰۰۱) نشان داد. همچنین، کاهش معنی داری بین میانگین سطح آنزیم کاتالاز در گروه دی گالاتوز نسبت به گروه کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱)، گروه کورکومین ۲ (p≤۰/۰۰۱) و گروه کورکومین ۳ (p≤۰/۰۰۱) مشاهده گردید. افزایش معنی داری بین میانگین سطح آنزیم کاتالاز در گروه کورکومین ۳ نسبت به کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱) و کورکومین ۲ (p≤۰/۰۰۱) دیده شد. به علاوه، افزایش معنی داری بین میانگین سطح آنزیم کاتالاز در گروه کورکومین ۲ نسبت به کورکومین ۱ (p≤۰/۰۰۱) مشاهده گردید.



نمودار ۳. مقایسه سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در بافت بیضه گروههای مختلف آزمایش

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تجویز کورکومین در هر سه دوز، کاهش پارامتر اسپرم ناشی از تجویز دی گالاتوز را جبران نموده و منجر به افزایش در میزان پارامترهای اسپرم نسبت به گروه دی گالاتوز شد. در روند اسپرماتوژنز موش، بلوغ کامل اسپرماتیدها در ۱۶ مرحله رخ می دهد که طی آن اسپرماتید به اسپرماتوزوای بالغ تبدیل می شود. از آنجا که اسپرم بالغ بعد از ۱۳/۵ روز در لومن توپول های اسپرم ساز ظاهر می شود. لذا در این مطالعه موشها به مدت ۱۴ روز بصورت داخل صفاقی کورکومین دریافت کردند (۱۹). در این مطالعه، اثرات کورکومین روی دستگاه تولید مثلی وابسته

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مشهد جهت حمایت از این تحقیق و همچنین از پرسنل آزمایشگاه مرکزی جناب آقای مهندس فیضی، سر کار خانم ها امامیان، خانم امینی و خانم تاجیک جهت ارائه خدمات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می گردد.

موثر در آپوتوز نیز بررسی می گردید که به محققین برای مطالعات آینده پیشنهاد می گردد. به علاوه، بررسی اثرات نانوکورکومین و دیگر مشتقات اصلاح شده کورکومین توصیه می گردد. تجویز کورکومین به مدت ۱۴ روز باعث بهبود پارامترهای اسپرم و مارکرهای بیوشیمیایی در بافت بیضه مدل حیوانی پیری می شود.

Effect of Different Doses of Curcumin on Sperm Parameters and Oxidative Stress in Testis of D-Galactose Induced Aging Mice Model

M. Yousefi Taba (MSc)¹, Sh. Mohammadi (PhD)^{*2}, M. Jalali (PhD)¹, F. Beheshti(PhD)³

1.Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

2.Neurogenic Inflammation Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

3.Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

J BabolUniv Med Sci; 21; 2019; PP: 53-60

Received: July 21st 2018, Revised: Nov 24th 2018, Accepted: Dec 30th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Aging is accompanied with low concentration of testosterone hormone and apoptosis induction in the testis. The aim of this research was to investigate the effects of different doses of curcumin as the active ingredient of Curcuma Longa Turmeric, on sperm quality and oxidative stress in mice D-galactose-induced aging model.

METHODS: 48 Balb/c mice (n=8) were randomly assigned to 6 groups: control, Sham, D-galactose and Curcumin 1 to 3 groups. 300 mg/kg of D-galactose was injected to D-galactose group. Curcumin 1 to 3 were injected D-galactose + 25, 50 and 100 mg/kg curcumin intraperitoneally. Then, the oxidative stress based on biochemical parameters and sperm analysis according to WHO guideline were evaluated on day 42 of the experiment.

FINDINGS: Mean sperm count in control group was (4.17±0.84) while it reduced after reception of 300 mg/kg D-galactose (3.06±0.86). There was a significant increase in the sperm parameters in Curcumin group compared to the D-galactose group (p<0.05). A significant increase was observed in the level of thiol and superoxide dismutase enzyme in curcumin group 3, compared to the D-galactose group (p≤0.001). Significant decreases in catalase and malondialdehyde enzymes were observed in the D-galactose group, compared to the curcumin 1, curcumin 2 and curcumin 3 groups (p<0.05).

CONCLUSION: Administration of curcumin for 2 weeks improved sperm parameters and decreased oxidative stress in testis of mice D-galactose-induced aging model.

KEY WORDS: Curcumin, Aging, Sperm, Mice.

Please cite this article as follows:

Yousefi Taba M, Mohammadi Sh, Jalali M, Beheshti F. Effect of Different Doses of Curcumin on Sperm Parameters and Oxidative Stress in Testis of D-Galactose Induced Aging Mice Model. J BabolUniv Med Sci. 2019;21: 53-60.

*Corresponding Author: Sh. Mohammadi (PhD)

Address: Neurogenic Inflammation Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R.Iran

Tel: +98 51 38002459

E-mail: mohammadish@mums.ac.ir

References

1. Momtaz S, Abdollahi M. A comprehensive review of biochemical and molecular evidences from animal and human studies on the role of oxidative stress in aging: an epiphenomenon or the cause. *Asian J Anim Vet Adv* 2012;7:1-19.
2. Attari S, Mohammadi Sh, Ebrahimzadeh A, Hosseinzadeh H, Soukhtanloo M, Rajabzadeh A. Effects of thymoquinone on sperm parameters, apoptosis, testosterone level, and oxidative stress in a mouse model of D-galactose-induced aging. *Pharm Sci*. 2018;24(3):180-6.
3. Agarwal ML, Chacko KM, Kuruvilla BT. Systematic and comprehensive investigation of the toxicity of curcuminoid essential oil complex: A bioavailable turmeric formulation. *Mol Med Rep*. 2016;13(1):592-604.
4. Sikora E, Scapagnini G, Barbagallo M. Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases. *Immun Ageing*. 2010;7(1):1.
5. Shen LR, Parnell LD, Ordovas JM, Lai CQ. Curcumin and aging. *Biofactors*. 2013;39(1):133-40.
6. Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Ameliorative effects of curcumin on the spermatozoon tail length, count, motility and testosterone serum level in metronidazole-treated mice. *Prague Med Rep*. 2011;112(4):288-97.
7. Cheraghi E, Golkar A, Roshanaei K, Alani B. Aluminium-Induced Oxidative Stress, Apoptosis and Alterations in Testicular Tissue and Sperm Quality in Wistar Rats: Ameliorative Effects of Curcumin. *Int J Fertil Steril*. 2017;11(3):166-75.
8. Głombik K, Basta-Kaim A, Sikora-Polaczek M, Kubera M, Starowicz G, Styrna J. Curcumin influences semen quality parameters and reverses the di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)-induced testicular damage in mice. *Pharmacol Rep*. 2014;66(5):782-7.
9. Khalaji N, Namyari M, Rasmi Y, Pourjabali M, Chodari L. Protective effect of curcumin on fertility of rats after exposure to compact fluorescent lamps: An experimental study. *Int J Reprod Biomed*. 2018;16(7):447-54.
10. Lee AS, Lee SH, Lee S, Yang BK. Effects of curcumin on sperm motility, viability, mitochondrial activity and plasma membrane integrity in boar semen. *Biomed Sci Lett*. 2017;23:406-10.
11. Liao VH, Yu CW, Chu YJ, Li WH, Hsieh YC, Wang TT. Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Mech Ageing Dev*. 2011;132(10):480-7.
12. Wang W, Li S, Dong HP, Lv S, Tang YY. Differential impairment of spatial and nonspatial cognition in a mouse model of brain aging. *Life Sci*. 2009;85(3):127-35.
13. Aktas C, Kanter M, Erboga M, Ozturk S. Anti-apoptotic effects of curcumin on cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Toxicol Ind Health*. 2012;28(2):122-30.
14. Mohammadi S, Khakbaz M, Shoraka M, Vakil S, Moghimian M, Mohammadzadeh F, et al. Effects of different doses of manganese on lead poisoning in the kidney of adult male mice. *Koomesh*. 2016;18(1):203-10.
15. Mohammadi Sh, Golamin M, Mohammadi M, Mansouri A, Mahmoodian R, Attari S, et al. Down-regulation of CatSper 1 and CatSper 2 genes by lead and mercury. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2018;59:82-6.
16. Adikwu E, Bokolo B. Prospects of N-acetylcysteine and melatonin as treatments for tramadol-induced renal toxicity in albino rats. *Pharm Sci*. 2017;23(3):172-81.
17. Kalantar M, Shirali S, Hasanvand A, Valizadeh M, Tavakoli R, Asadi M, et al. Ameliorative Effects of Hydroalcoholic Extract of *Lavandula officinalis* L. on Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats. *Pharm Sci*. 2017;23(1):18-26.
18. Madesh M, Balasubramanian K. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian J Biochem Biophys*. 1998;35(3):184-8.

19. Tajaddini Sh, Ebrahimi S, Shirinbayan P, Bakhtiari M, Behnam B, Joghataei MT, et al. Protective effects of manganese on the testis structure and sperm parameters of formalin treated mice. *J Isfahan Med Sch.* 2013;31(243):1018-32.
20. Mohammadi S, Safari F, Seyedi Z, Seyed Hosseini E, Karimi F, Mohammadi M, et al. Effect of different doses of N-acetyl cysteine on biochemical and histopathological parameters in kidney of formalin-treated. *J Kerman Univ Med Sci.* 2016;23(5):607-17.
21. Tvrdá E, Tušimová E, Kováčik A, Paál D, Greifová H, Abdramanov A, et al. Curcumin has protective and antioxidant properties on bull spermatozoa subjected to induced oxidative stress. *Anim Reprod Sci.* 2016;172:10-20.
22. Lonare M, Kumar M, Raut S, More A, Doltade S, Badgujar P, et al. Evaluation of Ameliorative Effect of Curcumin on Imidacloprid-Induced Male Reproductive Toxicity in Wistar Rats. *Environ Toxicol* 2016;31:1250–63.
23. Singh S, Das Roy L, Giri S. Curcumin protects metronidazole and X-ray induced cytotoxicity and oxidative stress in male germ cells in mice. *Prague Med Rep.* 2013;114(2):92-102.
24. Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M. Effect of curcumin on chromium-induced oxidative damage in male reproductive system. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2007;24(2):160-6.
25. Khorsandi L, Mirhoseini M, Mohamadpour M, Orazizadeh M, Khaghani S. Effect of curcumin on dexamethasone-induced testicular toxicity in mice. *Pharm Biol.* 2013;51(2):206-12.
26. Momeni HR, Eskandari N. Curcumin inhibits the adverse effects of sodium arsenite in mouse epididymal sperm. *Int J Fertil Steril.* 2016;10(2):245-52.
27. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(9):1578-85.
28. Mu Y, Yan WJ, Yin TL, Yang J. Curcumin ameliorates high fat diet induced spermatogenesis dysfunction. *Mol Med Rep.* 2016;14(4):3588-94.
29. Hamidabadi HG, Nazm Bojnordi M. Co-culture of mouse spermatogonial stem cells with sertoli cell as a feeder layer, stimulates the proliferation and spermatogonial stemness profile. *Mid East Fertil Soc J.* 2018;23(2):107-11.