

Araştırma:

Yaşlı sıçanlarda kurkumin takviyesinin kalp dokusunun oksidan/antioksidan durumu üzerine etkileri

Muaz Belviranlı¹, Nilsel Okudan¹, Kısmet Esra Nurullahoğlu Atalık²

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Konya

Amaç: Çalışmanın amacı kurkumin takviyesinin yaşlı dişi sıçanların kalp dokusunda oksidatif stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini araştırmaktır. **Yöntem:** Çalışmada 20 aylık 20 dişi Wistar sıçan kontrol ve kurkumin grupları olmak üzere rastgele 2 gruba ayrıldı. Kurkumin grubuna 12 gün boyunca günde 300 mg/kg dozunda kurkumin mısır yağı içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi. Son takviyeden 24 saat sonra anestezi altında kalp dokuları alındı ve alınan örneklerde malondialdehit (MDA), protein karbonil (PC) ve glutatyon (GSH) seviyeleri analiz edildi. **Bulgular:** Kurkumin takviyesi GSH seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır ($P<0,05$). Bununla birlikte, kurkumin takviyesi istatistiksel olarak anlamlı olamamasına rağmen MDA ve PC seviyelerini azaltmıştır ($P>0,05$). **Sonuç:** Kurkumin takviyesi yaşlı dişi sıçanlarda kalp dokusunu oksidatif hasara karşı korur ve antioksidan savunma sistemini güçlendirir.

Anahtar kelimeler: Kurkumin, yaşlanma, oksidatif stres, kalp

Effects of curcumin supplementation on oxidant/antioxidant status of heart tissue in aged rats

Objective: The aim of the study was to investigate the effects of curcumin supplementation on oxidative stress and antioxidant defense in heart tissue of aged female rats. **Methods:** Twenty aged female rats (aged twenty months) were randomly divided into two groups: control and curcumin. In curcumin supplemented group curcumin was given at 300 mg/kg dosage for 12 days via oral gavage dissolved in corn oil. Twenty-four hour after the last supplementation heart tissues were taken under anesthesia and malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PC) and glutathione (GSH) levels were analyzed in these samples. **Results:** Curcumin supplementation significantly elevated GSH levels ($P<0.05$). However, although it was not statistically significant, curcumin supplementation decreased MDA and PC levels ($P>0.05$). **Conclusion:** Curcumin supplementation protects the heart against oxidative damage and it improves antioxidant defense system in aged female rats.

Key words: Curcumin, aging, oxidative stress, heart

Genel Tıp Derg 2012;22(2):61-66

Yaşlılık, vücuttaki pek çok organın fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerinde aşamalı bir azalma ile karakterize karmaşık biyolojik bir süreçtir. Yaşlanmanın moleküler mekanizmaları ile ilgili

olarak birçok teori ileri sürülmüştür. Bunlar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu kümülatif hasar, kendini yenileyen hücrelerdeki telomer kısalması, genom instabilitesi, bazı spesifik genlerin ekspresyonundaki değişiklikler veya mutasyonlar ve hücre ölümüdür (1,2). İlk kez Harman (3) tarafından öne sürülen serbest radikal teorisine göre; canlının yaşamı boyunca etkilendiği ROS, oksidatif hasara neden olabilir. Kümülatif ve potansiyel olarak artan miktardaki hasar, yaşlanmadaki fonksiyonel ve patolojik bozukluklara yol açar (4,5).

Gönderim tarihi: 31.07.2012

Kabul tarihi: 05.08.2012

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Muaz Belviranlı, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kampüs, Konya

E-posta: mbelviranlı@yahoo.com

Aerobik hücreler tarafından kullanılan oksijenin % 90'ından fazlası mitokondri tarafından tüketilir ve mitokondriyal solunum zinciri vasıtasıyla devamlı olarak oksijen serbest radikalleri ve hidroperoksitler üretilir (5,6). Oluşan radikaller, lipidler, proteinler ve DNA'da oksidatif hasara neden olabilir (7). Yaşlanma ile birlikte oksidatif hasarın arttığı, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerinin zayıfladığı kan (4), beyin (2), kalp (8) iskelet kası (9) ve karaciğer (10) gibi pek çok dokuda gösterilmiştir. Bununla birlikte, yaşa bağlı oksidatif hasarın önlenmesinde çeşitli antioksidan tedavilerin etkili olabileceği düşünülmüş ve bu konu hakkında insanlarda ve hayvanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda koenzim Q10 (11), lipoik asit (12), karnozin (13), quersetin (14) ve polifenoller (15) gibi antioksidan takviyelerin hem enzimatik hem enzimatik olmayan antioksidan sistemini iyileştirerek oksidatif hasarı ve buna bağlı komplikasyonları azalttığı gösterilmiştir.

Kurkumin, yemeklere sarı renk veren bir baharat olarak kullanılan zerdeçaldan (*Hind safranı, Curcuma longa*) elde edilir. Kurkuminin antiinflamatuvar, antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antikoagülan, antidiyabetik, antibakteriyal, antiviral ve sinir koruyucu olmak üzere çok geniş bir spektrumda etkileri vardır (16). Kurkumin, birçok reaktif oksijen radikalının, özellikle süperoksit anyonlarının, nitrojen dioksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin atımını kolaylaştırır (17,18). Bunlara ilave olarak, son yıllarda yapılan çalışmalarda kurkuminin kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu etkisi yaygın olarak araştırılmaktadır (2,16,19,20). Bu çalışmalarda kurkuminin endotel ve düz kas hücrelerini hasara karşı koruduğu (21), kalp hasarını (22) ve toksisitesini (23) önlediği, kalbi iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruduğu (20,24), kalbin ve damarların yeniden yapılanmasını hızlandırdığı (25) gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak kurkumin takviyesinin yaşlı sıçanlarda kognitif fonksiyonları ve oksidatif hasarı iyileştirdiği bildirilmesine (26) rağmen yaşlı sıçanlarda kalp dokusundaki oksidatif hasar ve antioksidan savunma üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı kurkumin takviyesinin yaşlı dişi sıçanların kalp dokusundaki oksidatif stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini araştırmaktır.

Yöntem

Bu çalışma Konya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alındıktan sonra aynı merkezde gerçekleştirildi.

Deney hayvanları

Bu çalışmada, Konya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen, yaklaşık 20 aylık ve ağırlıkları 300-400 g olan 20 yaşlı dişi Wistar sıçan kullanıldı.

Çalışma süresince sıçanlar ortam sıcaklığı 21 ± 2 °C olan, % 50 nem içeren, 12 saat karanlık/aydınlık siklusu bulunan iklim kontrollü odalarda tutuldular. Deney hayvanları özel olarak imal edilmiş polikarbonat kafeslerde her kafeste 5 hayvan olacak şekilde standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile *ad libitum* olarak beslendi.

Deney protokolü

Sıçanlar rastgele seçilmek suretiyle aşağıdaki şekilde 2 deney grubuna ayrıldı (her grupta n=10):

1. Kontrol (KON): Çalışma süresince herhangi bir uygulamanın yapılmayıp sadece taşıyıcı verilen grubu.
2. Kurkumin (KUR): On iki gün boyunca günde 300 mg/kg dozda kurkumin verilen grup.

Kurkumin takviyesi

KUR grubuna 12 gün boyunca günde 300 mg/kg dozunda kurkumin (C1386; Sigma Chemical, St. Louis, MO) mısır yağı içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi. KON grubundaki sıçanlara ise taşıyıcı etkisini ortadan kaldırmak amacıyla kurkumin ile eşit miktarda mısır yağı verildi. Sıçanlar 12 günlük takviye periyodu boyunca her gün kurkumin veya taşıyıcı takviyesinden önce tartıldı.

Doku örneklerinin alınması

Son kurkumin veya taşıyıcı takviyesinden 24 saat sonra 50 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin anestezisi altında sıçanların kalplerinden kan örnekleri alındı. Kan örneği alındıktan sonra servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi gerçekleştirildi ve hızlı bir şekilde kalp dokuları çıkartıldı. Alınan örnekler hemen soğuk serum fizyolojik ile yıkanarak derhal sıvı azot içerisine atıldı ve doku örnekleri

analiz zamanına kadar malondialdehit (MDA), protein karbonil (PC) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin analizi için - 80 °C'de saklandı.

Biyokimyasal analizler

Analiz gününe kadar - 80 °C de saklanan dokular, çalışma günü derin dondurucudan çıkarılıp analiz öncesinde çözöldü. Dokular daha sonra küçük parçalara ayrılarak ağırlığının yaklaşık 10 katı fosfat tamponu (50 mmol/L, pH 7,4) eklendikten sonra buz içerisinde homojenizatör (Wise Mix HG-15; Daihan Scientific, Seoul, Korea) ile homojenize edildi. Homojenattan MDA, PC ve GSH çalışması için yeterli olacak kadar numune alındıktan sonra kalan homojenat eşit hacimde 3/5 oranında hazırlanan kloroform/etanol karışımı ile vortekslenip 30 dakika 3200 rpm +4 °C'de santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından protein tayini yapıldı.

MDA ölçümü ticari kit (Bioxytech MDA-586 Assay Kit, Oxis Research, Poland) kullanılarak yapıldı. Bu metot MDA'nın kromojenik reaktif olan N-metil-2-fenilindol ile 45 °C'de reaksiyonu esasına dayanmaktadır. Oluşan renkli bileşiğin abzorbanası 586 nm'de ölçöldü. Çizilen standart eğri grafiğinden elde edilen faktörle abzorbanalar çarpıldı. Sonuçlar µmol/gr yaş doku cinsinden verildi.

PC seviyeleri spektrofotometrik yöntemle ticari kitler kullanılarak üreticinin talimatlarına göre belirlendi (Cat. #10005020, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). PC seviyeleri nmol/mg protein olarak ifade edildi.

GSH seviyeleri enzimatik kolorimetrik yöntemle ticari kitler kullanılarak üreticinin talimatlarına göre belirlendi (Cat. #703002, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Sonuçlar µmol/mg protein olarak verildi.

Dokulardaki proteinlerin miktarı Lowry ve ark (27)'nin metoduna göre belirlendi.

İstatistiksel analizler

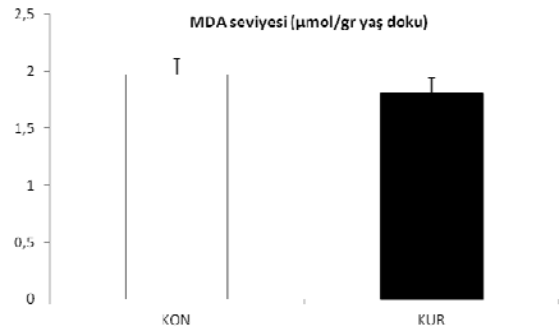
Verilerin istatistik analizi SPSS 15,0 for Windows programı ile yapıldı (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Bulgular ortalama±standart sapma (SS) şeklinde verildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk Normallik Testi ile kontrol edildi. İki grup arasında anlamlı bir farkın olup olmadığı bağımsız t testi ile analiz edildi. P

değerinin 0,05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

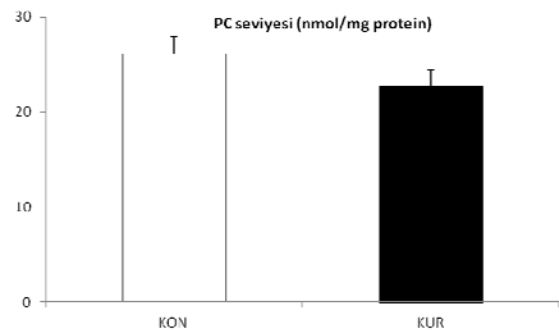
Bulgular

Kurkumin takviyesi ile kalp dokusunun MDA seviyelerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 1'de gösterilmiştir. Kurkumin takviyesi yapılan grupta MDA seviyeleri kontrol grubuna göre azalma eğilimi göstermesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (KON ve KUR gruplarında sırasıyla 1,97±0,24 ve 1,81±0,48) (P>0,05).

Kurkumin takviyesinin kalp dokusunda PC seviyeleri üzerine etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. Kurkumin grubunda PC seviyeleri daha düşük olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (KON ve KUR gruplarında sırasıyla 26,11±26,32 ve 22,80±21,98) (P>0,05).

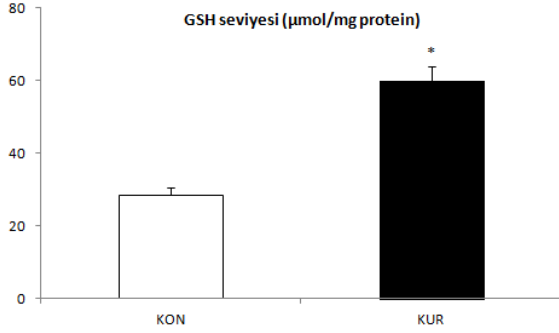


Şekil 1. Kurkuminin kalp dokusunda MDA seviyeleri üzerine etkisi. KON: Kontrol, KUR: Kurkumin



Şekil 2. Kurkumin takviyesinin kalp dokusunda PC seviyeleri üzerine etkisi. KON: Kontrol, KUR: Kurkumin

Kurkumin takviyesi ile kalp dokusunun GSH seviyelerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3’de gösterilmiştir. Kurkumin grubunda GSH seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti (KON ve KUR gruplarında sırasıyla $28,44 \pm 6,97$ ve $59,76 \pm 39,88$) ($P < 0,05$).



*KON’a göre $P < 0,05$

Şekil 3. Kurkuminin kalp dokusunda GSH seviyeleri üzerine etkisi. KON: Kontrol, KUR: Kurkumin

Tartışma

Bu çalışmanın amacı yaşlı dişi sıçanlarda kurkumin takviyesinin kap dokusundaki oksidatif stres ve antioksidan savunma üzerine etkilerini araştırmaktır ve bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre 12 günlük kurkumin takviyesi kalp dokusunda oksidatif hasarı azaltırken antioksidan savunma sistemini güçlendirmektedir.

Kalp vücutta sürekli olarak çalışan yegane organlardan biridir (28). Kalbin oksijen tüketiminin yüksek olması oksijen tüketimi düşük olan organlara göre daha fazla oksidatif strese maruz kalmasına ve aynı zamanda yüksek seviyelerde antioksidan enzim eksprese etmesine neden olur (29). Artmış oksidatif stresin yaşlanma sonucu ortaya çıkan lipid, protein ve DNA hasarı ve azalan antioksidan savunma sistemi ile ilişkisi güncel bir araştırma konusudur. Yaşlı sıçanların kalp dokusunda MDA, PC ve 8-izo-prostaglandin F2α düzeylerindeki artışla sırasıyla lipid peroksidasyonunun, protein oksidasyonunun ve DNA hasarının arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan seviyeleriyle ilgili tartışmalı sonuçlar bulunmaktadır (30).

Günümüzde, kurkuminin kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu etkisi ile ilgili olarak 3 ana mekanizma ileri sürülmektedir. Birincisi, kurkumin

serbest radikalleri süpürerek lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve böylece lipid zincir reaksiyonlarını bloke eder. İkincisi, kurkumin takviyesi yapılan sıçanlarda GSH içeriğinin artması kurkuminin sülfidril gruplarının oluşumunu artırdığını ve böylece membran bütünlüğünün korunmasına ve hidroksil radikallerinin ve lipid peroksitlerin enzimatik olmayan detoksifikasyonuna yardım edebileceğini ileri sürmektedir. Üçüncüsü, membran bütünlüğünü koruyucu etkisi ile kalp hasarına karşı koruma sağlayabilir (31).

Çalışmamızda GSH seviyeleri kurkumin takviyesi yapılan grupta kontrol grubuna göre yaklaşık olarak iki kattan daha yüksek idi. GSH enzimatik olmayan bir antioksidan olup antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşenidir. GSH aynı zamanda hücre sisteminde membran bütünlüğünün korunmasını sağlar (32). Mevcut çalışmada artan GSH seviyesi kurkuminin kalbi koruyucu etkisini gösteren önceki çalışmalarla uyumludur (16). Çalışmamızda artmış olan GSH seviyesi miyokard hücresinin membran bütünlüğünü destekleyerek oksidatif hasara karşı miyokardı korumakta ve böylece yaşlılığa bağlı olarak miyokartta ortaya çıkan çeşitli patolojilerin önlenmesini sağlamaktadır.

Mevcut çalışmada kurkumin takviyesi yapılan grupta MDA ve PC seviyeleri istatistiksel açıdan anlamlı olmamasına rağmen azalma eğilimi göstermiştir. Bu bulgular, kurkuminin antioksidan etkisinden dolayı kalp üzerine koruyucu rolünü göstermektedir ve kurkuminin kardiyovasküler sistem üzerine koruyucu rolünü gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (16,20,33). Bununla birlikte, 12 günlük kurkumin takviyesiyle MDA ve PC seviyelerinde görülen azalmanın istatistiksel açıdan anlamlı olmaması çalışmamızda uyguladığımız takviye süresinin kısa olduğunu düşündürmektedir. Çünkü önceki yıllarda yapılan çalışmalarda (34,35) bizim de uyguladığımız doz olan 300 mg/kg’lık dozun antioksidan etkisi gösterilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, 12 günlük kurkumin takviyesinin yaşlı dişi sıçanların kalp dokusunu oksidatif hasara karşı koruduğunu ve antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, literatürde bu konu hakkında yeterli çalışma bulunmadığından özellikle kurkuminin etki mekanizması da göz önüne alınarak daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

İstatistiksel analizleri yapan Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Said Bodur'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell*. 1999;96:291-302.
2. Dkhar P, Sharma R. Effect of dimethylsulphoxide and curcumin on protein carbonyls and reactive oxygen species of cerebral hemispheres of mice as a function of age. *Int J Dev Neurosci*. 2010;28:351-7.
3. Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 1956;11:298-300.
4. Çakatay U, Telci A, Yılmaz İA, Akçay T, Sivas A. Yaşlanmanın plazma oksidatif protein hasarına etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Derg*. 2000;31:220-3.
5. Sastre J, Pallardó FV, Viña J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life*. 2000;49:427-35.
6. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*. 1973;134:707-16.
7. Lee HC, Wei YH. Mitochondria and aging. *Adv Exp Med Biol*. 2012;942:311-27.
8. Ago T, Matsushima S, Kuroda J, Zablocki D, Kitazono T, Sadoshima J. The NADPH oxidase Nox4 and aging in the heart. *Aging (Albany NY)*. 2010;2:1012-6.
9. Doria E, Buonocore D, Focarelli A, Marzatico F. Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;830257:1-12.
10. Garcia-Fernandez M, Sierra I, Puche JE, Guerra L, Castilla-Cortazar I. Liver mitochondrial dysfunction is reverted by insulin-like growth factor II (IGF-II) in aging rats. *J Transl Med*. 2011;9:123.
11. Matthews RT, Yang L, Browne S, Baik M, Beal F. Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects. *Proc Natl Acad Sci*. 1998;95:8892-7.
12. Suh JH, Shigeno ET, Morrow JD, Cox B, Rocha AE, Frei B, et al. Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)-α-lipoic acid. *Faseb J*. 2001;15:700-6.
13. Binienda ZK. Neuroprotective effects of L-carnitine in induced mitochondrial dysfunction. *Ann NY Acad Sci*. 2003;993:289-95.
14. Cherniack EP. The potential influence of plant polyphenols on the aging process. *Forsch Komplement med*. 2010;17:181-7.
15. Ferrari CK. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. *Maturitas*. 2007;58:327-39.
16. Naik SR, Thakare VN, Patil SR. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol*. 2011;63:419-31.
17. Reddy AC, Lokesh BR. Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Mol Cell Biochem*. 1994;137:1-8.
18. Sreejayan, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol*. 1997;49:105-7.
19. Miriyala S, Panchatcharam M, Rengarajulu P. Cardioprotective effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol*. 2007;595:359-77.
20. Duan W, Yang Y, Yan J, Yu S, Liu J, Zhou J, et al. The effects of curcumin post-treatment against myocardial ischemia and reperfusion by activation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Basic Res Cardiol*. 2012;107:263.
21. Srivastava G, Mehta JL. Currying the heart: curcumin and cardioprotection. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2009;14:22-7.
22. Nirmala C, Anand S, Puvanakrishnan R. Curcumin treatment modulates collagen metabolism in isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. *Mol Cell Biochem*. 1999;197:31-7.
23. Venkatesan N. Curcumin attenuation of acute adriamycin myocardial toxicity in rats. *Br J Pharmacol*. 1998;124:425-7.
24. Yeh CH, Chen TP, Wu YC, Lin YM, Jing Lin P. Inhibition of NFκB activation with curcumin attenuates plasma inflammatory cytokines surge and cardiomyocytic apoptosis following cardiac ischemia/reperfusion. *J Surg Res*. 2005;125:109-16.
25. Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, Takaya T, Wada H, Nagasawa A, et al. The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *J Clin Invest*. 2008;118:868-78.
26. Bala K, Tripathy BC, Sharma D. Neuroprotective and anti-ageing effects of curcumin in aged rat brain regions. *Biogerontology*. 2006;7:81-9.
27. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
28. Nakao C, Ookawara T, Kizaki T, Oh-Ishi S, Miyazaki H, Haga S, et al. Effects of swimming training on three superoxide dismutase isoenzymes in mouse tissues. *J Appl Physiol*. 2000;88:649-54.
29. Jenkins RR. Exercise, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Int J Sport Nutr*. 1993;3:356-75.
30. Parildar H, Dogru-Abbasoglu S, Mehmetçik G, Ozdemirler G, Koçak-Toker N, Uysal M. Lipid peroxidation potential and antioxidants in the heart tissue of beta-alanine- or taurine-treated old rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2008;54:61-5.
31. Wongcharoen W, Phrommintikul A. The protective role of curcumin in cardiovascular diseases. *Int J Cardiol*. 2009;133:145-51.
32. Kakarla P, Vadluri G, Reddy KS, Leeuwenburgh C. Vulnerability of the mid aged rat myocardium to the age-induced oxidative stress: influence of exercise training on antioxidant defense system. *Free Radic Res*. 2005;39:1211-7.
33. Nazam Ansari M, Bhandari U, Pillai KK. Protective role of curcumin in myocardial oxidative damage induced by isoproterenol in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2007;26:933-8.

34. Thiagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci.* 2004;74:969-85.
35. Zhao J, Zhao Y, Zheng W, Lu Y, Feng G, Yu S. Neuroprotective effect of curcumin on transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res.* 2008;1229:224-32.