University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 78, Number 2, 2023, 131-144

The Effect of Curcumin on the Structure of Mouse Ovary After Treatment With Goserelin and Cyclophosphamide

Sareh Azarmi[1]✉, Massoud Talebkhan Garoussi[2]✉, Parviz Tajik[2]✉, Khosro Hosseini Pajooh[3]✉, Farhang Sasani[4]✉, Navid Jahanroshan[1]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[3] *Department of Biothchnology, Iranian Research Organization for Sciences and Technology, Tehran, Iran*
[4] *Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

Received: *12 February 2023****, Accepted:*** *24 April 2023*

10.22059/jvr.2023.351938.3311 20.1001.1.20082525.1402.78.2.6.0

Abstract

BACKGROUND: Protection from reproductive damage is essential in chemotherapy medicines for cancer patients.
OBJECTIVES: This study aims to examine the effect of curcumin on the structure of the ovary of mice after treatment with goserelin and cyclophosphamide.
METHODS: One hundred and ten BALB/C mice with 3 regular consecutive periods of the estrous cycle were divided into 11 groups of 10 each. No medicine was used in the control group. The treatment groups were as follows: 1) cyclophosphamide, 2 to 5) cyclophosphamide with curcumin with a dose of 100, 200, 300, and 400 mg/kg, respectively, 6) goserelin, 7 to 10) goserelin together with curcumin with a dose 100, 200, 300, 400 mg/kg, respectively. The luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) of serums were evaluated using ELISA. Morphologic and morphometric of ovaries were assessed.
RESULTS: The total number of follicles, primary, secondary, periantral, and antral follicles, in the goserelin and cyclophosphamide group, was significantly reduced compared with the control group (P<0.05). Cyclophosphamide and goserelin with different doses of curcumin showed a significant increase in the total number of follicles, primary, periantral, and antral follicles compared to the group treated with cyclophosphamide and goserelin alone (P<0.05). Curcumin (200, 300, and 400 mg/kg) and cyclophosphamide, compared to the cyclophosphamide group, significantly increased the quality of zona pellucida (P<0.05). Cyclophosphamide and goserelin caused a significant decrease in FSH and LH (P<0.05). Cyclophosphamide with different doses of curcumin showed a significant increase in LH compared to the group treated with cyclophosphamide alone (P<0.05). Goserelin with a 400 mg/kg curcumin dose significantly increased LH compared to goserelin alone (P<0.05). The amount of FSH in the cyclophosphamide groups with curcumin increased compared considerably to cyclophosphamide alone (P<0.05). The groups of goserelin with curcumin showed a significant increase in FSH compared to those of goserelin alone (P<0.05).
CONCLUSIONS: Curcumin can protect the reproductive system of mice from the damage caused by the administration of cyclophosphamide and goserelin.
Keywords: Curcumin, Cyclophosphamide, Goserelin, Mouse, Ovarian

Copyright © Journal of Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©The Author(s).
Publisher: University of Tehran

Corresponding author: Massoud Talebkhan Garoussi, Tel/Fax: +9821-66929532 / +9821-66933222

How to cite this article:

Azarmi S, Talebkhan Garoussi M, Tajik P, Hosseini Pajooh K, Sasani F, Jahanroshan N. The Effect of Curcumin on the Structure of Mouse Ovary After Treatment With Goserelin and Cyclophosphamide. J Vet Res, 2023; 78(2): 131-144. doi: 10.22059/jvr.2023.351938.3311

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. The Effect of Curcumin, Cyclophosphamide, and Goserelin on the Level of Luteinizing Hormone (LH) Secreted From the Mouse Pituitary.
Figure 2. The Effect of Curcumin, Cyclophosphamide, and Goserelin on the Level of Follicle Stimulating Hormone (FSH) Secreted From the Mouse Pituitary.
Figure 3. The Effect of Curcumin, Cyclophosphamide, and Goserelin on the Number of Different Types of Ovarian Follicles in Mouse.
Figure 4. Comparison of Curcumin, Cyclophosphamide, and Goserelin on the Number of Ovum and the Quality of the Zona Pellucida in Mouse.
*The groups included: control group 1) cyclophosphamide, 2) cyclophosphamide + curcumin with a dose of 100 mg/kg, 3) cyclophosphamide + curcumin with a dose of 200 mg/kg, 4) cyclophosphamide + curcumin with a dose of 300 mg/kg, 5) cyclophosphamide + curcumin with a dose of 400 mg/kg, 6) goserelin, 7) goserelin + curcumin with a dose of 100 mg/kg, 8) goserelin + curcumin with a dose of 200 mg/kg, 9) goserelin + curcumin with a dose of 300 mg/kg, 10) goserelin + curcumin with a dose of 400 mg/kg.
**Means with different letters have a significant difference (P<0.05).

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

دوره ۷۸، شماره ۲، ۱۴۰۲، ۱۴۴-۱۳۱

اثر کورکومین بر ساختار تخمدان موش پس از درمان با داروی Goserelin و Cyclophosphamide

ساره آذرمی[۱]، مسعود طالب‌خان گروسی[۲]، پرویز تاجیک[۲]، خسرو حسینی‌پژوه[۳]، فرهنگ ساسانی[۴]، نوید جهان‌روشن[۱]

[۱] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] گروه مامایی و بیماری‌های تولید مثل، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳] گروه بیوتکنولوژی، مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
[۴] گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۳ بهمن ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۴ اردیبهشت ۱۴۰۲

10.22059/jvr.2023.351938.3311 20.1001.1.20082525.1402.78.2.6.0

چکیده

زمینه مطالعه: حفاظت از آسیب‌های تولید مثلی در مصرف داروهای شیمی درمانی بیماران سرطانی الزامی است.

هدف: تأثیر کورکومین بر ساختار تخمدان موش پس از درمان با داروی Goserelin و Cyclophosphamide.

روش‌کار: یک صد و ده سر موش ماده بالغ نژاد بالب/سی با ۳ دوره متوالی منظم سیکل استروس به ۱۱ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. در گروه کنترل دارویی استفاده نشد. گروه درمان شامل: ۱-سیکلوفسفامید، گروه‌های ۲ تا ۵، سیکلوفسفامید همراه با کورکومین به ترتیب با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم/کیلوگرم، ۶-گوسرلین، گروه‌های ۷ تا ۱۰ گوسرلین همراه با کورکومین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم. FSH و LH سرم خون با روش الایزا ارزیابی شد. مرفولوژی و مرفومتری ساختار تخمدان‌ها ارزیابی شد.

نتایج: تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول‌های اولیه، ثانویه، پره‌آنترال و آنترال و کیفیت زونا پلوسیدا و تعداد تخمک در گروه گوسرلین و سیکلوفسفامید در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). سیکلوفسفامید و گوسرلین با دزهای مختلف کورکومین در مقایسه با گروه درمان سیکلوفسفامید و گوسرلین به تنهایی افزایش معنی‌دار تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول اولیه، پره‌آنترال و آنترال را نشان داد ($P<۰/۰۵$). دزهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کورکومین همزمان با سیکلوفسفامید در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید موجب افزایش معنی‌دار کیفیت زونا پلوسیدا گردید ($P<۰/۰۵$). سیکلوفسفامید و گوسرلین موجب کاهش معنی‌دار FSH و LH گردید ($P<۰/۰۵$). سیکلوفسفامید با دزهای مختلف کورکومین در مقایسه با گروه درمان سیکلوفسفامید به تنهایی افزایش معنی‌دار LH را نشان داد ($P<۰/۰۵$). گوسرلین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کورکومین در مقایسه با گوسرلین به تنهایی افزایش معنی‌دار LH داشت ($P<۰/۰۵$). مقدار FSH در گروه‌های سیکلوفسفامید با کورکومین، در مقایسه با سیکلوفسفامید به تنهایی افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). گروه‌های گوسرلین با کورکومین در مقایسه با گروه گوسرلین به تنهایی افزایش معنی‌دار FSH را نشان داد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری نهایی: کورکومین می‌تواند سیستم تولید مثلی موش را از آسیب‌های ناشی از تجویز سیکلوفسفامید و گوسرلین محافظت نماید.

کلمات کلیدی: تخمدان، سیکلوفسفامید، کورکومین، گوسرلین، موش

کپی‌رایت © مجله تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: مسعود طالب‌خان گروسی، گروه مامایی و بیماری‌های تولید مثل، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

امروزه درمان‌های متداول سرطان شامل جراحی، شیمی درمانی، رادیوتراپی و هورمون تراپی می‌باشد. با این‌که در اغلب سرطان‌ها مشکل اصلی شکست درمان، متاستاز سلول‌های سرطانی می‌باشد، متأسفانه باید گفت که جراحی و رادیوتراپی تنها در درمان سرطان‌های موضعی

کاربرد دارند و در مورد متاستازهای سرطانی کارآیی پیدا نمی‌کنند. در چنین مواردی روش درمان اغلب بر پایه شیمی درمانی و هورمون تراپی استوار است. البته کارآیی این روش هم به خاطر احتمال اثرات جانبی سمی که در ارگان‌های مختلف بدن از جمله سیستم تولید مثلی دارد، محدود می‌باشد. روش‌های درمان سرطان از جمله شیمی درمانی و هورمون تراپی، می‌توانند مشکلات مخرب زیادی در بدن ایجاد کنند و برخی اثرات جانبی آن‌ها باعث می‌شود بیمار دچار نقایص جبران ناپذیر در بقیه طول عمر خود گردد. سیکلوفسفامید یک داروی ضد سرطان است که در بدن به یک متابولیت فعال آلکیله کننده تبدیل می‌گردد و یک جزء اساسی و مهم در بسیاری از ترکیبات دارویی مؤثر می‌باشد (۱، ۲). در مطالعه انجام شده توسط Bonadonna و همکاران در سال ۱۹۷۶ مشخص گردید که سیکلوفسفامید به خوبی از دستگاه گوارش جذب می‌گردد و به طور گسترده‌ای در بافت‌ها و مایعات بدن توزیع می‌گردد و از سد خونی - مغزی می‌گذرد و در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل شده و سرانجام از طریق کلیه‌ها دفع می‌گردد (۳).

بر اساس اظهارات ارایه شده توسط Jaffe و همکاران در سال ۱۹۸۱، مکانیسم اثر داروی سیکلوفسفامید عمدتاً ناشی از ایجاد اتصال بین دو رشته مولکولی DNA و شکستن DNA، RNA و همچنین مهار سنتز پروتئین می‌باشد. اثرات آنتی نئوپلاستیکی سیکلوفسفامید مربوط به فسفر آمید موستارد می‌باشد (۴). در حالی که Hassanpour و همکاران در سال ۲۰۱۷ گزارش نمودند که آکرولین از طریق تداخل با سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بافت‌ها تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن کرده و مسئول پیدایش اثرات سمی مانند مرگ سلولی (آپوپتوز)، تشکیل تومورهای متعدد و نکروز می‌باشد. در بین داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی، عوامل آلکیله کننده از سمی‌ترین داروهای ضد سرطان برای غدد جنسی می‌باشند و در بین مواد آلکیله کننده، سیکلوفسفامید سمی‌ترین دارو برای تخمدان است (۵). سیکلوفسفامید باعث تخلیه فولیکولی و سرانجام باعث نقص تخمدان می‌شود. در نتیجه سیکلوفسفامید باعث اختلال در باروری خواهد شد. Jarrell و همکاران در سال ۱۹۸۷ نشان دادند که سیکلوفسفامید با راه‌اندازی جریان آپوپتوز و تخریب DNA، منجر به مرگ سلولی شده و در این روند سلول‌های با سرعت تقسیم بالا مانند لنفوسیت‌ها، سلول‌های مشتق از مغز استخوان و سلول‌های جنسی که DNA آن‌ها با سرعت زیادی همانندسازی می‌کنند بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۶). در یک مطالعه توسط Farokhi و همکاران در سال ۲۰۰۷ مشخص گردید که سلول‌های گرانولوزا نقش کلیدی در تنظیم فیزیولوژی تخمدان شامل: تخمک‌گذاری و تحلیل جسم زرد بازی می‌کنند، بنابراین می‌توانند نقش اساسی در لقاح و باروری داشته باشند. آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزا مکانیسم اصلی در فرآیند آترزی فولیکول‌های تخمدانی است. در هر حال سیکلوفسفامید باعث ایجاد آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های تخمدانی می‌شود (۷). Meirow و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که استرس اکسیداتیو بر القای سمیت سیکلوفسفامید بر روی سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های آنترال دلالت دارد. به نظر می‌رسد فولیکول‌های آنترال به استرس اکسیداتیو ناشی از آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا بسیار حساس می‌باشند (۸). سمیت تخمدان‌های تحت تأثیر داروهای شیمی درمانی، تقریباً همیشه برگشت ناپذیر است، در نتیجه حفاظت ذخایر فولیکولی آن و جلوگیری از ناباروری ناشی از به کارگیری چنین موادی، می‌تواند در بهبود روند زندگی فردی که دچار مشکل سرطان شده مؤثر باشد. استرس اکسیداتیو به علت عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها بروز می‌کند. یکی از عوارض استفاده طولانی مدت از داروهای با سمیت سلولی که در برنامه درمان سرطان‌ها اتفاق می‌افتد، ناباروری است که به عنوان پیامد ثانویه متعاقب نقص زودرس تخمدان (POF) (Premature Ovarian failure) ایجاد می‌شود. POF به عنوان یک نقص تخمدانی اولیه تعریف می‌شود که با عدم قاعدگی و یا کاهش زودرس فولیکول‌های تخمدان یا توقف فولیکولوژنز قبل از سن ۱۰ سالگی شناخته می‌شود. شیمی درمانی با القای آسیب حاد فولیکولی، منجر به کاهش تعداد فولیکول‌ها و تخمک‌ها و همچنین آسیب شدید در کیفیت آن‌ها می‌شود به طوری که به راحتی دچار آترزی می‌شوند (۹، ۱۰).

Bines و همکاران در سال ۱۹۹۶ مشخص کردند که اختلال در عملکرد تخمدان موش‌های صحرایی متعاقب مصرف سیکلوفسفامید، به دلیل تخریب سلول‌های گرانولوزا ایجاد می‌شود. زنانی که با سیکلوفسفامید مورد درمان قرار گرفته‌اند، ممکن است اختلالات باروری، آمنوره، افزایش تعداد فولیکول‌های آترتیک و کاهش مقادیر پلاسمایی استروژن و پروژسترون را تجربه کنند (۱۱). در مطالعه انجام شده توسط Talebi و همکاران در سال ۲۰۲۲ مشخص گردید که از پیامدهای نامطلوب شیمی درمانی با داروی سیکلوفسفامید، ناباروری و تأثیر منفی بر تخمدان زنان و دختران است، سزامول به عنوان یک ماده افزودنی غذایی که دارای ترکیب فنلی است از عملکرد و ساختار تخمدان‌های موش در برابر عوارض جانبی مدل شیمی درمانی با سیکلوفسفامید از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در تخمدان محافظت می‌کند (۱۲). سیکلوفسفامید که یکی از پرمصرف‌ترین آلکیله کننده‌ها است، می‌تواند باعث نارسایی زودرس تخمدان و ناباروری

شود، زیرا فولیکول‌های تخمدان به اثرات آن‌ها بسیار حساس می‌باشند. اگرچه اطلاعات کمی در مورد مکانیسم بیماریزای آسیب تخمدان ناشی از سیکلوفسفامید در دسترس است، سمیت آن به استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز نسبت داده می‌شود. در مطالعه انجام شده توسط Barberino در سال ۲۰۲۲ مشخص گردید که استفاده از ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی و محافظ سلولی برای محافظت از عملکرد تخمدان در برابر اثرات مضر در طول شیمی درمانی یک مزیت قابل توجه خواهد بود (۱۳). استفاده از داروهای هورمونی نیز در درمان سرطان موجب سرکوب عملکرد تخمدان شده و از این طریق از رشد مجدد تومور جلوگیری می‌کند. از جمله داروهای (LHRH) (Luteinizing hormone releasing hormone)، Goserelin و Leuprolide است که به صورت تزریقی استفاده شده و عملکرد تخمدان را ۳-۲ ماه مهار می‌کند. این دارو در درمان سرطان سینه، پروستات و همچنین سرطان رحم کاربرد داشته و به صورت آگونیست گیرنده گنادوتروپین (GnRH Agonist) عمل می‌کند. این دارو سطح تستوسترون و استروژن را در بدن کم نموده و هر ۲۸ روز یک بار به صورت زیر جلدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برخی از بیماران مبتلا به سرطان پستان، گیرنده هورمونی آن‌ها، مثبت تشخیص داده شده و نیاز به سرکوب کافی عملکرد تخمدان دارند، به ویژه زنان جوان یائسه که در معرض افزایش خطر ابتلاء به این بیماری می‌باشند. گوسرلین، لوپرولید و تریپتورلین رایج‌ترین Gonadotrophin-releasing hormone agonists (GnRHa) می‌باشند که برای درمان کمکی استفاده می‌شوند و به روش زیر جلدی و داخل عضلانی تجویز می‌شوند (۱۴-۱۶). گوسرلین نوعی داروی تجویزی است که بر گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های جنسی تأثیر می‌گذارد. این داروها برای موارد مختلفی از جمله در پزشکی باروری و کاهش سطح هورمون‌های جنسی در درمان سرطان‌های حساس به هورمون، مانند سرطان پروستات، سرطان سینه، برخی از اختلالات زنانه مانند پریودهای سنگین و آندومتریوز، سطوح بالای تستوسترون، بلوغ زودرس در کودکان، به عنوان بخشی از هورمون درمانی افراد ترنس و به تعویق انداختن بلوغ در جوانان ترنس استفاده می‌شوند. این دارو از آگونیست‌های گیرنده GnRH است و با افزایش یا کاهش ترشح گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های جنسی توسط غدد جنسی تأثیر می نمایند. هنگامی که برای سرکوب ترشح گنادوتروپین استفاده می‌شود، آگونیست‌های GnRH می‌توانند سطح هورمون‌های جنسی را تا ۹۵ درصد در هر دو جنس کاهش دهند و در صورت استفاده مداوم موجب آسیب‌های اکسیداتیو در بدن می‌شوند (۱۷-۲۱). در افراد بعد از درمان سرطان سینه بحث باروری و ادامه حیات توام با امید مطرح است که لازمه آن برگشت فعالیت تولید مثلی و چرخه تخمدان است. به منظور کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از داروهای شیمی درمانی، می‌توان از عناصر آنتی اکسیدانی استفاده نمود.

آنتی اکسیدان موجود در مواد غذایی و در بدن، حتی مقادیر ناچیز آن، می‌توانند بدن را در مقابل انواع مختلف آسیب‌های استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت نمایند. Conklin در سال ۲۰۰۰ اظهار نمود که جستجو برای یافتن دارویی مفید در جهت پیشگیری از سمیت احتمالی سیکلوفسفامید و گوسرلین ارزشمند بوده و تلاش برای یافتن هر فرآورده طبیعی با اثرات محافظتی در این زمینه از اهمیت بالینی خاصی برخوردار است (۲۲). مطالعات زیادی بر روی اثرات محافظتی آنتی اکسیدان‌ها در تخمدان در برابر مواد شیمی درمانی انجام شده است (۲۳). از جمله ترکیباتی که امروزه زیاد مورد بحث و مطالعه محققین می‌باشد، کورکومین است که از گیاهی با نام زردچوبه، گرفته شده و نام گیاه Curcuma longa می‌باشد، که متعلق به خانواده زنجبیل است. خاصیت دارویی زردچوبه در اصل با جزء اصلی و فعال موجود در ریزوم آن، یعنی curcumin مرتبط است که ترکیب زرد یا نارنجی رنگ زردچوبه را تشکیل می‌دهد. گروه‌های هیدروکسی آن برای فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و گروه‌های متوکسی برای فعالیت ضدالتهابی و ضد تکثیری کورکومین ضروری می‌باشند (۲۴). کورکومین در آب و اتر به صورت نامحلول و در اتانول، دی متیل سولفوکسید (DMSO)، روغن و استون قابل حل است. سال‌هاست که کورکومین در پزشکی سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد و درمان سنتی با زردچوبه به حدود ۵۰۰۰ سال قبل برمی‌گردد. کورکومین به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی، مکانیسم محافظتی خود را در برابر رادیکال‌هایی با افزایش بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اعمال می‌کند (۲۵). به‌طور خلاصه اثرات آنتی اکسیدان و پر اکسیدان کورکومین بدین صورت است که کورکومین می‌تواند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را مهار کرده و به تیروکسین ردوکتاز (TR) متصل شود و آن را به نیکوتینامیدآدنین دی نوکلوئوتید فسفات (NADPH) اکسیداز تبدیل می‌کند که باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. کورکومین از پراکسید شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کند. بیان گلوتاتیون داخل سلولی را زیاد می‌کند. کورکومین از طریق اتصال به آهن می‌تواند اثر آنتی‌اکسیدانی خود را القاء کند و با القا آنزیم هموکسیژناز (HO_1) یک نقش محافظتی در برابر استرس‌های اکسیداتیو دارد (۲۶).

هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر کورکومین به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان بر ساختار تخمدان موش پس از درمان با داروی Goserelin و Cyclophosphamide می‌باشد.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر به صورت تجربه‌ای مداخله‌ای طراحی گردید. تعداد ۱۱۰ سر موش ماده بالغ (۶-۵ هفته) نژاد بالب سی از حیوان‌خانه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری شد و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط استاندارد با مصرف آزاد آب، غذا، ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۶-۲۰ درجه سانتی‌گراد جهت عادت حیوانات با شرایط محیط نگهداری شدند. پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. کورکومین از شرکت باریج اسانس و با نام عصاره زردچوبه و نام تجاریCurcuma longa وارداتی شرکت Sigma حاوی ۹۵/۶۰ درصد کورکومین تهیه گردید. قبل از تزریق دارو (کورکومین) به روش LD50 با در نظر گرفتن ۱۵ سر موش بالب/سی بالغ به سه گروه ۵ تایی دز کشنده (LD) ۲۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تعیین گردید، به همین دلیل دزهای درمانی ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انتخاب شدند. داروی گوسرلین با نام تجاری رسلیگو به صورت ایمپلنت، در یک سرنگ پر شده حاوی۳/۶ میلی‌گرم گوسرلین استات جهت تزریق زیر جلدی ساخت کشور آلمان و داروی سیکلوفسفامید ساخت کشور هند خریداری گردید.

گروه‌های مورد بررسی: تست اسمیر واژینال به مدت ۱۵ روز گرفته شد که هر حیوان دارای ۳ دوره متوالی منظم سیکل استروس (هر سیکل متشکل از پرواستروس، استروس، مت استروس و دی استروس) بود. سپس موش‌ها به ۱۱ گروه ۱۰ تایی به صورت تصادفی به شکل زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل: هیچ دارویی در این گروه مورد استفاده قرار نگرفت. با توجه به مقدار بسیار پایین و قابل اغماض DMSO مورد استفاده به عنوان حلال کورکومین و رعایت حقوق حیوانات با توجه به طراحی آزمایش که در نهایت باید موش‌ها کشته شده، تخمدان‌ها جدا گردید و اطمینان از ایمنی زیستی بالای حلال و کمترین ریسک از طریق منابع و مقالات متعدد کار شده در این زمینه و فارماکوپه دارویی، دز پایین‌تر از ۵۰ میلی‌گرم/روز، فاقد هرگونه اثرات جانبی در تزریق داخل صفاقی برای موش انتخاب گردید. محلول استفاده شده در این بررسی، محلول ۱ مولار DMSO بود که حاوی ۱۳/۷۸ گرم در ۱ لیتر بود. نظر به حل کردن مقادیر مختلف مورد نیاز کورکومین در ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال، مقدار کل DMSO موجود در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول برابر با ۷/۸۱۳ گرم خواهد شد که با توجه به تزریق ۱/۰ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی، مقدار DMSO دریافتی برای هر سر موش ۷/۸۱۳ میلی‌گرم روزانه بود که مقدار بسیار ناچیزی بوده و فاقد هر گونه اثرات جانبی بر روی موش بود.

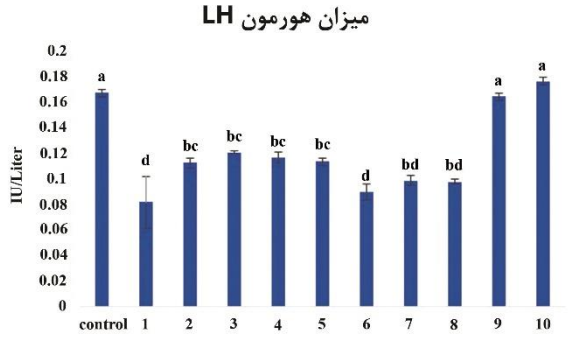
گروه‌های درمان: گروه اول به مدت ۳ ماه داروی سیکلوفسفامید را به صورت IP به فاصله هر ۲۸ روز یک بار با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند. در گروه دوم تا پنجم به مدت ۳ ماه داروی سیکلوفسفامید را به صورت IP به فاصله هر ۲۸ روز یک بار با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند و به مدت ۳ روز قبل و ۱۲ روز پس از تزریقات سیکلوفسفامید، کورکومین به ترتیب با دز: ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم که در DMSO حل شده بود به صورت درون صفاقی دریافت نمودند. گروه ششم به مدت ۳ ماه داروی Goserelin را به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت گردن به فاصله هر ۲۸ روز یک بار با دز ۶/۳ میلی‌گرم دریافت کردند. در گروه‌های هفتم تا دهم به مدت ۳ ماه داروی Goserelin را به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت گردن به فاصله هر ۲۸ روز یک بار با دز ۶/۳ میلی‌گرم دریافت کردند و به مدت ۳ روز قبل و ۱۲ روز پس از تزریقات Goserelin کورکومین به ترتیب با دزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم که در DMSO به عنوان حلال حل شده بود به صورت درون صفاقی دریافت نمودند.

همزمان‌سازی، نمونه‌برداری و ارزیابی هورمونی: جهت همزمان‌سازی سیکل موش‌ها از PMSG وHCG به مقدار IU ۷/۵، با فاصله ۱۲ ساعت استفاده شد. سپس ۴۸ ساعت بعد اسمیر واژینال تهیه گردید که متعاقباً موش‌ها در فاز پرواستروس قرار گرفته بودند. خونگیری از قلب حیوانات انجام شد. نمونه‌های خون در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از لخته شدن با استفاده از سانتریفیوژ ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم نمونه‌ها جدا شد و جهت اندازه‌گیری میزانFSH و LH، آزمایشات سرولوژیک

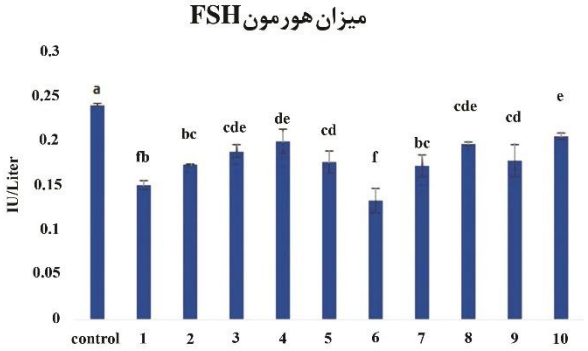
به روش الایزا با استفاده از کیت‌های ۹۶ تایی LH و FSH انجام گرفت. با رعایت اصول آسان‌کشی، قطع نخاع از راه ایجاد جا به جایی در مهره‌های گردن، موش‌ها کشته و تخمدان‌ها خارج گردید.

بررسی ساختارمرفولوژیک و مرفومتریک تخمدان‌ها: جهت بررسی ساختار مرفولوژی و مرفومتری تخمدان، تخمدان‌ها پس از خارج کردن از بدن موش و حذف بافت‌های اضافی، در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند. پس از قالب‌گیری به صورت سریالی و با ضخامت ۷ میکرون، برش داده شده و با رنگ هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند. پس از مشاهده مقاطع بافتی تخمدان در گروه‌های درمانی ساختار تخمدان از نظر مرفولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش آماری: ارزیابی و بررسی نتایج توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. داده‌های به دست آمده با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، برای انجام مقایسه زوج میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) استفاده شد و نتایج در قالب نمودار و جدول تهیه گردید.



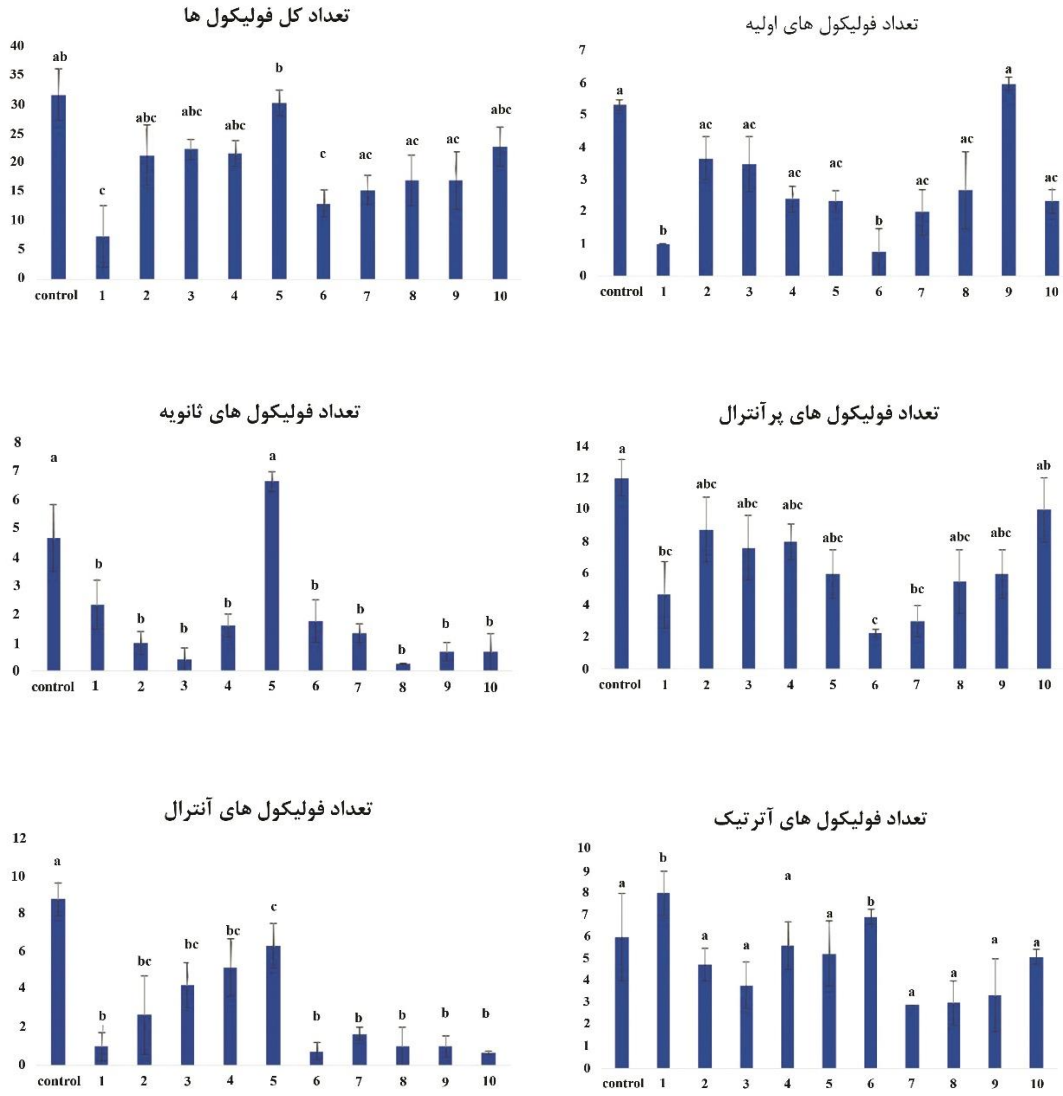
نمودار ۱. اثر کورکومین، سیکلوفسفامید و گوسرلین در میزان هورمون LH ترشح شده از هیپوفیز موش. **میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$). *گروه‌ها شامل: گروه کنترل ۱) سیکلوفسفامید ۲) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۳) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۴) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۵) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۶) گوسرلین ۷) گوسرلین +کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۸) گوسرلین +کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۹) گوسرلین +کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۱۰) گوسرلین +کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم.



نمودار ۲. اثرات کورکومین، سیکلوفسفامید و گوسرلین در میزان هورمون FSH ترشح شده از هیپوفیز موش. **میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$). *گروه‌ها شامل: گروه کنترل ۱) سیکلوفسفامید ۲) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۳) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۴) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۵) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۶) گوسرلین ۷) گوسرلین +کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۸) گوسرلین +کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۹) گوسرلین +کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۱۰) گوسرلین +کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم.

نتایج

میزان LH در گروه‌های مختلف: در بررسی سرولوژیک، مطابق نمودار ۱ مقدار LH در گروه‌های درمان اول تا هشتم در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. به عبارتی تزریق سیکلوفسفامید و گوسرلین موجب کاهش ترشح LH توسط غده هیپوفیز گردید. در گروه درمان با گوسرلین و استفاده همزمان کورکومین با دز ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، مقدار LH در مقایسه با گروه گوسرلین، اختلاف به صورت افزایشی، معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). اما در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در گروه‌های درمان شده با سیکلوفسفامید و استفاده همزمان کورکومین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با سیکلوفسفامید به تنهایی، افزایش معنی‌داری در سطح LH خون مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۳. اثرکورکومین، سیکلوفسفامید و گوسرلین بر روی تعداد انواع مختلف فولیکول‌های تخمدان‌های موش. **میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$). *گروه‌ها شامل: گروه کنترل ۱) سیکلوفسفامید ۲) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۳) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۴) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۵) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۶) گوسرلین ۷) گوسرلین +کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۸) گوسرلین +کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۹) گوسرلین +کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۱۰) گوسرلین +کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم.

میزان FSH در گروه‌های مختلف: مطابق نمودار ۲ مقدار FSH خون در همه گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و کورکومین با دز ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مقدار FSH در مقایسه با گروه درمان شده با سیکلوفسفامید، افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). اما این اختلاف در گروه درمان شده با سیکلوفسفامید و کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با سیکلوفسفامید معنی‌دار نبود. در گروه‌های تحت درمان با گوسرلین و استفاده هم زمان از کورکومین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با گوسرلین به تنهایی، افزایش معنی‌داری در سطح FSH مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

ارزیابی پاتولوژیک سیکلوفسفامید و گوسرلین و کورکومین بر روی تخمدان‌ها: همان گونه که در نمودار ۳ نشان داده شده است، اثرات سیکلوفسفامید و گوسرلین به شرح ذیل قابل مشاهده می‌باشد:

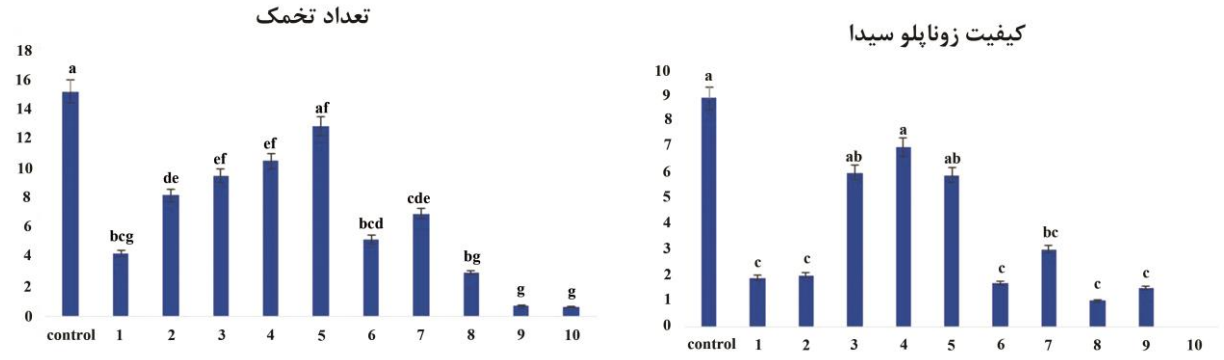
تعداد کل فولیکول‌ها: تعداد کل فولیکول‌ها در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و گوسرلین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). این اختلاف در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود.

تعداد فولیکول‌های اولیه: در بررسی میکروسکوپیک فولیکول‌های اولیه در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و گوسرلین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). اما این اختلاف در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود. در گروه‌های تحت درمان با کورکومین در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید و گوسرلین افزایش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های اولیه ملاحظه شد ($P<۰/۰۵$).

تعداد فولیکول‌های ثانویه: در بررسی میکروسکوپیک در گروه‌های تجربی کاهش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های ثانویه در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). اما در گروه تحت درمان با سیکلوفسفامید و کورکومین هم زمان با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل افزایش تعداد فولیکول‌های ثانویه ملاحظه شد گرچه این اختلاف معنی‌دار نبود.

تعداد فولیکول‌های پرآنترال: در بررسی گروه‌های تجربی، گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و گوسرلین و گروه تحت درمان با گوسرلین و توأم با کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، کاهش معنی‌داری در تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). در سایر گروه‌های تجربی، کاهش در تعداد فولیکول‌های پره‌آنترال ملاحظه شد اما در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نگردید.

تعداد فولیکول‌های آنترال: تعداد فولیکول‌های آنترال در گروه‌های اول تا دهم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). در گروه (۵) افزایش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های آنترال در مقایسه با گروه (۱) ملاحظه شد اما این اختلاف در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود.



نمودار ۴. مقایسه اثرات کورکومین، سیکلوفسفامید و گوسرلین بر روی تعداد تخمک و کیفیت زوناپلوسیدا در موش. **میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<۰/۰۵$). *گروه‌ها شامل: گروه کنترل ۱) سیکلوفسفامید ۲) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۳) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۴) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۵) سیکلوفسفامید+کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۶) گوسرلین ۷) گوسرلین +کورکومین با دز ۱۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۸) گوسرلین +کورکومین با دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ۹) گوسرلین +کورکومین با دز ۳۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم ۱۰) گوسرلین +کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم.

تعداد فولیکول‌های آترتیک: در گروه تحت درمان با سیکلوفسفامید و گوسرلین تعداد فولیکول‌های آترتیک بیشتری در مقایسه با گروه کنترل ملاحظه گردید که این افزایش معنی‌دار بود. در سایر گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

تعداد تخمک: نمودار ۴ بیانگر اثرات کورکومین، سیکلوفسفامید و گوسرلین بر روی تعداد تخمک و کیفیت زونا پلوسیدا در موش‌های تحت مطالعه می‌باشد.

در گروه‌های اول تا دهم به استثنای گروه پنجم (تحت درمان با سیکلوفسفامید و کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) تعداد تخمک در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). اما در گروه تحت درمان با سیکلوفسفامید همزمان با کورکومین با دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل این اختلاف معنی‌دار نبود. در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید همزمان با کورکومین با دزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه تحت درمان با سیکلوفسفامید افزایش معنی‌داری در تعداد تخمک‌ها مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

در گروه‌های تحت درمان با گوسرلین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان با گوسرلین افزایش معنی‌داری در تعداد تخمک مشاهده نگردید.

کیفیت زونا پلوسیدا: کیفیت زوناپلوسیدا در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و گروه سیکلوفسفامید با کورکومین ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و همچنین گروه‌های تحت درمان با گوسرلین و گوسرلین با کورکومین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). گروه‌های تحت درمان همزمان سیکلوفسفامید با کورکومین ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم افزایش کیفیت زوناپلوسیدا در مقایسه با گروه سیکلوفسفامید وجود داشت گرچه این اختلاف با گروه کنترل معنی‌دار نبود.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تجویز داروی سیکلوفسفامید و گوسرلین اثرات منفی در نتایج حاصل از بررسی ساختار میکروسکوپیک و سطح هورمون‌های گنادوتروپین (FSH و LH) داشته، به طوری که باعث کاهش تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های ثانویه، فولیکول‌های پره‌آنترال، فولیکول‌های آنترال شده و باعث افزایش تعداد فولیکول‌های آترتیک شد (نمودار ۳). از طرف دیگر، تعداد تخمک و کیفیت زوناپلوسیدا نیز کاهش پیدا کرد. یافته‌ها حاکی از کاهش معنی‌دار مقدار هورمون‌های FSH، LH در سطح سرم خونی بود (نمودار ۱،۲).

نتایج به دست آمده نشان دادند که به کارگیری کورکومین هنگام مصرف سیکلوفسفامید و گوسرلین به عنوان ماده آنتی‌اکسیدان دارویی محافظ برای کاهش اثرات منفی سیکلوفسفامید و گوسرلین در تعداد کل فولیکول‌ها، فولیکول‌های اولیه، فولیکول‌های پر آنترال و آنترال بود (نمودار ۳)، اما به ظاهر در مورد تعداد فولیکول‌های ثانویه و تعداد تخمک این اثر محافظتی کورکومین در استفاده همزمان با سیکلوفسفامید وابسته به دز بود، به طوری که استفاده همزمان دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کورکومین با سیکلوفسفامید موجب تعدیل اثر منفی سیکلوفسفامید شد، به طوری که با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین فولیکول‌های آترتیک در دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کورکومین همزمان با سیکلوفسفامید اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد. دزهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کورکومین همزمان با سیکلوفسفامید موجب تعدیل کیفیت زونا پلوسیدا شد و در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. استفاده همزمان کورکومین با گوسرلین بر تعداد تخمک و کیفیت زوناپلوسیدا اثر محافظتی نداشت (نمودار ۴). با توجه به مکانیسم عمل داروی گوسرلین که آگونیست گیرنده‌های GnRH می‌باشد و نحوه تجویز داروی گوسرلین که به صورت آهسته رهش (ایمپلنت) می‌باشد این فرضیه مطرح می‌شود که اثر دارو بر ساختار تخمدانی آهسته و پیوسته می‌باشد و با توجه به مقالات پیشین که اثر بازدارندگی از بلوغ زودرس می‌شود امکان تخمک‌گذاری را به حداقل رسانده و کورکومین به عنوان فعال آنتی اکسیدانی نمی‌تواند این اثر را تعدیل نماید. مطالعات پیشین نیز یافته‌های حاضر را تأیید نمود. در مطالعه‌ای که بر روی رت‌های بالغ ماده صورت گرفت نشان داده شد که مصرف ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم سیکلوفسفامید به صورت روزانه به مدت ۲۱ روز باعث کاهش هورمون‌های جنسی و دژنراسیون در انواع مختلفی از فولیکول‌ها شد. در مطالعه انجام شده توسط Ghosh و همکاران در سال ۲۰۰۱، شیمی درمانی با سیکلوفسفامید بر روی ساختار تخمدان

اثر گذاشته و آن را تغییر داد. این تغییر به صورت تخریب فولیکول‌های تخمدانی، به خصوص فولیکول‌های اولیه بود. با کاهش فولیکول‌های تخمدانی، تخمدان کاهش قطر (آتروفی) یافته و ضخامت آندومتر نیز کاهش یافت (۲۷). در مطالعه حاضر، یافته‌های حاصل از بررسی سرولوژیک نشان داد که تزریق سیکلوفسفامید و گوسرلین موجب کاهش ترشح هورمون LH توسط غده هیپوفیز گردید (نمودار ۱). در گروه‌های درمان شده با گوسرلین و استفاده همزمان کورکومین با دز ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با گوسرلین به تنهایی افزایش معنی‌داری در سطح هورمون LH شاهد بودیم. در گروه‌های درمان شده با سیکلوفسفامید و استفاده همزمان کورکومین با دز ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با سیکلوفسفامید افزایش معنی‌داری در سطح هورمون LH خون مشاهده گردید. مقدار هورمون FSH خون در همه گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌دار داشت. در گروه‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید و کورکومین با دز ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مقدار هورمون FSH در مقایسه با گروه درمان شده با سیکلوفسفامید افزایش معنی‌دار نشان داد. در گروه‌های تحت درمان با گوسرلین و استفاده همزمان از کورکومین با دز ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه درمان شده با گوسرلین به تنهایی افزایش معنی‌داری در سطح FSH مشاهده شد.

در مطالعه‌ای دیگر توسط Elangovan و همکاران در سال ۲۰۰۶، اثر سیکلوفسفامید بر روی موش‌های آزمایشگاهی نر انجام شد. سیکلوفسفامید با دز ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هفته‌ای ۱ بار به مدت ۵ هفته به صورت درون صفاقی تزریق شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بعد از ۵ هفته سطوح هورمون لوتئینی LH و هورمون محرک فولیکولی FSH کاهش پیدا کرد و کاهش سطح هورمون تستوسترون به صورت معنی‌دار بود. همچنین کاهش وزن بدن، وزن بیضه و تعداد و تحرک اسپرم نیز مشاهده شد (۲۸). در بررسی انجام شده توسط Shaw و همکاران در سال ۱۹۷۹، مهار هورمون‌های استروئیدی بیضه در موش‌های صحرایی تحت درمان با سیکلوفسفامید ممکن است نتیجه سطوح پایین پلاسمایی گنادوتروپین‌ها باشد، زیرا آنزیم‌های استروئیدوژنیک تنظیم کننده‌های اصلی آن‌ها می‌باشد (۲۹).

در مطالعه انجام شده توسط Chainy در سال ۱۹۹۷ مشخص گردید که افزایش رادیکال‌های آزاد بیضه در موش‌های تحت درمان با سیکلوفسفامید با کاهش فعالیت‌های پراکسیداز و کاتالاز بیضه حمایت می‌شود، زیرا این آنزیم‌های پاک کننده مهم در برابر رادیکال‌های آزاد می‌باشند (۳۰).

درمان‌های سرطان از قبیل شیمی درمانی و هورمون درمانی اگرچه برای بقای بیمار ضروری است اما اغلب دارای اثرات جانبی زیادی بر بدن، از جمله روی سیستم تولید مثل می‌باشد. ناباروری یکی از عواقب قابل توجه شیمی درمانی بر روی سیستم تولید مثل است، به ویژه در بیماران جوانی که درمان خود را قبل از این که فرصت فرزنددار شدن داشته باشند شروع کرده‌اند. از آنجا که حفظ باروری، مورد بسیار مهمی برای نجات یافتگان سرطان است، لذا ارائه روشی برای حفظ عملکرد تخمدان و باروری آینده در بیمارانی که داروی شیمی درمانی و هورمونی دریافت می‌کنند امری ضروری است. بررسی انجام شده توسط Hassanpour و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی رت‌های نر نژاد ویستار نشان داد که تزریق سیکلوفسفامید با دز ۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم ۱ بار در هفته به مدت ۱۰ هفته باعث تغییرات غیر طبیعی در سطوح و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاهش گلوتاتیون، اسید آسکوربیک و آلفا توکوفرول می‌شود. همچنین باعث افزایش تولید اسپرم‌های غیر طبیعی، کاهش حرکت اسپرم‌ها و افزایش آسیب DNA اسپرم شد (۵).

تعدادی از گزارش‌ها، اثرات نامطلوب سیکلوفسفامید را بر باروری در انسان و حیوانات هر دو جنس تشریح کردند (۳۱، ۳۲). مردان تحت درمان با سیکلوفسفامید، برای بیش از ۴ ماه، دچار الیگواسپرمی یا آزوسپرمی شدند (۳۳، ۳۴). در زنان این دارو باعث سمیت تخمدان، نارسایی تخمدان همراه با آمنوره و ناباروری شد (۳۵-۳۷).

سیکلوفسفامید باعث افزایش تولید مولکول‌های (Reactive oxygen species) (ROS) شد و نشان داد که تخریب بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سیکلوفسفامید می‌تواند به دلیل استرس اکسیداتیو باشد (۳۸-۴۰). در مطالعه انجام شده توسط Hoffman در سال ۲۰۰۳ نشان داده شد که پرتوگاما با دوز ۲گری بدون عوارض جانبی نبوده و سبب تغییرات هورمونی در روند اسپرماتوژنز و شکست مولکول DNA گردید و کورکومین باعث کاهش و تعدیل این تغییرات شده و مولکول DNA وضعیتی نزدیک به حالت طبیعی را نشان داد (۴۱). در مطالعه‌ای، کورکومین دارای توانایی زیادی در جبران آسیب‌های ایجاد شده در گنادهای جنسی نر توسط سیس‌پلاتین بود (۳). در مطالعه

دیگر کورکومین با اثرات آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی خود توانست در تعدیل علائم سندروم پلی کیستیک تخمدان (PCOS) و اختلالات اندوکرینی مؤثر واقع شده و باعث آغاز مجدد اوولاسیون گردد (۲۱).

Kamali و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که سرب، موجب تغییرات دژنراتیو مزمن بر بافت بیضه و تغییرات هورمونی می‌شود و ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در زردچوبه به خصوص کورکومین می‌تواند از بروز برخی عوارض اکسیداتیو موش صحرایی بکاهد (۴۲). کورکومین تأثیر بهبود دهنده بر عوارض ناشی از PCOS ایجاد شده توسط لتروزول در رت‌های ماده نژاد ویستار داشته و پیشنهاد شده به طور گسترده در درمان این سندروم مورد استفاده قرار گیرد (۴۳، ۴۴). در مطالعه‌ای توسط Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۷ مشخص گردید که کورکومین خاصیت ضدالتهابی و نقش حمایتی در درمان PCOS از طریق تأثیر بر سطح TNF و IL-6 داشته و اختلالات اندوکرینی را تعدیل کرده است (۴۵). خواص فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک کورکومین و رویکرد فرمولاسیون آن به ایجاد ایده برای استفاده از کورکومین به عنوان یک عامل حساس کننده شیمیایی برای درمان سرطان کولورکتال کمک می‌کند (۴۶). اثرات آنتی‌اکسیدانی و نیز خاصیت ضد التهابی کورکومین، باعث افزایش اهمیت آن در مدیریت سرطان روده بزرگ شده است (۴۷).

شواهد موجود قویاً حاکی از آن است که کورکومین مراحل اصلی تومورزایی، از جمله تکثیر سلولی، بقا، رگ‌زایی و متاستاز را در سرطان پستان مستقل از هورمون، از طریق اثر تعدیل کننده‌اش بر عملکرد مسیرهای سیگنالینگ متعدد قطع می‌کند (۴۸). سیس پلاتین (CP) به عنوان داروی شیمی درمانی آسیب DNA و آپوپتوز را تحریک می‌کند. با این حال، سیس پلاتین اثرات نامطلوبی بر چندین اندام بدن دارد. تجویز کورکومین سطوح ROS را کاهش می‌دهد تا از آپوپتوز در سلول‌های طبیعی جلوگیری نماید. علاوه بر این، کورکومین می‌تواند التهاب را از طریق تنظیم پایین NF-kB برای حفظ عملکرد طبیعی اندام‌ها مهار کند. کورکومین و نانوفرمولاسیون‌های آن می‌توانند سمیت کبدی، سمیت عصبی، سمیت کلیوی، سمیت گوش و سمیت قلبی ناشی از CP را کاهش دهند. قابل ذکر است، کرکومین سمیت سلولی CP را از طریق توقف چرخه مرگ سلولی، تقویت می‌کند (۴۹). امروزه می‌دانیم که کورکومین دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است که اثرات مفیدی بر سیستم قلبی و عصبی دارد و همچنین اثرات فارماکولوژیک بر برخی بیماری‌ها مانند دیابت، آلزایمر، تصلب شرایین، برخی از بیماری‌های سیستم ایمنی و سرطان دارد (۵۰). کورکومین خواص ضد سرطانی را برای انواع مختلفی از بدخیمی‌ها در مطالعات in vitro و in vivo نشان داده است. بدخیمی‌های دستگاه گوارش، سرطان ریه، سلول‌های سرطانی مغز، لوسمی، ملانوما و سرطان‌های کلیه، سینه، پروستات و لوزالمعده نمونه‌هایی از مهار سرطان‌ها توسط کورکومین هستند. همچنین نشان داده شده است که کورکومین اثرات ضد سرطانی داروهای شیمی درمانی و رادیوتراپی را تقویت می‌کند (۵۱، ۵۲). در سلول‌های تحت درمان با سیس پلاتین، کورکومین موفق شد سمیت کلیوی را عمدتاً از طریق کاهش بیان کراتینین کاهش دهد (۵۳). در مطالعه‌ای بر روی ۱۶۰ بیمار مبتلا به تومورهای جامد، مشخص شد که کورکومین به صورت لسیتین کورکومین می‌تواند منجر به کاهش عوارض جانبی سیتواستاتیک داروهای شیمی درمانی گردد (۵۴). کورکومین در برابر اثرات مخرب کادمیوم کلراید که بر پارامترهای اسپرمی موش‌های بالغ اعمال شده، نقش حفاظتی ایفا می‌کند (۵۵). در مطالعه‌ای سدیم ارسنیت باعث اثرات مخرب بر روی تعداد اسپرم و ساختار بافت بیضه موش‌های بالغ شد و نشان داده شد که کورکومین دارای نقش حفاظتی در برابر تغییرات ایجاد شده توسط این آلاینده زیست محیطی دارد (۵۶). در مطالعه دیگری، کورکومین دارای نقش حفاظتی در کلونی‌زایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی رت‌های تحت پرتودرمانی داشت (۵۷). کورکومین نیز دارای نقش حمایتی آنتی‌اکسیدانی بر اسپرماتوزوای تحت استرس اکسیداتیو گاو داشته است. این فرآورده طبیعی می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ متعددی را تنظیم کند و اهداف مولکولی مختلفی را تحت تأثیر قرار دهد. و با توجه به هزینه پایین و امنیت فارماکولوژی و کارآمدی و اهداف مولکولی متعدد کورکومین را به فرآورده‌ای امیدبخش برای پیشگیری از اثرات مواد مختلف و بیماری‌ها پیش بینی کرده‌اند (۵۸-۶۲).

نتیجه‌گیری نهایی: با در نظر گرفتن مطالعات قبل و مطالعه حاضر، این ایده تقویت شد که کورکومین با فعالیت آنتی اکسیدانی خود شاید بتواند سیستم تولید مثلی را از آسیب‌های ناشی از تجویز سیکلوفسفامید و گوسرلین که اغلب موجب ناباروری می‌شود محافظت نماید.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Ezoe K, Murata N, Yabuuchi A, Okuno T, Kobayashi T, Kato O, Kato K. Long-term adverse effects of cyclophosphamide on follicular growth and angiogenesis in mouse ovaries. Reprod Biol. 2014;14(3):238-42. doi: 10.1016/j.repbio.2014.04.007 PMID: 25152523

2. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. Nat Rev Clin Oncol. 2009;6(11):638-47. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.146 PMID: 19786984

3. Bonadonna G, Brusamolino E, Valagussa P, Rossi A, Brugnatelli L, Brambilla C, De Lena M, Tancini G, Bajetta E, Musumeci R, Veronesi U. Combination chemotherapy as an adjuvant treatment in operable breast cancer. N Engl J Med. 1976;19;294(8):405-10. doi: 10.1056/NEJM197602192940801 PMID: 1246307

4. Jaffe N, Link MP, Cohen D, Traggis D, Frei E 3rd, Watts H, Beardsley GP, Abelson HT. High-dose methotrexate in osteogenic sarcoma. Natl Cancer Inst Monogr. 1981;(56):201-6. PMID: 6975438

5. Hassanpour A, Yousefian S, Askaripour M, Sharififar F, Ezzatabadipour M. Ovarian protection in cyclophosphamide-treated mice by fennel. Toxicol Rep. 2017;14;4:160-164. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.03.002 PMID: 28959636

6. Jarrell J, Lai EV, Barr R, McMahon A, Belbeck L, O'Connell G. Ovarian toxicity of cyclophosphamide alone and in combination with ovarian irradiation in the rat. Cancer Res. 1987;1;47(9):2340-3. PMID: 3105875

7. Farokhi F, Sadrkhanlou R A, Hasanzadeh S, Soltan A F. Morphological and morphometrical study of cyclophosphamide-induced changes in the ovary and uterus in the Syrian mice. (Iran). J Vet Res. 2007;8(4)337–342.

8. Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. Hum Reprod. 2004;19(6):1294-9. doi: 10.1093/humrep/deh257 PMID: 15117898

9. Santoro N. Mechanisms of premature ovarian failure. (Paris). Ann Endocrinol. 2003;64(2):87-92. PMID: 12773939

10. Timmreck LS, Reindollar RH. Contemporary issues in primary amenorrhea. Obstet Gynecol Clin North Am. 2003;30(2):287-302. doi: 10.1016/s0889-8545(03)00027-5 PMID: 12836721

11. Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. J Clin Oncol. 1996;14(5):1718-29. doi: 10.1200/JCO.1996.14.5.1718 PMID: 8622093

12. Talebi A, Hayat P, Ghanbari A, Ardekanian M, Zarbakhsh S. Sesamol protects the function and structure of rat ovaries against side effects of cyclophosphamide by decreasing oxidative stress and apoptosis. J Obstet Gynaecol Res. 2022;48(7):1786-1794. doi: 10.1111/jog.15315 PMID: 35613704

13. Barberino RS, Silva RLS, Palheta Junior RC, Smitz JEJ, Matos MHT. Protective Effects of Antioxidants on Cyclophosphamide-Induced Ovarian Toxicity. Biopreserv Biobank. 2022;13. doi: 10.1089/bio.2021.0159. Epub ahead of print. PMID: 35696235

14. Gupta A, Bandaru S, Manthri S. Goserelin ovarian ablation failure in premenopausal women with breast cancer. Cureus. 2021;15;13(11):e19608. doi: 10.7759/cureus.19608 PMID: 34956746

15. de Ciantis M, Faure C, Heudel PE, Tredan O, Rousset-Jablonski C. Ovarian suppression failure during GnRH agonist treatment: A report of three breast cancer patients. J Gynecol Obstet Hum Reprod. 2018;47(6):261-264. doi: 10.1016/j.jogoh.2018.03.002 PMID: 29510273

16. Taylor C, Meisel J, Kalinsky K. Are we closer to being able to select patients with node-positive hormone receptor-positive breast cancer who can safely omit chemotherapy? Ther Adv Med Oncol. 2022;26;14:17588359221084769. doi: 10.1177/17588359221084769 PMID: 35356261

17. Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas. Indian J Endocrinol Metab. 2011;15(4):261-7. doi: 10.4103/2230-8210.85575 PMID: 22028996

18. Maouris P, Dowsett M, Rose G, Edmonds DK, Rothwell C, Robertson WR. The effect of danazol and the LHRH agonist analogue goserelin (Zoladex) on the biological activity of luteinizing hormone in women with endometriosis. Clin Endocrinol (Oxf). 1990;33(4):539-46. doi: 10.1111/j.1365-2265.1990.tb03891.x PMID: 2146047

19. Thomas EJ, Jenkins J, Lenton EA, Cooke ID. Endocrine effects of goserelin, a new depot luteinising hormone releasing hormone agonist. Br Med J (Clin Res Ed). 1986;29;293(6559):1407-8. doi: 10.1136/bmj.293.6559.1407-a PMID: 2948607

20. Matta WH, Shaw RW, Burford GD. Endocrinologic and clinical evaluation following a single administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist (Zoladex), in a depot formulation, to premenopausal women. Fertil Steril. 1988;49(1):163-5. doi: 10.1016/s0015-0282(16)59670-8 PMID: 2961621

21. Novara G, Galfano A, Secco S, Ficarra V, Artibani W. Impact of surgical and medical castration on serum testosterone level in prostate cancer patients. Urol Int. 2009;82(3):249-55. doi: 10.1159/000209352 PMID: 19440008

22. Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. Nutr Cancer. 2000;37(1):1-18. doi: 10.1207/S15327914NC3701_1 PMID: 10965514

23. Anahara R, Toyama Y, Mori C. Review of the histological effects of the anti-androgen, flutamide, on mouse testis. Reprod Toxicol. 2008;25(2):139-43. doi: 10.1016/j.reprotox.2007.12.003 PMID: 18243649

24. Barnes J, Anderson LA. Phillipson JD Herbal Medicines, 1st ed, Pharmaceutical Press Ltd, London, UK, 2007.p.128.

25. Shehzad A, Rehman G, Lee YS. Curcumin in inflammatory diseases. Biofactors. 2013;39(1):69-77. doi: 10.1002/biof.1066 PMID: 23281076

26. Ayoubi A, Valizade R., Omidi A, Babayi A. The protective effect of turmeric (Curcuma longa) to damage caused by lead acetate on feed intake, body weight change and reproductive performance of male Wistar rats. (IJAS), 2016;8(3),520-529. doi: 10.22067/IJASR.V8I3.28227

27. Ghosh S, Misro M, Das UB, Maiti R, Debnath JM, Ghosh D. Effect of human chorionic gonadotrophin coadministration on ovarian steroidogenic and folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. Reprod Toxicol. 2001;15(2):221-5. doi: 10.1016/s0890-6238(01)00114-9 PMID: 11297880

28. Elangovan N, Chiou TJ, Tzeng WF, Chu ST. Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilizing ability in mice. Toxicology. 2006;1;222(1-2):60-70. doi: 10.1016/j.tox.2006.01.027 PMID: 16517039

29. Shaw MJ, Georgopoulos LE, Payne AH. Synergistic effect of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on testicular delta 5-3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase: application of a new method for the separation of testicular compartments. Endocrinology. 1979;104(4):912-8. doi: 10.1210/endo-104-4-912 PMID: 436766

30. Chainy GB, Samantaray S, Samanta L. Testosterone-induced changes in testicular antioxidant system. Andrologia. 1997;29(6):343-9. doi: 10.1111/j.1439-0272.1997.tb00328.x PMID: 9430440

31. Kumar R, Biggart JD, McEvoy J, McGeown MG. Cyclophosphamide and reproductive function. Lancet. 1972;3;1(7762):1212-4. doi: 10.1016/s0140-6736(72)90927-0 PMID: 4113192

32. Uldall PR, Kerr DN, Tacchi D. Sterility and cyclophosphamide. Lancet. 1972;25;1(7752):693-4. doi: 10.1016/s0140-6736(72)90502-8 PMID: 4125201

33. Fairley KF, Barrie JU, Johnson W. Sterility and testicular atrophy related to cyclophosphamide therapy. Lancet. 1972;1(7750):568-9. doi: 10.1016/s0140-6736(72)90358-3 PMID: 4110052

34. Fukutani K, Ishida H, Shinohara M, Minowada S, Niijima T, Hijikata K, Izawa Y. Suppression of spermatogenesis in patients with Behçet's disease treated with cyclophosphamide and colchicine. Fertil Steril. 1981;36(1):76-80. doi: 10.1016/s0015-0282(16)45622-0 PMID: 6788612

35. Ataya KM, McKanna JA, Weintraub AM, Clark MR, LeMaire WJ. A luteinizing hormone-releasing hormone agonist for the prevention of chemotherapy-induced ovarian follicular loss in rats. Cancer Res. 1985;45(8):3651-6. PMID: 3926307

36. Mattison DR, Chang L, Thorgeirsson SS, Shiromizu K. The effects of cyclophosphamide, azathioprine, and 6-mercaptopurine on oocyte and follicle number in C57BL/6N mice. Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1981;31(1):155-61. PMID: 7196066

37. Shiromizu K, Thorgeirsson SS, Mattison DR. Effect of cyclophosphamide on oocyte and follicle number in Sprague-Dawley rats, C57BL/6N and DBA/2N mice. Pediatr Pharmacol (New York). 1984;4(4):213-21. PMID: 6522129

38. Das UB, Mallick M, Debnath JM, Ghosh D. Protective effect of ascorbic acid on cyclophosphamide- induced testicular gametogenic and androgenic disorders in male rats. Asian J Androl. 2002;4(3):201-7. PMID: 12364977

39. Ghosh D, Das UB, Ghosh S, Mallick M, Debnath J. Testicular gametogenic and steroidogenic activities in cyclophosphamide treated rat: a correlative study with testicular oxidative stress. Drug Chem Toxicol. 2002;25(3):281-92. doi: 10.1081/dct-120005891 PMID: 12173249

40. Manda K, Bhatia AL. Prophylactic action of melatonin against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mice. Cell Biol Toxicol. 2003;19(6):367-72. doi: 10.1023/b:cbto.0000013342.17370.16 PMID: 15015761

41. Hoffman-Goetz L. Physical activity and cancer prevention: animal-tumor models. Med Sci Sports Exerc. 2003;35(11):1828-33. doi: 10.1249/01.MSS.0000093621.09328.70 PMID: 14600546

42. Kamali E, Ghaedi K, Karimi P, Kheradmand P, Tavassoli M. Biological and anticancer effects of curcumin. (Iran). JIMS. 2014;31(265),2097-2112.

43. Nabiuni M, Mohammadi S, Kayedpoor P, Karimzadeh L. The effect of curcumin on the estradiol valerate-induced polycystic ovary in rats. (Iran). FEYZ. 2015;18(6),515-523.

44. Reddy PS, Begum N, Mutha S, Bakshi V. Beneficial effect of curcumin in letrozole induced polycystic ovary syndrome. Asian Pac J Reprod. 2016;5(2),116-122. doi: 10.1016/j.apjr.2016.01.006

45. Mohammadi S, Kayedpoor P, Karimzadeh-Bardei L, Nabiuni M. The Effect of Curcumin on TNF-α, IL-6 and CRP Expression in a Model of Polycystic Ovary Syndrome as an Inflammation State. J Reprod Infertil. 2017;18(4):352-360. PMID: 29201665

46. Karthika C, Hari B, Mano V, Radhakrishnan A, Janani SK, Akter R, Kaushik D, Rahman MH. Curcumin as a great contributor for the treatment and mitigation of colorectal cancer. Exp Gerontol. 2021;152:111438. doi: 10.1016/j.exger.2021.111438 PMID: 34098006

47. Kabir MT, Rahman MH, Akter R, Behl T, Kaushik D, Mittal V, Pandey P, et all. Potential Role of Curcumin and Its Nanoformulations to Treat Various Types of Cancers. Biomolecules. 2021;7;11(3):392. doi: 10.3390/biom11030392 PMID: 33800000

48. Farghadani R, Naidu R. Curcumin: Modulator of Key Molecular Signaling Pathways in Hormone-Independent Breast Cancer. Cancers (Basel). 2021;8;13(14):3427. doi: 10.3390/cancers13143427 PMID: 34298639

49. Abadi AJ, Mirzaei S, Mahabady MK, Hashemi F, Zabolian A, Hashemi F, Raee P, et all. Curcumin and its derivatives in cancer therapy: Potentiating antitumor activity of cisplatin and reducing side effects. Phytother Res. 2022;36(1):189-213. doi: 10.1002/ptr.7305 PMID: 34697839

50. Ashrafizadeh M, Najafi M, Makvandi P, Zarrabi A, Farkhondeh T, Samarghandian S. Versatile role of curcumin and its derivatives in lung cancer therapy. J Cell Physiol. 2020;235(12):9241-9268. doi: 10.1002/jcp.29819 PMID: 32519340

51. Ashrafizadeh M, Zarrabi A, Hashemi F, Moghadam ER, Hashemi F, Entezari M, Hushmandi K, et all. Curcumin in cancer therapy: A novel adjunct for combination chemotherapy with paclitaxel and alleviation of its adverse effects. Life Sci. 2020;1;256:117984. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117984 PMID: 32593707

52. Najafi M, Mortezaee K, Rahimifard M, Farhood B, Haghi-Aminjan H. The role of curcumin/curcuminoids during gastric cancer chemotherapy: A systematic review of non-clinical study. Life Sci. 2020;15;257:118051. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118051 PMID: 32634426

53. Kumar P, Sulakhiya K, Barua CC, Mundhe N. TNF-α, IL-6 and IL-10 expressions, responsible for disparity in action of curcumin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Mol Cell Biochem. 2017;431(1-2):113-122. doi: 10.1007/s11010-017-2981-5 PMID: 28258441

54. Belcaro G, Hosoi M, Pellegrini L, Appendino G, Ippolito E, Ricci A, Ledda A, et al. A controlled study of a lecithinized delivery system of curcumin (Meriva®) to alleviate the adverse effects of cancer treatment. Phytother Res. 2014;28(3):444-50. doi: 10.1002/ptr.5014 PMID: 23775598

55. Momeni HR., Chehrei S, Atabaki Z, Eskandari N. Study of the effect of curcumin on sperm parameters dysfunction induced by cadmium in mice. (Iran). Pajoohande. 2015;20(2):54-62.

56. Soleimani Mehrnjani M, Shokuhande MH. Stereological study of the protective effect of green tea and curcumin extract on the testicular tissue of mice treated with sodium arsenite. (Iran). JCT. 2015;5(4),429-437.

57. Azarmi S, Hoseini pajooh KH, Tajik P, Lashkari M. The Protective Effect of Curcumin on the Proliferation and Colonization of Spermatogonial Stem Cells in Gamma-Irradiated Rats. J Adv Biomed Res. 2022;12(2),194-202. doi: 10.18502/jabs.v12i2.9884

58. Tvrdá E, Tušimová E, Kováčik A, Paál D, Greifová H, Abdramanov A, Lukáč N. Curcumin has protective and antioxidant properties on bull spermatozoa subjected to induced oxidative stress. Anim Reprod Sci. 2016;172:10-20. doi: 10.1016/j.anireprosci.2016.06.008 PMID: 27377223

59. Jacob SW, Wood DC. Dimethyl sulfoxide (DMSO). Toxicology, pharmacology, and clinical experience. Am J Surg. 1967;114(3):414-26. doi: 10.1016/0002-9610(67)90166-3 PMID: 5340064

60. Uranuma T. An Experimental Study on a Toxicity of Dimethyl-Sulf oxide as a Solvent. 8th ed. Igaku Kenkyu Ltd. Fukuoka, Japan 1960.

61. Cajolle F, Caujolle D, Bouyssou H, Calvet MM. Toxicite et aptitudes pharmacologiques du dimethylsulfoxide E [Toxicity and pharmacological aptitudes of dimethylsulfoxide]. C R Hebd Seances Acad Sci. 1964;17;258:2224-6. PMID: 14139977

62. Rengstorff RH, Petrali JP, Sim VM. Cataracts induced in guinea pigs by acetone, cyclohexanone, and dimethyl sulfoxide. Am J Optom Arch Am Acad Optom. 1972;49(4):308-19. doi: 10.1097/00006324-197204000-00003 PMID: 4503502