

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

Tahere Golmohammadi<sup>1</sup>·  
Nasim hayati roodbari<sup>2</sup>·  
Simin mohammady gorji<sup>3</sup>·  
Gholamhasan Vaezi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Biology Animal science Developmental Cell Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran

<sup>4</sup> 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*

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

طاهره گل محمدی<sup>۱</sup>

نسیم حیاتی رودباری<sup>۲</sup>

سمین محمدی گرجی<sup>۳</sup>

غلامحسن واعظی<sup>۴</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** مصرف داروهای گیاهی از گذشته‌های دور در ایران و سایر کشورهای جهان رایج بوده است. انواع مختلف گیاهان دارویی، تأثیرات 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 تأثیر 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 نابالغ موش در آزمایشگاه و میزان تشکیل جنین‌های حاصل از لقاح می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، موش‌های نژاد NMRI 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 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن محلول آب مقطر و الکل به روش گاوآژ 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.

**واژه‌های کلیدی:** بلوغ تخمک، لقاح آزمایشگاهی، زرد چوبه.

### مقدمه

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

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 نریا ماده و یا ناسازگاری بین

Email: nasimhayati@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** نسیم حیاتی رودباری - تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

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).

IVM یک 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 بازایی شده و از مرحله‌ی وزیکول زائیده (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 از IVM، 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 بیماری‌های مختلف استفاده می‌کردند. در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به شدت افزایش یافته است.

زرد چوبه متعلق به خانواده Zingiberaceae با نام علمی Turmeric و با نام انگلیسی Curcuma longa شناخته می‌شود. 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 احتمالاً موجب سرکوب بلوغ تخمک در زوج‌های نابارور می‌شود و موجب اختلال در لقاح و رشد جنین می‌گردد(۷).

زرد چوبه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در 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 از ترکیبات 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 متعددی از جمله روغن فرار، زینجیرن، 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(۱۳، ۱۴).

در بررسی متون گذشته، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد سمیت، ضد التهاب و ضد سرطانی کورکومین به اثبات رسیده است(۱۵، ۱۹). مطالعات Sikora در سال ۲۰۱۰، نشان می‌دهد که کورکومین موجود در زرد چوبه، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و عامل ضد التهابی، احتمالاً قادر است وضعیت سلامت افراد مسن را بهبود بخشد(۲۰). تجویز دهانی کورکومین به موش صحرایی سبب بازگشت پراکسیداسیون لیپیدهای مغز می‌گردد. و هم‌چنین عمل ضد اکسیدکنندگی 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 روش‌ها

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

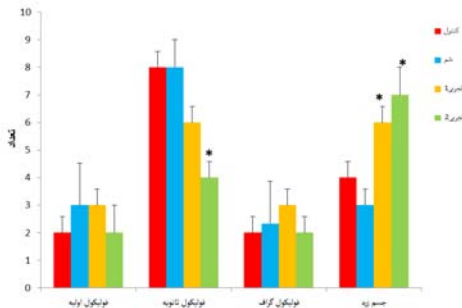
اتاق نگهداری حیوانات انتقال داده شدند و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تغذیه حیوانات از پلیت های آماده و مخصوص صورت گرفت و آب مورد استفاده، آب لوله کشی بوده است که توسط شیشه های مخصوصی در اختیار جانوران قرار گرفته شد. درجه حرارت اتاق نگهداری حیوانات  $23 \pm$  درجه سانتیگراد بود. سپس موش ها به چهار گروه آزمایشی گروه کنترل، گروه شم، گروه تجربی یک و دو تقسیم شدند که در هر گروه ۶ موش سفید آزمایشگاهی ماده ی بالغ نژاد NMRI به عنوان حیوان مورد آزمایش استفاده شد. به موش های گروه کنترل فقط آب و غذای طبیعی مخصوص موش داده شد، به موش های گروه شم به مدت ۷ روز، روزانه ۲/۰ cc محلول آب مقطر و الکل دو بار تقطیر خورانده شد. به دلیل استفاده از مقدار اندکی الکل جهت انحلال پذیری زرد چوبه در آب برای گروه های 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 ۱/۰ cc و ۲/۰ cc با دوز مصرفی ۰/۰۱ و ۰/۰۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه دهان به وسیله سرنگ انسولین و نیدل از طریق گاوآژ، دریافت کردند. برای رقیق کردن عصاره ی 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. موش های هر گروه، پس از اتمام ۷ روز گاوآژ، به طریقه ی نخاعی کردن کشته شدند. برای تشریح موش ها، سطح شکم بدن آن ها به وسیله ی پنبه ی الکی ضد عفونی، و سپس پوست ناحیه ی شکم و پرده ی صفاق بریده شد. بافت های تخمدان چپ و راست جدا گردید و بعد از جدا کردن بافت های اضافی به ظرف حاوی محلول فرمالین منتقل شد. پس از گذشت ۸ ساعت، تخمدان ها از فرمالین خارج گردید و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. پس از برش دهی، تهیه لام و رنگ آمیزی توسط هماتوکسیلین انوزین، به کمک

استریو میکروسکوپ جهت شمارش فولیکول ها، مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. این میکروسکوپ ها برای بررسی و مطالعه بر روی نمونه هایی است که علاوه بر سطح، دارای بعد یا حجم نیز می باشند. به این صورت که لام های تهیه شده را بر روی صفحه مخصوص لام قرار می دهیم و به کمک نور تابیده شده بر نمونه می توان آن را مشاهده و شمارش کرد.

بعد از جدا کردن بافت های اضافی و چربی ها از اطراف تخمدان، با انجام عمل دایسکت کردن تخمک ها از درون تخمدان خارج شدند. و در محیط کشت MEM- $\alpha$  قرار گرفته و به آن سرم FBS ۲۰ درصد اضافه گردید. سپس ظرف پتری دیش برای مشاهده نتیجه بلوغ تخمک ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد.

برای انجام مراحل لقاح، ۲۴ ساعت بعد از قرار دادن تخمک ها درون انکوباتور برای IVM، تخمک هایی را که به مرحله متافاز ۲ رسیدند با اسپرم موش های نر نژاد NMRI در تماس قرار دادیم. برای جدا کردن اسپرم ها، موش نر از نژاد NMRI 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 اسپرم ها خارج گردید، سپس برای آماده شدن جهت لقاح با تخمک، درون محیط کشت T6 در انکوباتور قرار داده شد. بعد از ۱ ساعت اسپرم ها را در اطراف تخمک هایی که به مرحله متافاز ۲ (M2) رسیده بودند، به کمک پیست 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 اسپرم های اضافی که لقاح انجام ندادند از درون پلیت خارج گردید.

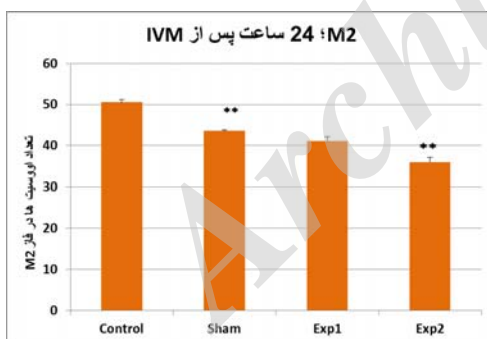
پس از ۲۴ ساعت تعداد تخمک هایی که به مرحله دو سلولی رسیدند شمارش شد. و ۴۸ ساعت بعد از لقاح نیز تعداد جنین هایی که به مرحله چهار سلولی رسیدند شمارش گردید.



نمودار شماره ۱: مقایسه تعداد فولیکول های بافت تخمدان در

گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل، \*  $P < 0.05$  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 جنین های دو سلولی در گروه تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل کم تر بوده است (نمودار شماره ۳). هم چنین با شمارش جنین چهار سلولی ۴۸ ساعت پس از لقاح مشاهده شد که تعداد جنین های چهار سلولی در اثر وجود عصاره ی 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.

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS در  $P < 0.001$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.01$  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 هیستوگرام ها ترسیم شدند.

## یافته ها

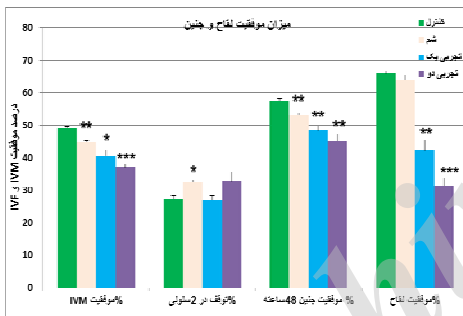
مشاهدات و بررسی های آماری نشان داد که با افزایش میزان دوز مصرف زرد چوبه در گروه های آزمایشی، میزان فولیکول هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافته است. پس از انجام لقاح نیز تعداد جنین های ۲ سلولی و ۴ سلولی تشکیل شده در گروه آزمایش ۲ کاهش معنی داری را نشان می دهد.

نتایج IVM (in vitro maturation) در کشت in vitro، در گروه تجربی دوم که  $0.002$  میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره را دریافت کرده بودند، تعداد تخمک هایی که به مرحله M2 رسیدند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری در سطح  $P < 0.01$  داشته است. در گروه تجربی اول نیز که  $0.001$  میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن عصاره را دریافت کردند نسبت به گروه کنترل، کاهشی در تعداد فولیکول های اولیه و ثانویه، مشاهده شد (نمودار شماره ۱). طبق مشاهدات نمودار شماره ۲ تعداد تخمک هایی که به مرحله متافاز ۲ رسیدند کاهش معنی داری یافته است. هم چنین تعداد تخمک های دژنره نیز در گروه تجربی اول و دوم نسبت به گروه شم و کنترل افزایش معنی داری را نشان داد.

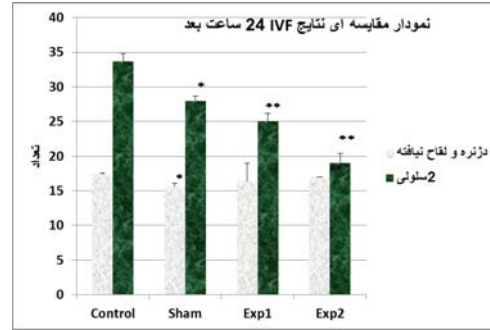
بزرگنمایی 10× با رنگ آمیزی H&E. a: فولیکول اولیه، b: فولیکول ثانویه، c: فولیکول گراآف، d: جسم زرد)

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

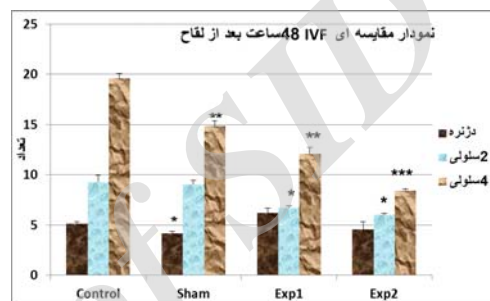
در نمودار شماره ۵ بر اساس مشاهدات انجام شده در این پژوهش درصد میزان موفقیت در لقاح و تشکیل جنین در گروه های مختلف نشان داده شده است. که بر این اساس می توان گفت میزان موفقیت در گروه های تجربی ۱ و ۲ نسبت به کنترل کم تر است.



نمودار شماره ۵: نمودار مقایسه میزان موفقیت در لقاح 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

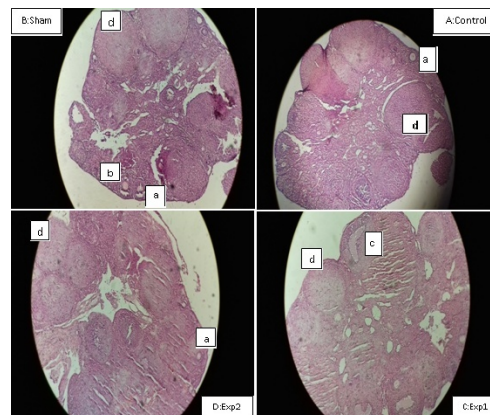


نمودار شماره ۴: نمودار مقایسه ای نتایج IVF 48 ساعت بعد از انجام در گروه شم و تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل

از مقاطع نمونه های تخمدان گروه های تجربی و کنترل و شم، فتومیکروگراف تهیه گردید فتومیکروگراف مقطع تخمدان در گروه کنترل، گروه شم و گروه های تجربی در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

## بحث

با توجه به آزمایشاتی که در این پژوهش انجام گرفت و مشاهدات حاصل از شمارش فولیکول ها، این نتیجه به دست آمد که میزان بلوغ تخمک ها در گروه های تجربی ۱ و ۲ کاهش یافته است. در گروه تجربی ۲ با توجه به دوز بیش تر عصاره ی زرد چوبه میزان اووسیت هایی که از مرحله ی ژرمینال وزیکول (GV) گذر کردند و به مرحله متافاز ۲ (M2) رسیدند، نسبت به گروه کنترل و شم کاهش یافته است و تعداد تخمک های دژنره بیشتر است. با توجه به این مشاهدات



شکل شماره ۱: فتو میکروگراف مقطع تخمدان، A: نمونه کنترل، B: نمونه شم، C: نمونه تجربی یک، D: نمونه تجربی دو. با

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 شام 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 فولیکول‌هایی 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 تقریباً ۶۰ تا ۷۰ درصد کورکومین وجود دارد (۲۲).

مطالعه‌ی Chen و همکارانش در سال ۲۰۱۰، نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض شرایط آزمایشگاهی بلاستوسیت با کورکومین باعث آپوپتوز سلول‌های بلاستوسیت شده، و پس از انتقال جنین به میزبان موش، پیشرفت لانه‌گزینی اولیه را در میزبان به تعویق می‌اندازد. علاوه بر این، کورکومین موجب ایجاد اثرات آسیب آپوپتوز در بلاستوسیت 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 همان‌طور که 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 بلاستوسیت جدا شده از موش باردار می‌شود (۲۴). بر اساس مطالعه‌ای که Chan و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی اثرات احتمالی کورکومین بر تولید ROS انجام دادند نشان می‌دهد که سطح ATP داخل سلولی و حالت مرگ سلولی در سلول‌های استوبلاست، 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 (۲۶، ۲۷). 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 و همکاران 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 حالی که 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

نیز می توانند اثرات خود را در طول پیش از لانه گزینی و تکامل جنین اعمال کنند (۳۱).

در این طرح پژوهشی، نشان داده شد گاوآژ عصاره زرد چوبه دارای اثر منفی در رشد فولیکول هاست. تعداد تخمک هایی که در فرایند بلوغ به مرحله ی متافاز ۲ رسیدند در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشته اند. هم چنین مشاهدات بلوغ آزمایشگاهی تخمک نیز این نتایج را در پی داشت که میزان موفقیت لقاح در گروه های تجربی که عصاره را دریافت کردند، کم تر از گروه کنترل بوده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت زرد چوبه در ابتدای فرایند بلوغ تخمک و لقاح اثر مهاری داشته است.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاران و مسئولین محترم مرکز تحقیقاتی انستیتو پاستور آمل در تامین امکانات اجرایی و هم چنین از همکاری و یاری گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران در انجام این طرح، نهایت تشکر و قدر دانی را می نمایم.

## 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, chemistry and 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

نهان و بالقوه کورکومین به عنوان یک عامل سیتوتوکسیک علیه بلوغ تخمک، لقاح و تکامل جنینی بعد از لقاح آن نپرداخته است (۷).

کورکومین موجود در زرد چوبه مانع عمل لانه گزینی پس از لقاح می شود نتایج این آزمایش نشان می دهد قرار گرفتن فولیکول ها در معرض کورکومین موجب آپوپتوز و به تعویق انداختن عمل لانه گزینی پس از انتقال جنین به میزبان شده است و در مراحل اولیه پس از لانه گزینی موجب ایجاد اثر سوء می شود. به همین دلیل کورکومین یک عامل خطرناک احتمالی برای انجام عمل لقاح و رشد و نمو جنین طبیعی گزارش شده است که پس از لانه گزینی باید با احتیاط مصرف شود (۷، ۳۰). هم چنین در این مطالعه مشاهده شد عصاره ی زرد چوبه در دوز بالا دارای اثر منفی در رشد جنین ها در مراحل ابتدایی می باشد که برای پی بردن به فرایند دقیق آن نیاز به مطالعات بیشتر است. و مصرف این گیاه که به صورت ادویه مورد استفاده قرار می گیرد در ابتدای دوران بارداری باید با احتیاط پیش تری همراه باشد. برخی از عصاره های گیاهی دیگر



- 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-Impimbateo 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. Domaracký M1, Reháč 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.