ORIGINAL ARTICLE

Effect of Curcuma Longa on In Vitro Maturation of Immature Oocytes and Embryonic Development in NMRI Mice

Tahere Golmohammadi[1,]
Nasim hayati roodbari[2,]
Simin mohammady gorji[3,]
Gholamhasan Vaezi[4]

[1] MSc Student in Biology Animal science Developmental Cell Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan, Iran

(Received May 21, 2017 Accepted September 4, 2017)

Abstract

Background and purpose: Herbal medicine have always been used in Iran and other countries around the world. They have different effects on human body, some are beneficial and others could be detrimental. There are few studies that investigated the effect of turmeric (*Curcuma Longa)* on female reproduction. This study examined the effect of turmeric extract on in vitro maturation of mice's primordial oocytes and on the number of embryos resulting from fertilization.

Materials and methods: The NRMI mice were divided into four groups: experimental group 1 and 2, sham, and control. The control group received normal food and water for 7 days; the sham group was daily gavaged with 0.002 mg/kg body weight of distilled water and alcohol for 7 days. The experimental groups 1 and 2 received 0.001 and 0.002 mg/kg body weight of turmeric extract daily, respectively. After 7 days, the mice were sacrificed and anatomized. The results were then analyzed at the end of the IVF and IVM procedures.

Results: The findings suggest that increase in concentration of turmeric significantly limits the level of maturation in somatic embryos. Moreover, the number of two and four-cell embryos within 24 and 48 hours after fertilization decreased in higher concentration of turmeric extract.

Conclusion: The extract of the turmeric plant could limit the maturation of primordial oocytes and reduce the number of resulting embryos. Therefore, caution should be accounted for its use.

Keywords: embryo maturation, in-vitro fertilization, *Curcumin*

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 27 (157): 49 - 58 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۵۷ بهمن سال ۱۳۹۶ (۵۸ - ۴۹)

بررسی اثر زرد چوبه [Curcuma longa] بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های نارس موش نژاد NMRI و تکوین جنین‌های حاصل از آن

طاهره گل محمدی[۱]
نسیم حیاتی رودباری[۲]
سمین محمدی گرجی[۳]
غلامحسن واعظی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: مصرف داروهای گیاهی از گذشته‌های دور در ایران و سایر کشورهای جهان رایج بوده است. انواع مختلف گیاهان دارویی، تاثیرات متفاوتی بر بدن می‌گذارند، که بعضی از آن‌ها اثرات مضر و برخی نیز اثرات مفید دارند. با این وجود، فقط مطالعات اندکی در مورد اثرات احتمالی انواع گیاهان دارویی بر اندام‌های جنسی و تناسلی وجود دارد که محدود به چند گونه خاص از این داروهای گیاهی است. از آنجایی که تاثیر زرد چوبه بر روی تولید مثل در جنس مونث، مورد بررسی اندکی قرار گرفته است، هدف از این مطالعه، اثر عصاره گیاه زرد چوبه بر بلوغ تخمک‌های نا بالغ موش در آزمایشگاه و میزان تشکیل جنین‌های حاصل از لقاح می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های نژاد NMR1 در چهار گروه تقسیم‌بندی گردید که شامل گروه تجربی ۱، گروه تجربی ۲، گروه شم و گروه کنترل می‌باشد. به گروه کنترل آب و غذای طبیعی به مدت ۷ روز، به گروه شم ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن محلول آب مقطر و الکل به روش گاواژ به مدت ۷ روز و به گروه تجربی ۱ و ۲ به ترتیب عصاره زرد چوبه به مقدار ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۷ روز داده شد. پس از ۷ روز موش‌های هر گروه کشته و تشریح گردید و در انتهای مراحل IVM و IVF نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت زرد چوبه میزان بلوغ تخمک‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، هم‌چنین تعداد جنین‌های دو سلولی و چهار سلولی نیز ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از لقاح در غلظت بالای زرد چوبه کمتر شده است.

استنتاج: با توجه به این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت عصاره‌ی ریشه گیاه زرد چوبه بلوغ تخمک‌های نارس موش سوری و تشکیل جنین‌های حاصل از آن را کاهش می‌دهد و بنابراین بهتر است این ادویه با احتیاط مصرف شود.

واژه های کلیدی: بلوغ تخمک، لقاح آزمایشگاهی، زرد چوبه.

مقدمه

در واقع ناباروری، یک بیماری نیست. ناباروری ممکن است به علت عدم موفقیت در تولید تخمک بالغ، وجود تعداد اندک اسپرم، وجود اسپرم معیوب، انسداد فیزیکی مجاری تناسلی نر یا ماده و یا ناسازگاری بین اسپرم و محیط اطراف تخمک باشد. رایج‌ترین روش برای کمک به تولید مثل، IVF است که می‌توان به عنوان یک تکنیک موفق در درمان ناباروری، که از تحریک تخمدان یا گنادو تروپین به منظور فراهم کردن

مولف مسئول: نسیم حیاتی رودباری– تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات Email: nasimhayati@yahoo.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی علوم جانوری گرایش سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
۴. استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۲/۳۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۵/۱۳ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۶/۱۳

فولیکول‌های آنترال در حال رشد استفاده می‌کند نام برد(۱).

IVMیک تکنیک آزمایشگاهی پیشرفته است که در آن تخمک‌های نابالغ از فولیکول‌های آنترال تخمدانی قبل از کامل کردن رشد شان در داخل بدن، از تخمدان‌های تحریک نشده یا با تحریک کم بازیابی شده و از مرحله‌ی وزیکول زاییده (GV) تا کامل کردن تقسیم متافاز میوز ۲ با تشکیل جسم قطبی به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت کشت داده می‌شوند(۲). IVM هم‌چنین ابزاری مناسب برای تولید مثل حیوانات اهلی و تولید تجاری جنین است (۳) در حیوانات اهلی تولید جنین از تخمدان‌های تحریک نشده با استفاده ازIVM ، یک تکنولوژی به منظور تولید مثل مصنوعی، کلونینگ و تولید حیوانات ترنس ژنتیک می‌باشد(۴).

در طول تاریخ انسان‌ها از گیاهان دارویی به عنوان یک روش سنتی برای درمان بیماری های مختلف استفاده می کردند. در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به شدت افزایش یافته است.

زرد چوبه متعلق به خانواده Zingiberacea با نام علمی Turmeric و با نام انگلیسیCurcuma longa شناخته می شود. که یک گیاه چند ساله، علفی و پایا است که در سراسر مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان توزیع شده است(۵،۶).

گیاه زرد چوبه یک عامل خطر برای رشد و نمو جنین طبیعی می‌باشد و احتمالا موجب سرکوب بلوغ تخمک در زوج‌های نابارور می‌شود وموجب اختلال در لقاح و رشد جنین می گردد(۷).

زرد چوبه دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد ودر مقایسه با زعفران، زرد چوبه در غلظت‌های به کار برده شده در سیستم‌های اکسیداتیو، اثرات مهاری آشکاری دارد و دارای اثر ضد اکسیداسیون LDL و ضد گلیکوزیلاسیون هموگلوبین و حفاظت کننده از سلول‌های کبدی می‌باشد(۸).

یکی ازترکیبات اصلی زرد چوبه ماده رنگی کورکومین می‌باشد و می‌تواند چند عامل مختلف از جمله، عوامل درگیر در آپوپتوز در بسیاری از سرطان‌ها، ساختار دوک میتوزی در سلول‌های سرطان پستان، پروتئازوم در سلول‌های سرطان روده بزرگ انسان را تعدیل کند (۱۲ ،۹). کورکومین ماده موثره ریزوم گیاه زرد چوبه به نام شیمیایی difeouloylmethane می‌باشد. علاوه بر کورکومین ترکیبات شیمیایی متعدد از جمله روغن فرار، زینجیبرن، آلفا و بتا تورمرین و مواد دیگر از جمله آرابینوز، فروکتوز، گلوکز و نشاسته در ریزوم گیاه زرد چوبه وجود دارد. هم‌چنین رنگ زرد، زرد چوبه مربوط به مواد رنگی کورکومین، دس متوکسی کورکومین و بیس دس متوکسی موجود در آن می‌باشد(۱۴ ،۱۳).

در بررسی متون گذشته، اثرات آنتی اکسیدانی، ضد سمیت، ضد التهاب و ضد سرطانی کورکومین به اثبات رسیده است(۱۹ ،۱۵). مطالعات Sikoraدر سال ۲۰۱۰، نشان می‌دهد که کورکومین موجود در زرد چوبه، به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی و عامل ضد التهابی، احتمالا قادر است وضعیت سلامت افراد مسن را بهبود بخشد(۲۰). تجویز دهانی کورکومین به موش صحرایی سبب بازگشت پراکسیداسیون لیپید های مغز می گردد. و هم‌چنین عمل ضد اکسید کنندگی و هیپولیپیدمیک کورکومین، نقش اصلی را در محافظت از مغز و آسیب مغزی حاصل از اتانول ایفا می‌نماید(۲۱).

از آن جهت که مطالعات زیادی در مورد اثر این گیاه بر روی اووژنز و فرایند لقاح انجام نشده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات احتمالی ریزوم گیاه زرد چوبه بر اووژنز و جنین‌های حاصل از لقاح می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، در مراحل In vivo از موش سفید آزمایشگاهی ماده‌ی بالغ نژادNMRI به عنوان حیوان مورد آزمایش، استفاده شد. موش‌های ماده با وزن ۳۰ تا ۳۵ گرم از انستیتو پاستور آمل خریداری و به

اتاق نگهداری حیوانات انتقال داده شدند و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرارگرفتند. تغذیه حیوانات از پلیت‌های آماده و مخصوص صورت گرفت و آب مورد استفاده، آب لوله کشی بوده است که توسط شیشه‌های مخصوصی در اختیار جانوران قرار گرفته شد. درجه حرارت اتاق نگهداری حیوانات ۲ ±۲۳ درجه سانتیگراد بود. سپس موش‌ها به چهار گروه آزمایشی گروه کنترل، گروه شم، گروه تجربی یک و دو تقسیم شدند که در هر گروه ۶ موش سفید آزمایشگاهی ماده‌ی بالغ نژاد NMRI به عنوان حیوان مورد آزمایش استفاده شد. به موش‌های گروه کنترل فقط آب و غذای طبیعی مخصوص موش داده شد، به موش‌های گروه شم به مدت ۷ روز، روزانه cc 2/0 محلول آب مقطر و الکل دو بار تقطیر خورانده شد. به دلیل استفاده از مقدار اندکی الکل جهت انحلال‌پذیری زرد چوبه در آب برای گروه‌های تجربی، در گروه شم نیز از محلول آب و الکل استفاده گردید. گروه تجربی ۱ و ۲ نیز به مدت ۷ روز، به ترتیب محلول عصاره زرد چوبه به مقدار cc 1/0 و cc 2/0 با دوز مصرفی ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه دهان به وسیله سرنگ انسولین و نیدل از طریق گاواژ، دریافت کردند. برای رقیق کردن عصاره‌ی زرد چوبه ، ۳ گرم از عصاره را در ۶ میلی گرم سرم آب مقطر حل کرده و جهت حل شدن زرد چوبه، مقداری الکل به آن اضافه گردید. موش‌های هر گروه، پس از اتمام ۷ روز گاواژ، به طریقه‌ی نخاعی کردن کشته شدند. برای تشریح موش‌ها، سطح شکم بدن آن‌ها به وسیله ی پنبه ی الکلی ضد عفونی، و سپس پوست ناحیه‌ی شکم و پرده‌ی صفاق بریده شد. بافت های تخمدان چپ و راست جدا گردید و بعد از جدا کردن بافت‌های اضافی به ظرف حاوی محلول فرمالین منتقل شد. پس از گذشت ۸ ساعت، تخمدان‌ها از فرمالین خارج گردید و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. پس از برش دهی، تهیه لام و رنگ‌آمیزی توسط هماتوکسیلین ائوزین، به کمک استریو میکروسکوپ جهت شمارش فولیکول‌ها، مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. این میکروسکوپ‌ها برای بررسی و مطالعه بر روی نمونه‌هایی است که علاوه بر سطح، دارای بعد یا حجم نیز می‌باشند. به این صورت که لام‌های تهیه شده را بر روی صفحه مخصوص لام قرار می دهیم و به کمک نور تابیده شده بر نمونه می‌توان آن را مشاهده و شمارش کرد.

بعد از جدا کردن بافت‌های اضافی و چربی‌ها از اطراف تخمدان، با انجام عمل دایسکت کردن تخمک‌ها از درون تخمدان خارج شدند. و در محیط کشت MEM-α قرار گرفته و به آن سرم FBS ۲۰ درصد اضافه گردید. سپس ظرف پتری دیش برای مشاهده نتیجه بلوغ تخمک‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد.

برای انجام مراحل لقاح، ۲۴ ساعت بعد از قرار دادن تخمک‌ها درون انکوباتور برای IVM، تخمک‌هایی را که به مرحله متافاز ۲ رسیدند با اسپرم موش‌های نر نژاد NMRI در تماس قرار دادیم. برای جدا کردن اسپرم‌ها، موش نر از نژاد NMR1 را کشته و پس از جدا کردن اپیدیدیم، یک سمت اپیدیدیم را با کمک سرنگ انسولین نگه داشته و با وارد کردن ضربه توسط سرنگ دیگر اسپرم‌ها خارج گردید، سپس برای آماده شدن جهت لقاح با تخمک، درون محیط کشت T6 در انکوباتور قرار داده شد. بعد از ۱ ساعت اسپرم‌ها را در اطراف تخمک‌هایی که به مرحله متافاز ۲ (M2) رسیده بودند، به کمک پیپت استور، در پلیت محتوی محیط لقاح قرار داده، و رها کردیم. پلیت به مدت ۳ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد تا عمل لقاح انجام شود و سپس اسپرم‌های اضافی که لقاح انجام ندادند از درون پلیت خارج گردید.

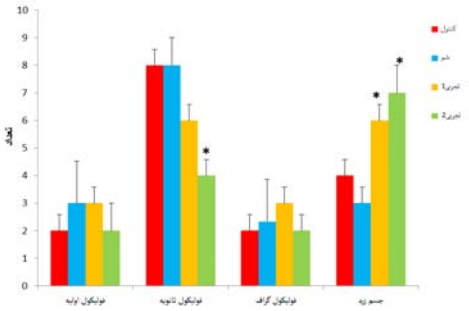
پس از ۲۴ ساعت تعداد تخمک‌هایی که به مرحله دو سلولی رسیدند شمارش شد. و ۴۸ ساعت بعد از لقاح نیز تعداد جنین‌هایی که به مرحله چهار سلولی رسیدند شمارش گردید.

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS در P < ۰/۰۰۱، P < ۰/۰۱ ، P <۰/۰۱ با در نظر گرفتن انحراف معیار با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA)و تست توکی، تحلیل گردید و سپس با استفاده از نرم افزار اکسل هیستوگرام‌ها ترسیم شدند.

یافته ها

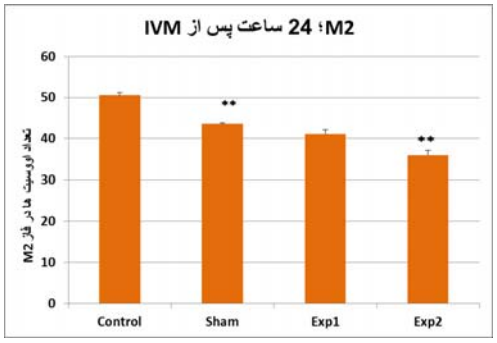
مشاهدات و بررسی‌های آماری نشان داد که با افزایش میزان دوز مصرف زرد چوبه در گروه‌های آزمایشی، میزان فولیکول‌هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافته است. پس از انجام لقاح نیز تعداد جنین‌های ۲ سلولی و ۴ سلولی تشکیل شده در گروه آزمایش ۲ کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

نتایج IVM (in vitro maturation) در کشت in vitro، در گروه تجربی دوم که ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره را دریافت کرده بودند، تعداد تخمک‌هایی که به مرحله M2 رسیدند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در سطح P < ۰/۰۱ داشته است. در گروه تجربی اول نیز که ۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره را دریافت کردند نسبت به گروه کنترل، کاهشی در تعداد فولیکول‌های اولیه و ثانویه، مشاهده شد (نمودار شماره ۱). طبق مشاهدات نمودار شماره‌ی ۲ تعداد تخمک هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند کاهش معنی داری یافته است. هم‌چنین تعداد تخمک‌های دژنره نیز در گروه تجربی اول و دوم نسبت به گروه شم و کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد.

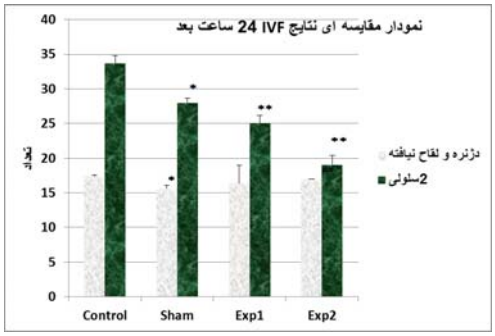


نمودار شماره ۱: مقایسه تعداد فولیکول های بافت تخمدان در گروه شم و تجربی ۱و۲ نسبت به گروه کنترل، * PValue < ۰/۰۵ در مقایسه گروه های تجربی ۱، تجربی ۲ و تجربی ۳ با گروه شم

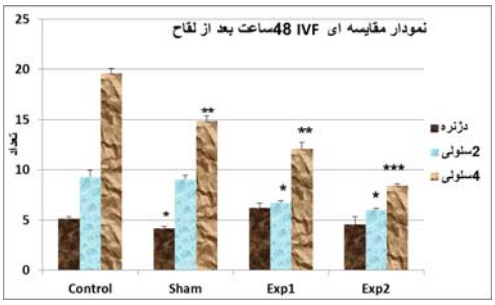
با توجه به انجام آزمایشات و مشاهده نتایج IVF (in vitro Fertilization) در این پژوهش، ۲۴ ساعت پس از لقاح، تعداد جنین‌های دو سلولی در گروه تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کم‌تر بوده است (نمودار شماره ۳). هم‌چنین با شمارش جنین چهار سلولی ۴۸ ساعت پس از لقاح مشاهده شد که تعداد جنین‌های چهار سلولی در اثر وجود عصاره‌ی این گیاه کاهش یافته است (نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۲: مقایسه تعداد تخمک هایی که به مرحله ی متافاز ۲ رسیدند ۲۴ ساعت پس از IVM در گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل.

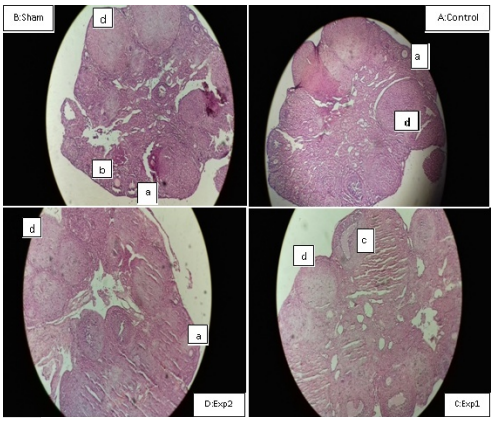


نمودار شماره ۳: نمودار مقایسه ای نتایج IVF 24 ساعت بعد در گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل



نمودار شماره ٤: نمودار مقایسه ای نتایج IVF 48 ساعت بعد از انجام در گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل

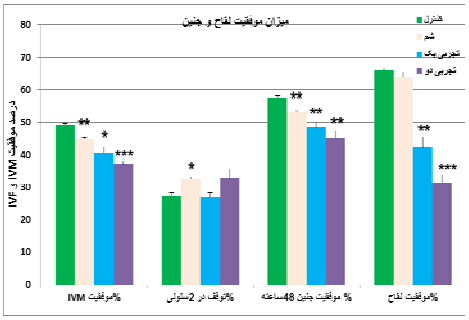
از مقاطع نمونه‌های تخمدان گروه‌های تجربی و کنترل و شم، فتومیکروگراف تهیه گردید فتومیکرو گراف مقطع تخمدان در گروه کنترل، گروه شم و گروه‌های تجربی در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.



شکل شماره ۱: فیتو میکرو گراف مقطع تخمدان، A: نمونه کنترل، B: نمونه شم، C: نمونه تجربی یک، D: نمونه تجربی دو. با بزرگنمایی ۱۰ × با رنگ آمیزی H&E. (a: فولیکول اولیه، b: فولیکول ثانویه، c: فولیکول گراآف، d: جسم زرد)

نتایج حاصل از شمارش فولیکول‌های بافت تخمدان در هر گروه در نمودار شماره ۱ نشان داده شد. طبق مشاهدات تعداد جنین‌هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند و بعد از لقاح با اسپرم به جنین دو سلولی تبدیل شدند، در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است.

در نمودار شماره ۵ بر اساس مشاهدات انجام شده در این پژوهش درصد میزان موفقیت در لقاح و تشکیل جنین در گروه های مختلف نشان داده شده است. که بر این اساس می‌توان گفت میزان موفقیت در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به کنترل کم‌تر است.



نمودار شماره ۵: نمودار مقایسه میزان موفقیت در لقاح در گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل.

بحث

با توجه به آزمایشاتی که در این پژوهش انجام گرفت و مشاهدات حاصل از شمارش فولیکول‌ها، این نتیجه به دست آمد که میزان بلوغ تخمک‌ها در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ کاهش یافته است. در گروه تجربی ۲ با توجه به دوز بیش‌تر عصاره‌ی زرد چوبه میزان اووسیت‌هایی که از مرحله‌ی ژرمینال وزیکول (GV) گذر کردند و به مرحله متافاز ۲ (M2) رسیدند، نسبت به گروه کنترل و شم کاهش یافته است و تعداد تخمک‌های دژنره بیشتر است. با توجه به این مشاهدات

نتیجه می‌گیریم با افزایش دوز عصاره‌ی زرد چوبه تعداد فولیکول‌های GV که در عمل IVM به مرحله متافاز ۲ می‌رسند و بلوغ پیدا می‌کنند نسبت گروه شم و کنترل کاهش یافته است.

هم‌چنین در عمل IVF با توجه به مشاهده حاصل از این پژوهش، طی ۲۴ ساعت پس از لقاح تعداد جنین‌های دو سلولی در گروه تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کم‌تر بوده است. و می‌توان نتیجه گرفت عصاره ریزوم گیاه زرد چوبه موجب کاهش تعداد جنین‌های دو سلولی حاصل از لقاح شده است. هم‌چنین با شمارش جنین چهار سلولی ۴۸ ساعت پس از لقاح مشاهده شد که تعداد این جنین‌های چهار سلولی نیز در اثر وجود عصاره‌ی این گیاه کاهش یافته است.

طبق مشاهدات تعداد فولیکل‌هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند و بعد از لقاح با اسپرم به جنین دو سلولی تبدیل شدند، در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است.

کورکومین یکی از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در ریزوم گیاه زرد چوبه می‌باشد، که به صورت پودر زرد چوبه از آن استفاده‌های فراوانی می‌شود و در عصاره خام ریزوم زرد چوبه تقریبا ۶۰ تا ۷۰ درصد کورکومین وجود دارد(۲۲).

مطالعه‌ی Chen و همکارانش در سال ۲۰۱۰، نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض شرایط آزمایشگاهی بلاستوسیست با کورکومین باعث آپوپتوز سلول‌های بلاستوسیست شده، و پس از انتقال جنین به میزبان موش، پیشرفت لانه گزینی اولیه را در میزبان به تعویق می‌اندازد. علاوه بر این، کورکومین موجب ایجاد اثرات آسیب آپوپتوز در بلاستوسیست موش از طریق تولید ROS می‌شود و با پیشروی بیشتر فرآیندهای سیگنالینگ آپوپتوز وابسته به میتوکندری باعث اختلال در رشد جنین می‌گردد. این نتایج با مشاهدات و نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد و همان‌طورکه در این مطالعه بیان شده است، کورکومین در فرایند بارداری ایجاد اختلال کرده و مانع بلوغ تخمک‌ها می‌شود(۲۳).

هم‌چنین کورکومین، مانع واکنش ناشی از متیلاسیون برای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رویدادهای مختلف بیوشیمیایی در آپوپتوز سلول‌های بنیادی جنینی و بلاستوسیست جدا شده از موش باردار می‌شود(۲۴). بر اساس مطالعه‌ای که Chan وهمکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی اثرات احتمالی کورکومین بر تولید ROS انجام دادند نشان می‌دهدکه سطح ATP داخل سلولی و حالت مرگ سلولی در سلول‌های استئوبلاست، کورکومین آپوپتوز و نکروز را به صورت وابسته به دوز تحریک می‌کند(۲۵).

گلوکز یکی از ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه زرد چوبه است که به مقدار اندکی در ساختار این گیاه وجود دارد. و حضور گلوکز در دوزهای خیلی بالا و خیلی کم در محیط کشت بلوغ تخمک در شرایط آزمایشگاهی در تکوین رویانی پیش از جایگزینی رویان‌های هامستر، موش و گاو می‌تواند اثرات زیان‌آوری داشته باشد(۲۷، ۲۶). هم‌چنین گلوکز در بلوغ تخمک‌های انسانی عاری از کومولوس در طول کشت در محیط آزمایشگاهی اثر مهاری دارد(۲۸). گلوکز در بلوغ تخمک‌های بالغ هسته‌دار (GV) موش، مفید نیست و ممکن است مانع میوز و نیز بلوغ تخمک‌های فولیکولی شود(۲۹).

بر اساس نتایج مطالعه‌ای که توسط محققین Chen وهمکاران در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت پیشنهاد شد که آسیب در رشد و نمو که توسط کورکومین ایجاد می‌شود از طریق فرایند القای آپوپتوز در فرآیندهای بلوغ تخمک و جنین در مراحل اولیه رخ می‌دهد. در حالی‌که عملکردهای متعدد بیولوژیک برای کورکومین شناسایی شده است، هنوز فعالیت آن به عنوان القاء یا مهار آپوپتوز و مکانیسم‌های مولکولی دقیق به طور کامل مشخص نمی‌باشد که متضمن این اقدامات باشد. تا به امروز، هیچ مطالعه‌ای در مورد اثر

نهـان و بـالقوه کورکـومین بـه عنـوان یـک عامـل سیتوتوکسیک علیه بلوغ تخمک، لقاح و تکامـل جنینـی بعد از لقاح آن نپرداخته است(۷).

کورکـومین موجـود در زرد چوبـه مـانع عمـل لانـه گزینی پس از لقاح مـی‌شـود نتـایج ایـن آزمـایش نشـان می‌دهد قرار گرفتن فولیکول‌هـا در معـرض کورکـومین موجب آپوپتوز و به تعویـق انـداختن عمـل لانـه گزینـی پس از انتقال جنین به میزبان شده است و در مراحل اولیه پس از لانه گزینی موجب ایجـاد اثـر سـوء مـی‌شـود. بـه همین دلیل کورکـومین یـک عامـل خطرنـاک احتمـالی برای انجام عمل لقاح و رشد و نمو جنین طبیعی گزارش شده است که پس از لانه گزینی باید با احتیـاط مصـرف شـود(۷،۳۰). هـم‌چنـین در ایـن مطالعـه مشـاهده شـد عصاره‌ی زرد چوبه در دوز بالا دارای اثر منفی در رشـد جنین‌ها در مراحل ابتدایی می‌باشد که برای پی بـردن بـه فراینـد دقیـق آن نیـاز بـه مطالعـات بـیش‌تـری اسـت. و مصرف این گیاه که به صورت ادویه مورد استفاده قـرار مـی‌گیـرد در ابتـدای دوران بـارداری بایـد بـا احتیـاط بیش‌تری همراه باشد. برخی از عصاره‌های گیاهی دیگـر نیز می‌توانند اثرات خود را در طول پیش از لانـه گزینـی و تکامل جنین اعمال کنند(۳۱).

در این طرح پژوهشی، نشان داده شد گاواژ عصـاره زرد چوبه دارای اثر منفی در رشد فولیکول‌هاست. تعداد تخمک‌هایی کـه در فراینـد بلـوغ بـه مرحلـه‌ی متافـاز ۲ رسیدند در گـروه‌هـای تجربـی نسـبت بـه گـروه کنتـرل کاهش چشمگیری داشته‌اند. هـم‌چنـین مشـاهدات بلـوغ آزمایشگاهی تخمک نیز این نتایج را در پـی داشـت کـه میزان موفقیت لقاح در گروه‌های تجربـی کـه عصـاره را دریافت کردند، کم‌تر از گروه کنترل بوده است.بنابراین می‌توان نتیجه گرفت زرد چوبـه در ابتـدای فراینـد بلـوغ تخمک و لقاح اثر مهاری داشته است.

سپاسگزاری

بدین وسـیله از همکـاران و مسـئولین محتـرم مرکـز تحقیقاتی انستیتو پاستور آمل در تامین امکانـات اجرایـی و هم‌چنـین از همکـاری و یـاری گـروه زیسـت شناسـی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علـوم و تحقیقـات تهـران در انجام این طرح، نهایت تشکر و قدر دانـی را مـی‌نمـاییم.

References

1. Son WY, Tan S L. Laboratory and embryological aspects of hCG primed in vitro maturation cycles for patients with polycystic ovaries. Hum Reprod Update.2010; 16(6): 675-689.
2. Chian RC, Lim J, Tan SL. State of the art in in-vitro oocyte maturation. Curr Opin Obstet Gynecol.2004; 16(3):211–219.
3. Dumesic DA, Abbott DH. Padmanabhan V. Polycystic Ovary Syndrome and its Developmental Origins. Rev Endocr Metab Disord.2007; 8(2):127–141.
4. Gilchrist RB, Thompson JG. Oocyte maturation: Emerging concepts and technologies to improve developmental potential in vitro. Theriogenology.2007; 67(1):6–15.
5. Keys JD. Chinese herbs, their botany, chemistryand pharmacodynamics. Rutland, VT: CE Tuttle. 1976.
6. Ammon HP,Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. Planta Med. 1991; 57(1):1-7.
7. Chen CC, Chan WH.Injurious Effects of Curcumin on Maturation of Mouse Oocytes, Fertilization and Fetal

Development via Apoptosis. Int J Mol Sci. 2012; 13(4):4655-4672.

8. Naderi GA, Asgari S, Taher MA, Sabet B, NikhooN. Anioxidant Effect of Turmeric and Saffron on the Oxidation of Hepatocytes LDL and Non – Enzymatic Glycation of Hemoglobin. Quarterly Journal of Medical Plants. 2005; 4(16): 29-35. (persian)
9. Radhakrishna Pillai G, Srivastava AS, Hassanein TI, Chauhan DP, Carrier E. Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin. Cancer Lett. 2004; 208(2): 163 -170.
10. Holy JM. Curcumin disrupts mitotic spindle structure and induces micronucleation in MCF-7 breast cancer cells. Mutat Res. 2002;518(1):71-84.
11. Anto RJ, Mukhopadhyay A, Denning K, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) induces apoptosis through activation of caspase-8, BID cleavage and cytochrome c release: its suppression by ectopic expression of Bcl-2 and Bcl-xl. Carcinogenesis. 2002;23(1):143-150.
12. Chan WH, Wu HY, Chang WH. Dosage effects of curcumin on cell death types in a human osteoblast cell line. Food Chem Toxicol. 2006;44(8):1362-1371.
13. Boon H, Wong J. Botanical medicine and cancer: a review of the safety and efficacy. Expert Opin Pharmacother. 2004; 5 (12): 2485 - 2501.
14. Leung A. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics. New York: Wiley & Sons, 1980, pp 313 -314.
15. Aggarwal BB. Prostate cancer and curcumin: add spice to your life. Cancer Biol Ther. 2008; 7(9):1436 - 1440.
16. Bhattacharyya S, Mandal D, Sen GS, Pal S, Banerjee S, Lahiry L, et al. Tumor-induced oxidative stress perturbs NFκB activity augmenting TNFα-mediated T cell death: Protection by curcumin. Cancer Res. 2007; 60(1): 362 - 370.
17. Choudhuri T, Pal S, Agwarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. FEBS Lett. 2002; 512(1-3): 334 - 340.
18. Pal S, Choudhuri T, Chattopadhyay S, Bhattacharya A, Datta G, Das T, Sa G. Mechanisms of curcumin-induced apoptosis of Ehrlich's ascites carcinoma cells. Biochem Biophys Res Commun. 2001; 288(3): 658 - 665.
19. Huang MT, Newmark HL, Frenkel KJ. Inhibitory effects of curcumin on tumorigenesis in mice.J Cell Biochem Suppl. 1997; 27: 26 - 34.
20. Sikora E, Scapagnini S, Barbagallo M. Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases. licensee BioMed Central Ltd. 2010.
21. Rajakrashman V, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP. Neuroprotective role of curcumin from curcuma longa on ethanol - induced brain damage. Phytother Res. 1999; 13(7): 571-574.
22. Kundu S, Biswas TK, Das P, Kumar S, De DK.Turmeric (curcuma longa) rhizome paste and honey show similar wound healing potential: a preclinical

study in rabbits.Int J Lowe Extrem Wounds. 2005; 4(4):205-213.

23. Chen CC, Hsieh MS, Hsuuw YD, Huang FJ, Chan WH. Hazardous effects of curcumin on mouse embryonic development through a mitochondria-dependent apoptotic signaling pathway. Int J Mol Sci. 2010; 11(18): 2839–2855.
24. Hsuuw YD, Chang CK, Chan WH, Yu JS. Curcumin prevents methylglyoxal-induced oxidative stress and apoptosis in mouse embryonic stem cells and blastocysts. J Cell Physiol. 2005; 205(3): 379–386.
25. Chan WH, Wu HY, Chang WH. Dosage effects of curcumin on cell death types in a human osteoblast cell line. Food Chem Toxicol. 2006;44(8):1362-1371.
26. Donnini D, Zambite AM, Perrella G, Ambesi-Impiombateo FS, Curcio F. Glucose may induce cell death through a free radical-mediated mechanism. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 219(2):412-417.
27. Barnett DK, Bavister BD. Inhibitory effects of glucose and phosphate on the second cleavage division of hamster embryos is it linked to metabolism? Hum Reprod .1996; 11(1):177-183.
28. Cekleniak NA, Combelles CM, Ganz DA, Fung J, Albertini DF, Racowsky C. A novel system for in vitro maturation of human oocytes. Fertil Steril. 2001; 75(6):1185-1193.
29. Saito T, Hiroi M, Kato T. Development of glucose utilization studied in single oocytes and preimplantation embryos from mice. Biol Reprod. 1994; 50(2):266-270.
30. Huang FJ, Lan, KC, Kang HY, Liu YC ,Hsuuw YD, Chan WH. Effect of curcumin on in vitro early post-implantation stages of mouse embryodevelopment. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biology.2013; 166(1): 47–51.
31. Domarackỳ M1, Rehák P, Juhás S, Koppel J. Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth and Development of Mouse preimplantation embryos in vivo.Physiol Res. 2007; 56(1):97-104.