



اثر محافظتی کورکومین بر هورمون‌های موثر بر فرآیند اسپرماتوژنز و شکست مولکولی DNA تابش یافته توسط پرتو گاما در موش صحرایی

زهرا حمزوی جهرمی*، سمانه ذوالقدری جهرمی، وحید حمایت‌خواه جهرمی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست‌شناسی، جهرم، ایران

مسئول مکاتبات: z_hamzavi57@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۰

چکیده

پرتودرمانی یکی از مراحل درمانی سرطان است که سبب آسیب سلول‌های سالم بدن نیز می‌گردد. بدین منظور ترکیباتی با نام داروهای محافظ پرتوی قبل از تابش اشعه تجویز شده تا آسیب و مرگ ناشی از پرتوهای یونیزان را کاهش دهند. کورکومین بعنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر محافظتی کورکومین بر تغییرات هورمونی موثر در اسپرماتوژنز و شکست مولکولی DNA ناشی از پرتودهی گاما می‌باشد. تعداد ۷۰ راس موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار به ۱۰ گروه شامل: کنترل (بدون هرگونه عملیات)، شاهد (دریافت روغن زیتون)، تجربی ۱ (دریافت حداکثر کورکومین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، تجربی ۲ (دریافت متوسط کورکومین با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، تجربی ۳ (دریافت حداقل کورکومین با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، تجربی ۴ (دریافت حداکثر کورکومین + اشعه با همان دوز حداکثر)، تجربی ۵ (دریافت متوسط کورکومین + اشعه با همان دوز متوسط)، تجربی ۶ (دریافت حداقل کورکومین + اشعه با همان دوز حداقل)، تجربی ۷ (دریافت حلال + اشعه)، تجربی ۸ (دریافت اشعه) تقسیم شدند. همه‌ی حیوانات داروها را به مدت ۱۵ روز و به روش درون صفاقی دریافت کردند. سپس بعد از بیهوشی، عمل خونگیری از قلب و جداسازی سرم برای سنجش هورمون‌های LH و FSH و تستوسترون و جداسازی سلول مغز استخوان جهت بررسی شکست مولکول DNA صورت گرفت. جهت سنجش هورمونی از روش ELIZA و برای بررسی شکست مولکول DNA از الکتروفورز روی ژل آگاروز و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد. آنالیز آماری بر اساس نرم‌افزار SPSS 15 و آنالیز داده‌ها توسط تست Duncan و ANOVA دوطرفه صورت گرفته است. نتایج نشان دادند که پرتودهی گاما با دوز ۲ سبب کاهش معنی‌دار غلظت سرمی هورمون تستوسترون و افزایش معنی‌دار هورمون LH و FSH در سطح $p \leq 0/05$ و ایجاد شکست‌های DNA در گروه‌های اشعه و حلال + اشعه گردید. از طرفی تیمار با کورکومین باعث کاهش و تعدیل این تغییرات شده و روند اسپرماتوژنز و مولکول DNA وضعیتی نزدیک به حالت طبیعی را نشان دادند. به نظر می‌رسد کورکومین می‌تواند بعنوان محافظ پرتوی موثر بر تغییرات هورمونی در فرآیند اسپرماتوژنز و شکست مولکولی DNA محسوب گردد.

کلمات کلیدی: کورکومین، پرتو گاما، فرآیند اسپرماتوژنز، شکست DNA، موش صحرایی

مقدمه

میدان‌ها و تشعشعات الکترومغناطیس و گاهی تشعشعات گاما قرار می‌گیرد [۹]. پرتو گاما از نوع پرتو یونیزان غیرمستقیم می‌باشد. این پرتوها خود آسیب شیمیایی و بیولوژیکی ایجاد نمی‌کنند بلکه هنگام گذر از ماده‌ی جاذب با واگذاری انرژی، ذرات باردار سریع تولید می-

یکی از مراحل درمانی سرطان، پرتودرمانی است. در این روش با تابش انرژی بالای پرتوهای یونیزان مانند اشعه‌ی X و گاما به سلول سرطانی و آسیب به DNA آنها، سبب مرگ سلول سرطانی می‌گردند [۳۰]. علاوه بر استفاده‌ی بالینی از پرتوها، انسان هر روز در معرض برخورد با



این داروها بر حساسیت سلول‌ها نسبت به اشعه، اثر نمی‌گذارند، بلکه از کل حیوان محافظت به عمل می‌آورند [۲]. از دهه‌ی ۱۹۷۰ به بعد تحقیقات زیادی برای یافتن مواد و محافظت‌کننده‌هایی که بتواند از بافت‌های طبیعی محافظت بنماید بدون اینکه اثر مشابهی بر سلول‌های تومور داشته باشد آغاز گردید و از آن زمان تا کنون مواد شیمیایی مختلفی معرفی شدند [۲۶] که کورکومین یکی از آنهاست.

کورکومومین بخاطر فعالیت‌های محافظ پرتوی و حساسیت پرتوی اش شهرت یافته است، که هر یک دارای مکانیسم‌های متفاوتی‌اند. این ماده دارای یک عملکرد دوجانبه در طی پرتودهی وابسته به دوز می‌باشد. بدین معنا که می‌تواند آسیب ناشی از پرتودهی در دوز پائین را حفاظت کند (خاصیت محافظت پرتوی کورکومین)، از طرفی باعث افزایش اثر پرتودهی در دوز بالاتر می‌گردد (خاصیت حساسیت پرتوی کورکومین) [۴۲]. کورکومین بعنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی، مکانیسم محافظتی خود را در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از پرتودهی را با افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌نماید [۶، ۲۸، ۳۴، ۳۹]. همچنین کورکومین از فعالیت فاکتورهای رونویسی که در سرطان زایی دخالت دارد ممانعت می‌کند [۳۱].

از آنجایی که امروزه تعداد زیادی از افراد مبتلا به سرطان و کارکنان مشاغل مرتبط با پرتوها، جوان و در سنین باروری هستند و مضرات احتمالی اشعه‌ی گاما در رادیوتراپی‌ها و محیط‌های دیگر عملکرد تولیدمثلی و باروری آنها را دچار اختلال کرده و در نهایت منجر به عقیمی در این افراد می‌گردد، لذا بر آن شدیم تا تاثیر تشعشعات گاما با شدت ۲ گری را بر بافت بیضه که بافت پرخونی است به عنوان میزان شدتی که بر فرآیند اسپرماتوزن مورد بررسی قرار نگرفته است مورد بررسی قرار داده و نقش کورکومین را به عنوان یک محافظت‌کننده مورد مطالعه قرار دهیم.

کنند [۳۷]. پرتودهی یونیزان اتم‌ها و مولکول‌های یونیزه شده و برانگیخته را ایجاد می‌کنند. این برانگیختگی می‌تواند: ۱- رادیکال‌های آزاد ایجاد کند. ۲- باندهای شیمیایی را بشکند. ۳- باندهای شیمیایی جدیدی را تولید کند و اتصال بین ماکرومولکول‌ها را بشکند. ۴- به مولکول‌های تنظیمی فرآیندهای سلول زنده آسیب برساند [۲۲]. در اثر غیرمستقیم، پرتو یونیزان در طی برهمکنش با سیستم‌های زیستی با تولید رادیکال‌های آزاد در مولکول‌های زیستی از طریق رادیولیز آب موجود در سلول‌ها به مولکول‌های زیستی ضربه می‌زنند و در طی واکنش با مولکول‌های آب محدوده‌ی گسترده‌ای از گونه‌های اکسیژنی (ROS) فعال مانند OH° ، H° ، OH° ، eaq ، O_2 ، H و پراکسیدها تولید می‌نمایند. گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) دارای میل ترکیبی بالایی است بنابراین با همه‌ی اجزای سلولی واکنش نشان داده، که در این میان، DNA، لیپیدها و پروتئین‌ها اهداف اصلی برای حمله‌ی رادیکال‌های OH می‌باشند. بطوریکه در نتیجه‌ی برهمکنش رادیکال‌های OH با ژنوم سلولی، در طی آبشاری از وقایع، سبب انواع اختلالات فیزیولوژیکی و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند [۱۶].

از مهمترین مولکول‌ها در یاخته‌ی زنده، مولکول‌های DNA هسته هستند. نتیجه‌ی نابودی مستقیم یک مولکول DNA این است که یاخته قادر به تقسیم نبوده اما می‌تواند تا مدتی به زندگی ادامه دهد. عدم جایگزینی یاخته‌ی نابود شده، به اعمال غیرعادی و نهایتاً مرگ بافت پرتو دیده، منتهی می‌شود. اگر این بافت در حال نابودی برای یک عضو، حیاتی بشمار آید و نتواند به موقع جایگزین شود، تمام عضو بطور نابهنگام خواهد مرد [۱].

گروهی از ترکیبات طبیعی یا مصنوعی که تجویز آن قبل از پرتودهی آسیب و مرگ ناشی از پرتوهای یونیزان را کاهش می‌دهند محافظت‌کننده‌های پرتوی می‌نامند [۲۴]. این ترکیبات می‌توانند قبل از پرتوگیری در بیماران تحت پرتو درمانی، کارکنان مشاغل مرتبط با پرتو و افراد جامعه در مواقع حوادث ناشی از پرتو کاربرد داشته باشند [۳۸].

مواد و روش کار

در این مطالعه‌ی تجربی از ۷۰ موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با سن تقریبی ۱۴-۱۲ هفته و وزن تقریبی ۲۰۰-۱۷۰ gr استفاده گردید. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات دانشکده پزشکی شیراز تهیه گردیدند و پس از انتقال به خانه‌ی حیوانات دانشگاه آزاد واحد جهرم، جهت تطابق با محیط، ۲۴ ساعت در قفس‌های خود بدون تزریق و با مصرف آب و غذا و شرایط استاندارد بسر بردند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد در قفسی متحرک از جنس ماکرولون نگهداری شدند. آب آشامیدنی حیوانات از آب لوله‌کشی و تغذیه‌ی آنها از غذاهای فشرده تهیه شده از شرکت سهامی خوراک دام و طیور استفاده می‌شد. قبل از تزریق دارو (کورکومین)، به روش LD50 با در نظر گرفتن ۱۵ راس موش صحرایی بالغ به سه گروه ۵ تایی دوز کشنده (LD) ۲۰۰ تعیین گردید. در بررسی حاضر موش صحرایی به ۱۰ گروه مساوی (۷ تایی) به صورت تصادفی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: هیچ عملیاتی روی آنها انجام نگرفت و همراه با گروه‌های آزمایشی برای کنترل استرس ناشی از مراحل مختلف آزمایش و شرایط محیطی نگهداری شدند.
۲- گروه حلال (شم): ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند.

۳- گروه حداکثر دارو (تجربی ۱): 100 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند.

۴- گروه متوسط دارو (تجربی ۲): 50 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند.

۵- گروه حداقل دارو (تجربی ۳): 25 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند.

۶- گروه حداکثر دارو + اشعه (تجربی ۴): 100 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند سپس روز بعد با پرتو گاما به شدت ۲ گری پرتودهی شدند.

۷- گروه متوسط دارو + اشعه (تجربی ۵): 50 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند سپس روز بعد با پرتو گاما به شدت ۲ گری پرتودهی شدند.

۸- گروه حداقل دارو + اشعه (تجربی ۶): 25 mg/kg کورکومین حل شده در ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون را روزانه یکبار به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند سپس روز بعد با پرتو گاما به شدت ۲ گری پرتودهی شدند.

۹- گروه حلال + اشعه (تجربی ۷): ۱ میلی‌لیتر روغن زیتون به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز دریافت کردند و سپس روز بعد با پرتو گاما به شدت ۲ گری پرتودهی شدند.

۱۰- گروه اشعه (تجربی ۸): مشابه سایر گروه‌ها تغذیه و نگهداری شدند و سپس بعد از ۱۵ روز با پرتو گاما با شدت ۲ گری پرتودهی شدند.

در این بررسی جهت پرتودهی از چشمه‌ی سزیم-۳۷ با انرژی ۶۶۲ کیلوالکترون ولت استفاده شده که پرتو گاما می‌تاباند. این مطالعه، در مرکز تحقیقات تابش دانشگاه شیراز صورت گرفت. پرتودهی موش‌ها در فاصله‌ی معین از چشمه با احتساب یکنواخت بودن میدان و محاسبه‌ی زمان، به میزان ۲ گری انجام گردید. از آنجایی که کورکومین در دوز پایین اشعه خاصیت محافظتی خود را نشان می‌دهد بنابراین شدت تابش در این حد انتخاب گردید. یک روز پس از پرتودهی، در طی بیهوشی حیوانات توسط دی اتیل اتر و خون‌گیری از قلب (Cardiac Puncture)، و قرارگیری لوله محتوی خون



در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه و سانتی‌فیوژ نمودن به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۲۰۰۰۰ و جداسازی سرم آنها، جهت سنجش هورمون‌های LH و FSH و تستوسترون، بطور جداگانه از کیت‌های مخصوص سنجش هر هورمون به روش ELISA استفاده گردید. جهت بررسی شکست DNA سلول‌های مغز استخوان را که از سلول‌های حساس به پرتودهی‌اند استخراج نموده برای این منظور استخوان ران مناسب است.

پس از استخراج DNA با استفاده از کیت مخصوص، مشاهده آن در طی الکتروفورز روی ژل آگاروز و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید صورت گرفت. باندهای DNA به کمک دستگاه U.V. Transilluminator یا Jel Document مشاهده گردید و عکس گرفته شد. آنالیز آماری بر اساس نرم‌افزار SPSS15 و آنالیز داده‌ها توسط واریانس یکطرفه، آزمون‌های آنالیز، تست Duncan و ANOVA دو طرفه استفاده شده است و اختلاف معنی دار تا سطح $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شده و نتایج بدست آمده به همراه محاسبات آماری مربوطه به صورت میانگین \pm خطای انحراف معیار ($x \pm SEM$) بیان و به صورت جدول آورده شده است.

نتایج

میانگین غلظت هورمونی FSH و LH در گروه‌های تحت اشعه و حلال+ اشعه نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری در سطح $P \leq 0/05$ نشان دادند

(جدول ۲). درمان با دوزهای متفاوت کورکومین در گروه-های اشعه دیده از افزایش جلوگیری کرده و اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل و شم نشان نمی‌دهد ($0/05$ $P \leq$) (جدول ۲). در سایر گروه‌های تجربی هیچ اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($0/05$ $P \leq$) (جدول ۱).

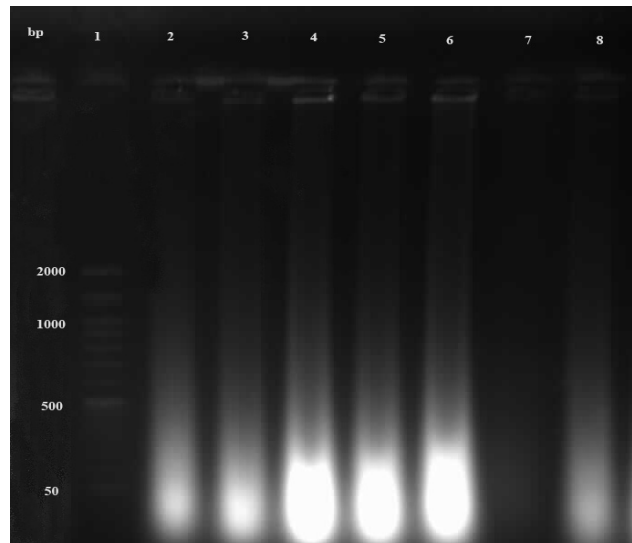
میانگین غلظت هورمونی تستوسترون در گروه‌های تحت اشعه و حلال+ اشعه نسبت به گروه کنترل و شم کاهش معنی‌داری در سطح $0/05$ $P \leq$ نشان دادند (جدول ۲). درمان با دوزهای متفاوت کورکومین در گروه‌های اشعه دیده از کاهش جلوگیری کرده و اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل و شم نشان نمی‌دهد ($0/05$ $P \leq$) (جدول ۲). در سایر گروه‌های تجربی هیچ اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($0/05$ $P \leq$) (جدول ۱).

در این مطالعه، گروه‌های اشعه و حلال+ اشعه در مقایسه با گروه کنترل و شاهد دارای شکست DNA بودند (شکل ۲). در گروه‌های حداقل کورکومین+ اشعه، متوسط کورکومین+ اشعه، حداکثر کورکومین+ اشعه، حداکثر کورکومین، متوسط کورکومین، کنترل و شاهد هیچ گونه شکست DNA مشاهده نگردید (شکل ۱).

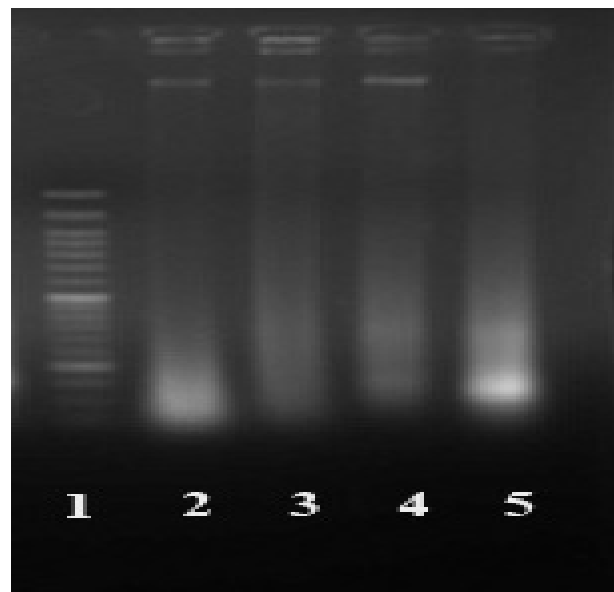


جدول ۱- مقایسه مقادیر میانگین \pm انحراف معیار غلظت سرمی هورمون LH, FSH و تستوسترون بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه

غلظت سرمی تستوسترون (IU/L)	غلظت سرمی LH (IU/L)	غلظت سرمی FSH (IU/L)	متغیرها گروه‌ها
۳/۵۳۳±۰/۲۹۰ b	۰/۹۴۰±۰/۰۵۵ a	۱/۲۰±۰/۰۵۷ abc	کنترل N=7
۳/۸۴۰±۰/۲۰۱ b	۰/۸۷۶±۰/۰۱۲ a	۰/۸۸۰±۰/۰۳۵ ab	شم N=7
۳/۸۷۵±۰/۰۴۷ b	۰/۹۲۷±۰/۰۲۵ a	۱/۰۳۵±۰/۱۰۲ ab	تجربی ۱ N=7
۳/۷۷۵±۰/۲۹۵ b	۰/۹۹۷±۰/۰۵۴ a	۱/۰۲۲±۰/۱۳۲ ab	تجربی ۲ N=7
۳/۷۰±۰/۱۰۸ b	۱/۰۱۷±۰/۰۶۶ a	۱/۲۵۰±۰/۱۳۲ bc	تجربی ۳ N=7
۳/۷۲۸±۰/۰۸۹ b	۱/۰۵۷±۰/۰۲۹ a	۱/۲۸۵±۰/۱۰۵ bc	تجربی ۴ N=7
۳/۶۵۰±۰/۰۹۵ b	۱/۰۷۲±۰/۰۰۷ a	۱/۳۲۵±۰/۰۶۲bc	تجربی ۵ N=7
۳/۵۷۵±۰/۰۶۲ b	۱/۰۷۷±۰/۰۱۰ a	۱/۴۵۰±۰/۰۸۶ bc	تجربی ۶ N=7
۰/۶۲۵±۰/۰۸۵ a	۲/۴۸۰±۰/۱۶۸b	۳/۰۷۵±۰/۰۴۷ d	تجربی ۷ N=7
۰/۵۲۵±۰/۰۸۵ a	۲/۸۶۷±۰/۰۵۲ c	۳/۴۷۵±۰/۱۷۹ e	تجربی ۸ N=7



شکل ۱- بررسی شکست DNA در گروه‌های فاقد شکست. ستون ۱- مارکر وزن مولکولی (ladder)، ستون ۲: نمونه کنترل، ستون ۳: شاهد (حلال)، ستون ۴: حداکثر دارو، ستون ۵: متوسط دارو، ستون ۶: حداقل دارو، ستون ۷: متوسط دارو+اشعه، ستون ۸: حداقل دارو+اشعه



شکل ۲- بررسی شکست DNA در گروه‌های دارای شکست. ستون ۱- مارکر وزن مولکولی (ladder)، ستون ۲ و ۳: گروه اشعه، ستون ۴ و ۵: گروه حلال+ اشعه

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر حاکی از تغییرات غیرطبیعی هورمون‌های فرایند اسپرماتوزن از جمله LH, FSH و تستوسترون بصورت کاهش غلظت سرمی تستوسترون و افزایش غلظت سرمی FSH و LH در گروه‌های اشعه و حلال+ اشعه LD می‌باشد. این تغییرات با گزارشات محققین دیگر که نشان دادند اشعه بر روی غلظت سرمی هورمون‌های LH, FSH و تستوسترون موثر واقع شده، مطابقت دارد [۳]. همچنین نتایج دیگر این مطالعه، وجود قطعات DNA را در گروه اشعه و گروه حلال+ اشعه در طی تابش پرتو گاما نشان می‌دهد که با تحقیقات سایر محققین مطابقت دارد [۴۵، ۳۲].

NF-Kappa B نوعی کمپلکس پروتئینی است که نسخه‌برداری DNA همه‌ی انواع سلولی را کنترل می‌کند و در پاسخ‌های سلولی به محرک‌هایی همچون استرس، سیتوکاین، گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS)، تابش UV، اکسیداسیون LDL و آنتی ژن‌های باکتریایی و ویروسی، کوکائین و پرتودهی یونیزان افزایشی‌یابد، بیان NF-KB سبب سرطان و التهاب می‌گردد [۵، ۳۶]. از طرفی، پروتئین کیناز فعال شده به واسطه میتوزن (MAPK) بعنوان تبدیل‌کننده‌ی محرک بیرونی به هسته به شمار می‌آید [۱۸]. فاکتور NF-KB دارای اعضای مختلفی بوده که گیرنده‌های هسته‌ای هورمونی یکی از آنهاست [۱۹].

به عبارتی این فاکتور در بافت بیضه، نقش مهمی در بیان گیرنده‌ی آندروژنی (AR) داشته و سبب افزایش سطح پروتئین و mRNA مربوط به AR می‌گردد [۱۲].

P38-MAPK یکی از اعضای خانواده‌ی MAPK بشمار آمده که توسط انواعی از استرس‌های سلولی مانند استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش ROS فعال می‌شود. فعالیت P38-MAPK (نوعی MAPK) در تنظیم نسخه‌برداری فاکتور NF-KB و بیان آنزیم NO سنتتاز (NOS) نشان داده شده است [۴۸]. نیتریک اکساید (NO) یک رادیکال آزاد است که بوسیله‌ی آنزیم NO

سنتتاز سنتز می‌گردد [۱۱]. NO با ROS برای مرگ سلولی لازمند [۸]. NO آسیب سلولی را با کاهش سطح گلوتاتیون (GSH) درون سلولی افزایش می‌دهند [۴۷]. NF-KB برای فعالیت تعدادی از ژن‌ها از جمله NOS که تولید NO اضافی را می‌کند لازمست [۴۸].

تابش پرتوهای یونیزان با اثرات غیرمستقیم مانند تشکیل رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌تواند سبب اثرات مخرب زیستی و آسیب در مکانیسم‌های طبیعی سیگنالینگ سلولی گردد [۶۶]. کورکومین اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژنی مانند آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل را که نقش مهمی در آغاز پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو دارند، با افزایش بیان آنزیم‌های فراتنظیمی مانند کاتالاز، گلوتاتیون ترانسفراز (GST)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSHPX)، سوپراکسیداز دسموتاز (SOD) و mRNA مربوط به آنها می‌کاهد [۳۳]. کورکومین با مهار فعالیت پروتئین‌کیناز فعال شده به واسطه میتوزن (MAPK) و NO محافظت در مقابل آسیب پرتوی را فراهم می‌آورد [۲۸، ۳۳، ۴۲].

کورکومین از فعالیت چندین فاکتور رونویسی که در سرطان زایی دخالت دارند ممانعت می‌کند [۶]. از جمله این فاکتورها: MAPK و NF-KB می‌باشد که کورکومین سبب مهار مسیرهای MAPK و NF-KB در برابر آسیب سلولی می‌گردد [۴۲].

از آنجایی که در طی استرس اکسیداتیو مانند پرتودهی فعالیت فاکتور NF-KB و MAPK درون سلول سرتولی افزایش می‌یابد و به دنبال آن بیان گیرنده‌ی آندروژنی نیز افزایش می‌یابد [۷، ۱۸، ۴۹] و همچنین کاهش اسپرماتوزوا در طی پرتودهی، سبب انتقال هرچه بیشتر تستوسترون از خون به مجرای منی‌ساز می‌گردد. پرتو گاما در طی استرس اکسیداتیو می‌تواند سبب آسیب مولکول DNA در سلول سرتولی شده و تولید تستوسترون را کاهش دهد به همین دلیل در گروه‌های تحت پرتودهی، میزان تستوسترون در سرم خونی کاهش



می‌یابد که این کاهش غلظت تستوسترون موجود در سرم، در گروه تحت اشعه و گروه تحت حلال+ اشعه نسبت به گروه کنترل و شم معنی‌دار می‌باشد. از طرفی بدلیل آنکه کورکومین اثر مهارى بر روى بیان فاکتور NF-KB و MAPK نشان می‌دهد در طی کاهش تعداد گیرنده آندروژنی، میزان تستوسترون سرمی بدلیل ماندن تستوسترون در خون افزایش می‌یابد.

هنگامی که آندروژن‌ها بخصوص تستوسترون به سطح معینی برسد، از طریق گردش خون به مغز رفته و از دو طریق باعث کاهش LH می‌شود: الف) اثر مستقیم تستوسترون روی هیپوتالاموس و کاهش ترشح GnRH (ب) اثر فیدبکی ضعیف روی هیپوفیز پیشین و کاهش ترشح LH [۲۳]. بنابراین کاهش تستوسترون در گروه-های تحت اشعه بدلیل افزایش بیان گیرنده‌ی آندروژنی که قبلاً ذکر گردید، در طی مکانیسم فیدبکی سبب افزایش معنی‌دار LH در گروه اشعه و حلال+ اشعه نسبت به گروه کنترل و شم می‌گردد.

از آنجایی که افزایش بیان گیرنده‌ی تستوسترونی سبب انتقال بیشتر هورمون تستوسترون به مجرای اسپرم‌ساز می‌گردد [۱۲]. سلول‌های سرتولی از طریق انتقال فعال یا تسهیل شده، تستوسترون را دریافت کرده و به پروتئین-های اتصالى (ABP) متصل نموده که مکانیسمی را جهت نگه داشتن تستوسترون در نزدیکی اسپرماتوسیت‌ها برای بلوغ ایجاد می‌کند. سلول‌های سرتولی تحت تاثیر اسپرم‌های بالغ، پپتید مهارى به نام اینهیبین را ترشح می‌کنند که با کاهش RNA پیام بر اثر فیدبک منفی در ترشح FSH دارد [۲۳]. بنابراین در گروه‌های اشعه و حلال+ اشعه با کاهش تستوسترون، پپتید مهارى اینهیبین به میزان کمتری ترشح شده و نتیجتاً افزایش معنی‌دار ترشح FSH نسبت به گروه کنترل و شم مشاهده می‌گردد. بیضه‌ها یک سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل تولیدات آنزیمی و غیرآنزیمی‌اند. تولیدات آنزیمی این سیستم دفاعی، بصورت القا استرس اکسیداتیو در بیضه به واسطه‌ی (اثر غیرمستقیم) NF-KB و القاکننده‌ی گونه-

های mRNA برای فعالیت‌های سوپر اکسید دسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و گلوکاتایون-S-ترانسفراز (GST) مشخص شده است [۲۹]. آنزیم SOD بوسیله‌ی سلول‌های زایا و سرتولی تولید می‌شوند [۲۵]. گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) نیز در میتوکندری، هسته‌ها و ناحیه‌ی آکروزومی اسپرماتوزوای تمایز یافته یافت می‌شود [۴۱]. فسفولیپید هیدروپراکسید GPX (PHGPX) از مهمترین ایزوفرم‌های GPX در بیضه است که در سلول‌های لایدیگ و اسپرماتوژنیک بیان می‌شوند [۴]. در حدود ۷۰٪-۶۰٪ از آسیب در طی پرتودهی یونیزان بوسیله OH[•] حاصل از رادیولیز آب ایجاد می‌شود [۴۳]. OH[•] بیشترین ضربه‌ی حاصل را در ارگانیزم‌ها وارد می‌سازد و همه‌ی مولکول‌های بیولوژیکی مورد هدف آن می‌باشد [۲۰]. در مولکول DNA بازهای اکسید شده، جایگاه‌های دارای باز، مراکز درون رشته‌ای DNA-DNA، محل اتصال پروتئین-DNA مراکز قابل توجهی هستند. این برهمکنش رادیکال‌های آزاد بیشتر با بازهای DNA و کمتر با قند موجود در DNA رخ می‌دهد. بین بازهای موجود در DNA، گوانین بیشترین هدف برهمکنش‌های اکسیداتیوی و سایر رادیکال‌های آزاد بشمار می‌آید [۱۰]. بنابراین بیشترین آسیب‌های جهش‌زا و بیشترین آسیب وارده‌ی ناشی از پرتودهی کروماتینی، ۸-هیدروکسی گوانین می‌باشد [۱۷، ۲۷، ۴۰]. که بعنوان یکی از دلایل سرطان‌زایی می‌باشد [۱۵]. از طرفی این آسیب‌ها از طریق چندین مکانیسم ترمیم می‌شود. برهمکنش رادیکال‌های آزاد با بخش‌های قندی سبب شکاف اسکلت فسفات-DNA در طی شکست‌های تک رشته‌ای DNA می‌گردد [۴۰]. شکست‌های دو رشته‌ی DNA نتایج جدی-تری در پی دارند. این شکست‌ها با اثرات سیتوتوکسیک پرتوهای یونیزان همراه است و آسیب اولیه منجر به مرگ سلولی می‌گردد [۱۴]. اگر مکانیسم‌های ترمیم DNA بعد از پرتودهی، بی‌تاثیر باشند رشته‌های DNA آسیب دیده در طی همانندسازی به سوی موتاسیون و سرطان‌زایی



peroxidase (PHGPx) mRNA in male mice. *Journal of Molecular Histology*, 38:237-244.

5- Barnes P.J., M. Karin (1997), Nuclear factor-kappa B: a pivotal Transcription factor in chronic inflammatory diseases. *New England Journal of Medicine*, 336: 1066-1071.

6- Biswas, S.K., D. McClure, L.A. Jimenez, I.L. Megson, I. Rahman (2005), Curcumin induces glutathione biosynthesis and inhibit NF-kappaB activation and interleukin-8 release in alveolar epithelial cells. Mechanism of free radical scavenging activity. *Antioxid Redox Signa*, 7(1-2): 32-41.

7- Brasier A.R. (2006), The NF-KB regulator network, *cardiovasc. Toxicology*, 6(2)1: 11-30.

8- Bredt D.S. (1997), Endogenous nitric oxide synthesis. *Free Radicals Research*, 31:577-598.

9- Brown D., J. Pittock, J.S. Rubinston (1982), Early of the screening program for radioprotectors. *International Journal of Radiation Oncology Biology*, 8:565-570.

10- Cadet J., T. Delatous, T. Douki, D. Gasperutto, J. Pouget, S. Sauvaig (1999), Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutation Research*, 42: 49-21.

11- Chan W.H., C.H. Wu, J.S. Yu (2003), Curcumin inhibits UV irradiation-induced oxidative stress and apoptotic biochemical changes in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Journal of cell Biochemistry*, 90:327-338.

12- Chandel N., W.C. Trzyna, D.S. McClintock (2000), Schumacker PT. Role of oxidants in NF-kappa B activation and TNF-alpha gene transcription induced by hypoxia and endotoxin. *Journal of Immunology*, 165(2):1013-102.

پیش می‌روند [۲۱]. از طرفی کورکومین بدلیل داشتن هر دو گروه فنولیکی و β -دی کتوننی اثر حذفی بر رادیکال-های آزاد ناشی از پرتودهی نشان می‌دهد [۴۴]. همچنین کورکومین فعالیت آنتی اکسیدانی خود را با افزایش گلوپاتیون اعمال می‌نماید [۳۵]. بنابراین اثر اشعه را بر ساختار DNA کاهش داده و سبب کاهش قطعات DNA می‌گردد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که پرتو گاما با دوز ۲ گری بدون عوارض جانبی نبوده و سبب تغییرات هورمونی در روند اسپرماتوژنز و شکست مولکول DNA گردیده، همچنین مشخص شد که کورکومین با دوزهای mg/ml ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/ml در مقابل اثرات جانبی پرتو گاما، دارای اثر محافظتی می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که کورکومین می‌تواند بعنوان یک داروی محافظت کننده برای استفاده‌ی کلینیکی جهت پیشگیری از عقمی در مردان تحت پرتودرمانی و افراد شاغل در اماکن تحت تشعشعات هسته‌ای مورد استفاده قرار بگیرد.

منابع

۱- محمدی، ه. ۱۳۸۴. فیزیک و آثار زیست شناختی پرتوها. چاپ دوم، شیراز، انتشارات دانشگاه شیراز.

۲- مزدرانی، ح. ۱۳۶۹. در ترجمه رادیوبیولوژی برای رادیوبیولوژیست‌ها. اریک هال (مولف). چاپ اول، تهران، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، ۴۱ صفحه.

3- Afrah F., S.M. EL-Bahr (2007), Effect of curcumin on cadmium-Induced oxidative Testicular damage in rats. *Journal of Medical Research Institute*, 28(2):167-73.

4- Baek I.J., D.S. Seo, J.M. Yon (2007), Tissue expression and cellular localization of phospholipid hydroperoxide glutathione



23. Hileman S.M., G.L. Jackson (1999), Regulation of gonadotrophin-releasing hormone by testosterone in male sheep. *Journal of Reproduction and fertility Supplement*, 54: 231-42.
24. Hosseinimehr S.J. (2007), Foundation review: trends in the development of radioprotective agents. *Drug Discovery Today*, 12(19): 794-805.
25. Ishii T., S.H. Matsuki, Y. Iuchi, F. Okada, S.H. Toyosaki, Y. Tomita, Y. Ikeda, J. Fujii (2005), Accelerated impairment of spermatogenic cells in SOD1-knockout mice under heat stress. *Free Radicals Research*, 39: 697-705.
26. Jagatia G., G. Rajanikant (2007), Curcumin treatment enhances the repair and regeneration wounds in mice hemi-body exposed to gamma-radiation. *Plastic Reconstructive Surgery*, 115(2): 515-528.
27. Kasai H., P.F. Crain, Y. Kuchino, S. Nishimura, A. Ootsuyama, H. Tanooka (1986), Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis*, 7:1849-1851.
28. Khopde S., K.T. Priyadarisini, S.N. Guha, J.G. Satav, P. Venkateson, M.V. Rao (2000), Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by Tetra hydrocurcumin: possible mechanisms by pulse radiolysis. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64(3): 503-509.
29. Kaur P., G. Kaur, M.P. Bansal (2006), Tertiary-butyl hydro peroxide induced oxidative stress and male reproductive activity in mice: Role of transcription factor NF-kappa B and testicular antioxidant enzymes. *Reproductive Toxicology*, 22: 479-484.
30. Lawrence T.S. (2008), Principles of radiation oncology. Principles and practice of oncology, Philadelphia.
- 13- Cho J.W., K.S. Lee, C.W. Kim (2007), Curcumin attenuates the expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha as well as cyclin E in TNF-alpha-treated HaCaT cells; NF-kappaB and MAPKs as potential upstream targets. *International Molecular Medicine*, 19(3):469-74.
- 14- Elia M.C., J.G. Deluca, M.O. Bradley, (1991), Significance and measurement of DNA double strand breaks in mammalian cells. *Pharmacology Therapeutics*, 51: 291-327.
- 15- Floyd R.A. (1990), The role of 8-hydroxyguanosine in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 11:1447-1450.
- 16- Gageti G.C. (2007), Radioprotective and Radiosensitization by curcumin. Department of Radiobiology. Kasturba medical college, India. *Advances in Experimental Medical Biology*, 595:301-320.
- 17- Gajewski E., G. Rao, Z. Nackerdien, M. Dizderoglu (1990), Modification of DNA bases in mammalian chromatin by radiation-generated free radicals. *Biochemistry*, 29: 7876-7882.
18. Gilmore T.D. (2006), Introduction to NF-KB: player, pathway, perspectives. *Oncogene*, 25(51): 6680-4.
19. Hadad J. (2004), Mitogen-activated protein kinase and the evolution of Alzheimer's. *Progress in Neurobiology*, 73: 359-377.
20. Halliwell B. (1992), Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 59:1609-1623.
21. Halliwell B., O.I. Aruma (1991), DNA damage by oxygen-derived species. *FEBS let*, 281:9-19.
22. Heine H. (1997), Oxidative Stress: Oxidative and Antioxidants. *Experimental Physiology Journal*, 82:291-295.



- Noradrenalin reduces cardiovascular effects of the combined dipyridamole and AMP administration but preserves radio protective effects of these drugs on hematopoiesis in mice. *Physiological Research*, 42: 333-340.
39. Subramania M., M.N.A. Sreejayan Rao, T.P.A. Devasagyma, B.B. Singh (1994), Diminution of single oxygen-induced DNA-damage by J.K.Lin-shiau curcumin and related antioxidants. *Mutation Research*, 311: 249-255.
40. Chou J., A.P. Grollman (1993), Repair of DNA containing the oxidatively damaged base 8-oxoguanine. *Mutation Research*, 299: 277-287.
41. Vaisberg C.N., L.V. Jelezarsky, B. Dishlianova, T.A. Chaushev (2005), Activity, substrate detection and immunolocalization of glutathione peroxidase (GPx) in bovine reproductive organs and semen. *Theriogenology*, 64: 416-428.
42. Varadkar P., P. Pubey, M. Krishna, N. Verma (2001), Modulation of radiation-induced protein kinase C activity by phenolics. *Journal of Radiological Proective*, 21: 361-370.
43. Ward J.F. (1998), DNA damage produced by ionizing radiation-induced free radical damage in DNA. *Radiation Research*, 150: 560-5.
44. Wargovich M. (1997), Experimental evidence for cancer preventive elements in foods. *Cancer Letter*, 114:11-17.
45. Wei H., K. Yu (2010), Ionizing Radiation, DNA Double strand Break and mutation. *Advances in Genetics Research*, 4.
46. Xie Q.W., J.G. Deluca, M.O. Bradley (1994), Role of transcription factor NF-Kappa B/Rel in induction of nitric oxide
31. Li N., M. Karin (1998), Ionizing radiation and short wavelength UV activate NF-kappa B through two distinct mechanisms. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 95: 13012-13017.
32. Marcus S., D. Mark, D. Miral, L. Joseph (2003), Oxidative DNA damage: Mechanisms, Mutation, and disease. *The journal of federation of American societies for Experimental Biology*, 17:1195-1214.
33. Noorafshan A., S. Karbalay-Doust, A. Valizadeh, E. Aliabadi, H. Mirkhani (2010), Ameliorative effects of curcumin on the seminiferous epithelium of curcumin on the seminiferous epithelium in metronidazole-treated mice: a stereological study. *Toxicological Pathology*, 38(3): 366-371.
34. Ozgunar M., A. Koya, G. Cesor, M. Ural, F. Ozgunar, A. Gokcimen, N. Delibus (2005), Biological and morphological effects on reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Medicine Journal*, 26:405-410.
35. Piwocka M. (2001), Effect of glutathione depletion on caspase-3 independent apoptosis pathway induced by curcumin in jurkat cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 31:619-678.
36. Porter K.L., G. Shetty, M.L. Meistrich (2006), Testicular edema is associated with spermatogonial arrest in irradiated rats. *Endocrinology*, 147:1297-1305.
37. Portess D.I., G. Bauer, M.A. Hill, P. Neil (2007), Low-dose irradiation of nontransformed cells stimulates the selective removal of precancerous cells via intercellular induction of apoptosis. *Cancer Research*, 67:1246-1253.
38. Pospisil M., M. Hofer, A. Vacek, J. Netikova, I. Pipalova, S. Vikilicka (1993),



synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 259: 4705-4708.

47. Zaninotto F., S.L. Camera, A. Polveraria, M. Delledonne (2005), Cross talk between reactive nitrogen and oxygen species during the hypersensitive disease resistance response. *Plant Physiology*, 141: 379-383.

48. Zhang C., L.M. Walker, P.R. Meyeux (2000), Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced oxidant stress in the rat kidney. *Biochemistry Pharmacology*, 59: 203-209.

49. Zhang L., S. Altuwajjri, F. Deng, L. Chen, P. Lal, U.K. Bhanot, R. Korets, S. Wenske, H. Lilja (2009), NF-KB regulates androgen receptor expression and prostate cancer growth. *American Journal of Pathology*, 175(2): 489-499.