ORIGINAL ARTICLE

Protective effects of hydroalcoholic extract of ginger on DNA damage and viability of PC12 cells exposed to sodium dithionite

Mohammad Shokrzadeh[1],
Ramin Ataee[2],
Emran habibi[3],
Mahboube Rahmati Kukandeh [4]
Maryam Alizade Chapi[5]
Saba Asemi[6,]
Elahe Gharehkhani[7],

[1] Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Prof, Pharmaceutical Sciences research center,Mazandaran University of Medical Sciences,Sari Iran
[3] Associate Prof, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran
[4]PhD in Toxicology, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
[6]Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
[7] PhD in Toxicology, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 30, 2024; Accepted September 2, 2025)

Abstract

Background and purpose: This study focused on sodium dithionite, a chemical widely used in various industries, which causes oxidative damage to cells and DNA. Considering the well-known antioxidant properties of ginger, the research investigated the effects of hydroalcoholic ginger extract on genetic damage and cell viability. The study specifically evaluated how the extract influenced genetic disorders and improved the survival of PC12 cells that were exposed to the harmful effects of sodium dithionite.

Materials and methods: In this experimental study, PC12 cells were treated with varying concentrations of ginger extract (200, 400, and 600 mg/ml) together with sodium dithionite at its IC_{50} concentration. Following exposure, cell viability was evaluated using the MTT assay to determine the extract's protective effects. Additionally, DNA damage was quantified using the alkaline Comet assay, which provided insights into the genotoxic effects of sodium dithionite and the potential reduction by ginger extract. All data were statistically analyzed using GraphPad Prism software, with a significance threshold set at $p < 0.05$ to identify meaningful differences between treated and control groups.

Results: The results showed that ginger extract in the maximum concentration (600 mg/ml) maintains cell survival ($P<0.001$). In addition, the extract caused a significant reduction in DNA damage, and this effect was the most pronounced at the high concentration (600 mg/ml) ($P<0.001$).

Conclusion: The hydroalcoholic extract of ginger exhibits protective effects against oxidative damage induced by sodium dithionite in PC12 cells. These results indicate that ginger can be used as a protective agent against damage caused by oxidative stress.

Keywords: ginger, sodium dithionite, oxidative stress, DNA damage, PC12 cells

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (248): 32-44 (Persian).

Corresponding Author: Elahe Gharehkhani - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: egh199012@gmail.co)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۹ مهر سال ۱۴۰۴ (۴۴-۳۲)

اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر آسیب DNA و حیات سلول PC12 مواجه شده با سدیم دی تیونیت

محمد شکرزاده[۱]
رامین عطایی[۲]
عمران حبیبی[۳]
محبوبه رحمتی کوکنده[۴]
مریم علیزاده چپی[۵]
صبا عاصمی[۶]
الهه قره خانی[۷]

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه بر روی سدیم دیتیونیت، یک ماده شیمیایی که به‌طور گسترده در صنایع مختلف استفاده می‌شود و باعث آسیب اکسیداتیو به سلول‌ها و DNA می‌شود، متمرکز بود. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی شناخته شده زنجبیل، این مطالعه با هدف بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی زنجبیل را بر آسیب ژنتیکی و زنده ماندن سلول‌ها، انجام پذیرفت. این مطالعه به طور خاص ارزیابی کرد که چگونه این عصاره بر اختلالات ژنتیکی تأثیر می‌گذارد و بقای سلول‌های PC12 را که در معرض اثرات مضر سدیم دیتیونیت قرار گرفته‌اند، بهبود می‌بخشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، سلول‌های PC12 با غلظت‌های مختلف عصاره زنجبیل (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در کنار دی‌تیونیت سدیم در غلظت IC_{50} آن تیمار شدند. پس از مواجهه، زنده‌مانی سلول‌ها از طریق سنجش MTT ارزیابی شد تا اثرات محافظتی عصاره مشخص شود. علاوه بر این، میزان آسیب DNA با استفاده از سنجش Comet قلیایی اندازه‌گیری شد که دیدگاهی در مورد تأثیر ژنوتوکسیک دی‌تیونیت سدیم و کاهش احتمالی آن توسط عصاره زنجبیل ارائه می‌دهد. تمام داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Prism و با آستانه معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل آماری شدند تا تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌های تیمار شده و کنترل مشخص شود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره زنجبیل در غلظت ماکسیمم(۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) باعث حفظ بقای سلول ها شد ($p<0.001$). علاوه بر این، عصاره باعث کاهش قابل توجهی در میزان آسیب DNA در سلول ها شد که این اثر در غلظت بالا(۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بیش‌ترین میزان را داشت ($P <۰/۰۰۱$).

استنتاج: عصاره هیدروالکلی زنجبیل دارای اثرات محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سدیم دیتیونیت در سلول‌های PC12 است. زنجبیل می‌تواند به عنوان یک عامل محافظتی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: زنجبیل، سمیت ژنتیکی، سلول PC12، سدیم دی تیونیت

مولف مسئول: الهه قره خانی– دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ایران **E-mail:** egh199012@gmail.com
۱. استاد، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. مرکز تحقیقات علوم دارویی، موسسه هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشیار مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ایران
۳. دانشیار گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، مازندران
۴. دکترای تخصصی سم شناسی، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.
۵. کارشناس آزمایشگاه؛ دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.
۶. دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۷. دکترای تخصصی سم شناسی، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۸/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۸/۱۲ تاریخ تصویب : ۱۴۰۴/۶/۱۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

مقدمه

سدیم دیتیونیت یا هیدروسولفیت سدیم ($Na_2S_2O_4$، SDT) یک پودر کریستالی بسیار واکنش‌پذیر و سفید رنگ با بوی گوگرد است. به‌طور گسترده به عنوان یک عامل کاهنده و سفید کننده قوی در بسیاری از زمینه‌ها از جمله علوم زیستی، نساجی، کاغذ سازی، صنایع غذایی استفاده می‌شود. در صنایع فرآوری مواد غذایی، سدیم دیتیونیت به عنوان عامل سفیدکننده و بهبود کیفیت ظاهری مواد غذایی، به فرآورده‌های غذایی اضافه می‌شود(۱). سدیم دیتیونیت به‌طور گسترده در نان‌های صنعتی، محصولات قندی و کنسرو استفاده می‌شود. استفاده از این افزودنی‌های شیمیایی در محصولات غذایی مختلف تهدیدی جدید برای سلامت انسان می‌باشد(۲). در صورت مصرف این ترکیب در مواد غذایی، پس از ورود آن به دستگاه گوارش، سبب از بین رفتن پرزهای معده و روده می‌گردد و در دراز مدت با حذف آنتی‌اکسیدان‌های این دستگاه، موجب تسریع در سرطان بخش‌های گوارشی می‌شود گزارش شده است که سدیم دی تیونیت سبب هایپوکسی شیمیایی می‌شود که می‌تواند شرایط هایپوکسی/ایسکمیک را تقلید کند(۳). با اکسید سدیم دیتیونیت در شرایط بسیار اسیدی و بی هوازی (مانند دستگاه گوارش) دی اکسید گوگرد سمی آزاد و سپس هیدروژن سولفیت و تیوسولفات تشکیل می‌شود، بنابراین، این امکان وجود دارد که سولفیت هیدروژن توسط دستگاه گوارش جذب شود. سدیم هیدروژن سولفیت هم‌چنین در مسدود کردن آنزیم‌های بدن به ویژه انسولین موثر است. بنابراین به طور مستقیم دیابت را در افراد تسریع می‌کند(۴). سدیم دیتیونیت باعث از بین رفتن پتانسیل غشای میتوکندری می‌شود. این نشان می‌دهد که سیگنال دهی از طریق میتوکندری نقش کلیدی در آپوپتوز ناشی از آن را ایفا می‌کند(۲). دی اکسید گوگرد (SO_2) که باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود و می‌تواند باعث هیپوکسی شود که مسئول اختلالات متعددی از جمله سمیت اندام‌ها و آسیب به عملکرد آن‌ها است(۳). تولید ROS مهار نشده و سطح ROS کنترل نشده هم‌چنین می‌تواند متاستاز سلول‌های سرطانی و روند سرطان را افزایش دهد. همچنین ROS می‌تواند از سیستم ایمنی حمایت کند، اما تولید بیش از حد، سیتوتوکسیک می‌شوند. ROS هم در مرگ سلول‌های T ناشی از فعال‌سازی و هم در مرگ خود مختار سلول T فعال نقش دارد. آسیب اکسیداتیو منجر به آسیب سلولی روی DNA، پروتئین و لیپیدها می‌شود(۵). سدیم دیتیونیت توانایی ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی و ناباروری را دارد(۶). از جمله خطوط دفاعی سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد، پروتئین گلوتاتیون به‌منظور به دام انداختن آن‌ها می‌باشد. گلوتاتیون (GSH) یک تری پپتید تیول با بار منفی درون سلولی رایج است که نه تنها در حفظ پتانسیل اکسیداسیون و کاهش سیتوزولی و دفاع در برابر استرس اکسیداتیو بلکه در بسیاری از فرآیندهای سلولی دیگر از جمله سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک، ترشح برون‌ریز و تحمل حرارت و تنظیم چرخه سلولی، تکثیر نقش دارد. هم‌چنین تعیین‌کننده اصلی حالت ردوکس سلولی و دفاع در برابر استرس اکسیداتیو است. در داخل سلول‌ها جمع می‌شود و در خارج از سلول‌ها تجزیه می‌شود و تحت شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی آزاد می‌شود(۷). ریشه زنجبیل (ریزوم Zingiber officinale Roscoe، Zingiberaceae) هزاران سال است که به عنوان چاشنی غذا و داروی گیاهی برای مراقبت های بهداشتی و پیشگیری از بیماری ها استفاده می شود. استفاده سنتی از زنجبیل به عنوان داروی گیاهی به فعالیت جینجرول‌ها (۶-، ۸- و ۱۰-gingerols و ۶-shogaol) نسبت داده می‌شود که از اجزای اصلی فعال زیستی در زنجبیل محسوب می شوند(۸). زنجبیل معمولاً به عنوان ادویه مصرف می‌شود. در طب سنتی گیاهی از زنجبیل برای درمان سرما خوردگی بیماری‌های گوارشی، روماتیسم، نورالژی، قولنج و بیماری حرکت استفاده می‌شود. زنجبیل دارای خواص آنتی اکسیدانی است(۹).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

عصاره‌های زنجبیل سرشار از جینجرول‌ها و شوگاول‌ها هستند که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد قارچی و ضد سرطانی، هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی هستند(۱۰). مهم‌ترین اجزای فعال زیستی که مسئول فعالیت‌های دارویی مختلف زنجبیل هستند، جینجرول ها هستند، گروهی از ترکیبات فنلی شامل ۶-، ۸-، ۱۰-جینجرول که جزء اصلی آن ۶-جینجرول است(۱۱). اقدامات محافظتی جینجرول ها از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و تعدیل سطح آنزیم های سم زدایی انجام می‌شود(۸). هم‌چنین در تحقیقات انجام شده مشخص گردید که زنجبیل می‌تواند باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول در ترکیب با سایر مواد شود. به‌عنوان مثال زنجبیل با آنتوسیانین، باعث افزایش محتوای GSH از وضعیت ردوکس سلولی در برابر استرس اکسیداتیو القایی شده و هم‌چنین از طریق کاهش فعالیت آنزیم GPx القایی و صرفه جویی در فعالیت آنزیم SOD بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلولی تأثیر مثبتی بر سلول‌های Caco-2 گذاشتند(۸).

اخیرا آزمایش‌های سمیت عصبی بر روی بیماری‌های سیستم عصبی، بیش‌تر بر مدل‌های حیوانی متکی هستند. سلول‌های فئوکروموسیتوم موش صحرایی PC12 یک مدل پرکاربرد در نوروبیولوژی ارائه می‌دهند زیرا برخی از ویژگی‌های نورون‌های دوپامینرژیک بالغ را نشان می‌دهند و در تحقیقات علوم اعصاب، از جمله مطالعات در مورد سمیت عصبی، محافظت عصبی، ترشح عصبی، التهاب عصبی و سیناپتوژنز مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۲). این سلول‌ها در شرایط کشت آزمایشگاهی و تحت تاثیر فاکتورهای القایی به سلول‌هایی با مورفولوژی شبه عصبی تبدیل می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان داد که فاکتورهای رشد ازجمله فاکتور رشد عصبی NGF (Nerve Growth Factor) و فاکتور رشد فیبروبلاستی bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) در فرایندهای مختلفی از جمله تکثیر، بقا و تمایز این سلول‌ها موثر می‌باشند(۱۳).

با توجه به مصرف مداوم سدیم دیتیونیت و عوارض عصبی و جدی آن و هم‌چنین عدم مطالعه کافی در نمونه‌های *in vitro*، و هم‌چنین اثر عصاره زنجبیل بر استرس اکسیداتیو، این مطالعه طراحی و انجام شد. در مطالعه حاضر اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر آسیب ژنتیکی و حیات سلولی ناشی از سدیم دی‌تیونیت بر رده سلولی PC12 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تجربی، با کد اخلاق در IR.MAZUMS.REC.1402.354 معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به ثبت رسیده است.

در این مطالعه از عصاره گیاه زنجبیل، سدیم دی تیونیت (کد ۱۰۶۵۰۷) و رده سلولی PC12 استفاده شد.

گروه های مورد مطالعه در این تحقیق، ۱، گروه کنترل منفی(عدم تیمار)، ۲، گروه کنترل مثبت (دریافت کننده سدیم دی تیونیت در غلظت اپتیمم)، ۳، گروه‌های تیمار شده (pre treat) با عصاره زنجبیل در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مواجه با سدیم دی تیونیت در غلظت اپتیمم و ۴، گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به تنهایی، بوده است.

برای تهیه عصاره، از گیاه زنجبیل تهیه شده در شهرستان ساری استفاده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه زنجبیل در داخل بشر حاوی اتانول ۷۰ درصد (به عنوان حلال) ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر قرار گرفت. سپس محلول توسط کاغذ صافی جدا و برای حذف حلال در روتاری تحت دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت نمونه عصاره توسط دستگاه فریز درایر به صورت پودر خشک تهیه شد(۱۴).

روش ظرفیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH)

ابتدا ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH به ۱ میلی لیتر از عصاره اضافه و مخلوط حاصل به خوبی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

تکان داده شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت و جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۴۲ نانومتر با بلانک متانول قرائت گردید. آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و در نهایت، مقدار به دام اندازی رادیکال DPPH با فرمول زیر محاسبه گردید(۱۵).

درصد مهار رادیکال آزاد = (Ao-As)/ Ao ×100

Ao - جذب شاهد

As - جذب عصاره مورد آزمایش

اندازه گیری فلاونوئیدها

میزان محتوی فلاونوئید عصاره هیدروالکلی از طریق روش‌های رنگ سنجی ارزیابی شد. غلظت ۴۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی لیتر متانول حل و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد، سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول استات پتاسیم ۱ مولار و در نهایت ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر هم به ان اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی- ماورا بنفش اندازه‌گیری شد. کوئرستین به عنوان نمونه استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل «میلی گرم اکی والان کوئرستین در گرم عصاره» گزارش شد(۱۶).

اندازه‌گیری محتوای تام فنلی

محتوای ترکیبات فنلی از طریق متد فولین سیو کالتو انجام شد. غلظت ۴۰۰ میکروگرم/میلی لیتر از عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش گر ۰/۲ نرمال فولین سیو کالتو مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم با غلظت ۷۵ گرم در لیتر اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ماورا بنفش در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به‌صورت مقادیر هم ارز با استاندارد گالیک اسید بیان شد، به این صورت که میانگین جذب حاصل در معادله خط به دست آمده از ترسیم منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شد و نتیجه به عنوان محتوی تام فنلی عصاره بر اساس میزان معادل «میلی گرم اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره » گزارش شد(۱۶).

کشت سلولی

در این مطالعه از رده سلولی PC12 خریداری شده از بانک سلولی انیستیتو پاستور به‌صورت فریز و منجمد شده، استفاده گردید. رده سلولی در محیط کشت RPMI-1640 با افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین کشت و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت کافی و میزان ۵ درصد دی اکسید کربن نگهداری شد و بررسی گردید تا وقتی که به ۷۰ درصد رشد خود رسیدند، سلول‌ها را توسط تریپسین +EDTA از ته فلاسک جدا و با دور ۱۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد و رسوب سلولی ایجاد شده را به حالت سوسپانسیون تهیه و برای درصد زنده ماندن سلول‌ها از رنگ تریپان بلو و لام همو سایتومر توسط میکروسکوپ نوری استفاده گردید(۱۷، ۱۸).

تیمار سلول‌ها

بدین‌منظور ۲۴ ساعت پس از کاشت سلول‌ها، عصاره هیدروالکلی زنجبیل با غلظت‌های، ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به سلول‌ها برای مدت ۲۴ ساعت مواجهه شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت با غلظت اپتیمم (IC_{50}) ۰/۰۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سدیم دی تیونیت تنها به مدت ۱ ساعت مواجهه و سپس تست کامت انجام شد(۱۹، ۲۰).

اندازه‌گیری ROS

محلول استوک DCFH-DA به صورت ۱۰ میلی‌مولار در DMSO تهیه شده و در ۴ درجه نگهداری

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

شد. محلول لیز کننده مشابه محلول لیز کننده مورد استفاده در روش کامت تهیه شد. سلول‌های انکوبه شده با داروهای مورد نظر طبق پروتکل زمانی مشخص ۲ بار با HBSS شسته شدند. محلول کار DCFH-DA به صورت ۱۰۰ میکرومولار در HBSS از محلول استوک اولیه تهیه شد. محلول کار DCFH-DA به سلول‌ها اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه انکوبه شد. محلول DCFH-DA از محیط خارج شده و سپس سلول‌ها ۲ بار دیگر با HBSS شسته شدند. محلول لیز کننده سرد به سلول‌ها اضافه شده و پس از ۱ دقیقه محتویات چاهک‌ها (2800g; 5 min) جمع‌آوری شده و سانتریفوژ شد. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به دو چاهک از پلیت ۹۶ خانه منتقل شد و میزان فلورسنس توسط میکرو پلیت ریدر اندازه گیری شد (Excitation: 485 nm, emission: 530 nm). در تمام مراحل سلول‌ها در مکان تاریک بودند (استفاده از فویل آلومینیومی) و H2O2 ۰/۱ میلی‌مولار به عنوان کنترل مثبت و سلول های انکوبه شده با محیط کشت به تنهایی به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد(۲۱).

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی

پس از انکوباسیون سلول‌ها با ترکیبات به ترتیب مذکور میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس روش تیوبابیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که به ۰,۲ml از سوسپانسیون سلولی و ۰/۱ ml از معرف TBA شامل HCl 0.5 نرمال , TCA 15% و TBA 0.3% اضافه شد و به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید و بعد از سرد شدن به آن n 0.2 ml- بوتانل اضافه شد و خوب تکان داده و سپس در 3500 rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. لایه n- بوتانل برای سنجش در طول موج 532 nm جدا شد و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه گردید(۲۲).

روش کامت

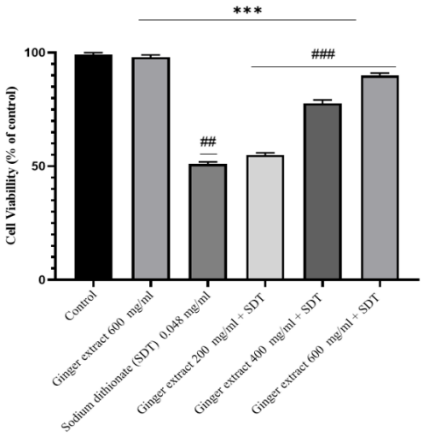
لام های تست کامت با آگارز با ذوب معمولی (NMA)، ۱ درصد پوشانده شدند و به مدت یک روز اجازه داده شد تا خشک شوند. سپس محلولی حاوی سلول‌های تریت شده در پلیت های ۶ خانه به همراه ۱۸۰ میکرولیتر آگارز با ذوب پایین (LMA)، ۰/۸ درصد تهیه شد و بلافاصله به لایه اول لام‌های کامت منتقل شد. در ادامه لام‌ها در بافر لیز کننده سرد (۲/۵ مولار NaCl، ۱۰۰ میلی‌مولار Na2EDTA، ۱۰ میلی‌مولار Tris-base، و ۱٪ Triton-X 100) غوطه ور شدند و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. ۱ ساعت پس از این بخش، اسلایدها با آب سرد مقطر شسته شدند. سپس لام‌ها در آلکالیک بافر (۳۰۰ میلی مولار NaOH، ۱ میلی مولار EDTA، pH> 13) غوطه‌ور شدند تا DNA به مدت ۳۰ دقیقه باز شود، سپس با همان بافر در ولتاژ ۰/۷ ولت بر سانتی‌متر به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز انجام شد. در ادامه لام ها با اتیدیوم بروماید (۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) رنگ آمیزی شدند. در نهایت، سلول‌ها با بزرگنمایی ۴۰۰× میکروسکوپ فلورسنت Nikon-501 با فیلتر تحریکی ۵۱۰-۵۶۰ نانومتر مشاهده شدند (۲۳، ۲۴).

از لام‌های مورد مطالعه تصاویری ذخیره شد و توسط نرم افزار Comet Score تعداد حداقل ۱۰۰ سلول از هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت و پارامترهایی هم‌چون (Tail length، DNA in Tail و Tail Moment) سنجش گردید. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار Prism نسخه ۸ و تست one way ANOVA و Tukey posttest برای بررسی آماری استفاده شد.

یافته‌ها

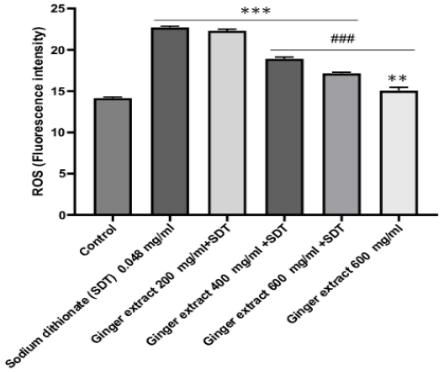
نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به همراه سدیم دی‌تیونیت دارای اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت که غلظت سدیم دی‌تیونیت در غلظت IC_{50} (۰/۰۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) می‌باشد ($P<0/01$). در غلظت‌های بالاتر و همچنین در غلظت تک دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره میزان معنی‌داری در مقایسه با کنترل مثبت ($P<0/001$) افزایش یافت (نمودار شماره ۱).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]



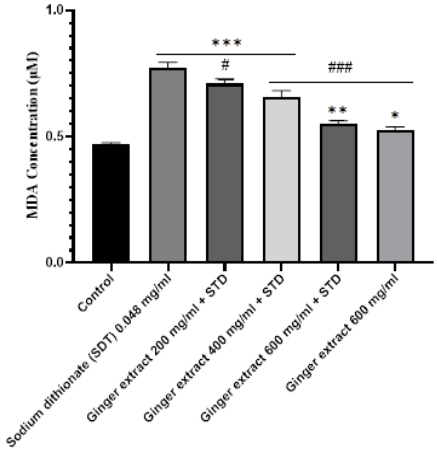
نمودار شماره ۱: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر زنده مانی سلول‌های رده PC12 در مواجهه با سدیم دی تیونیت به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی(P <۰/۰۰۱)، ##: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۱)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت(P <۰/۰۰۱).

نتایج مربوط به اندازه گیری سطح ROS نشان داد که عصاره هیدروالکلی در دو غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش ROS در مقایسه با ROS تولید شده ناشی از سدیم دی تیونیت، با سطح معنی‌داری (P <۰/۰۰۱) شد (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر میزان ROS سلولی در رده PC12 در مواجهه با سدیم دی تیونیت به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۰۱)، **: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۱)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱)، مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱).

نتایج مربوط به بررسی میزان MDA تولید شده در سلول نشان داد که عصاره زنجبیل در دو غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش چشمگیری در میزان MDA در مقایسه با گروه مواجه شده با سدیم دی تیونیت در غلظت IC50 شد (نمودار شماره ۳).

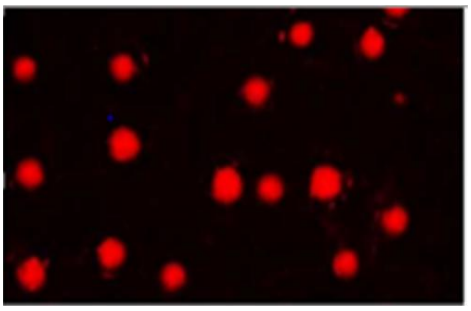


نمودار شماره ۳: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر میزان MDA در رده سلولی PC12 در مواجهه با سدیم دی تیونیت به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۰۱)، **: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۱)، *: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۵)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۱)، مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱)، #: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۵).

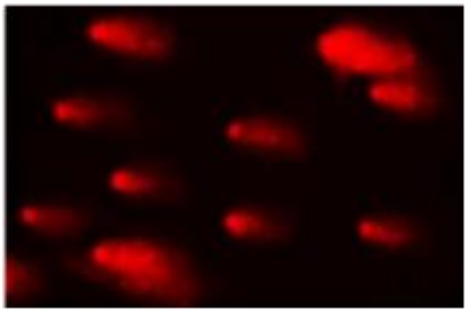
نتایج تست کامت به‌صورت گزارش سه پارامتر Tail Moment، DNA in Tail٪ و Tail length گزارش شد. براساس یافته‌ها مشاهده شد که در مورد هر سه پارامتر گروه کنترل مثبت (سدیم دی‌تیونیت در غلظت IC_{50}) در مقایسه با گروه کنترل منفی دارای اختلاف معنی‌دار بود و با * نشان داده شد (P <۰/۰۰۱). گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی زنجبیل، مخصوصا در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیش‌ترین اختلاف با گروه کنترل مثبت بود (P <۰/۰۰۱) (نمودارهای شماره ۴، ۵ و ۶).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

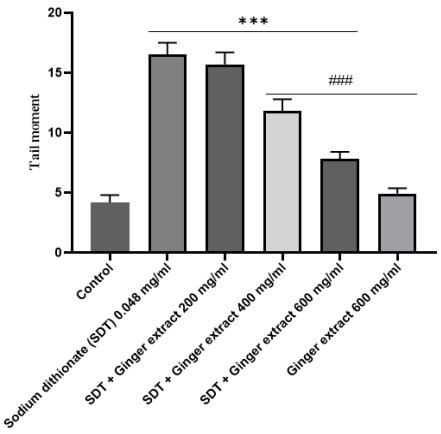
سلامت محتوای ژنتیکی در غیاب سدیم دیتیونیت و آسیب وارده ناشی از سدیم دیتیونیت در تصاویر نشان داده شده است (تصاویر شماره ۱ و ۲).



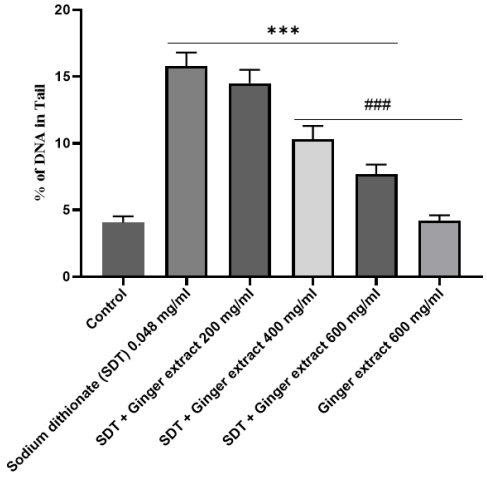
تصویر شماره ۱: گروه کنترل منفی (سلامت محتوای ژنتیکی سلول)



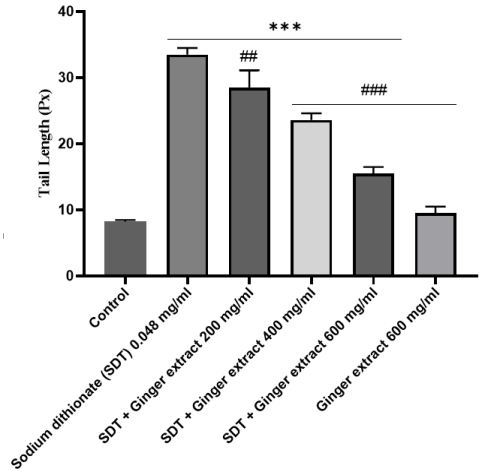
تصویر شماره ۲: گروه سدیم دیتیونیت (آسیب وارده به محتوای ژنتیکی ناشی از سدیم دیتیونیت)



نمودار شماره ٤: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر میزان آسیب به DNA بر سلول‌های مواجه شده با سدیم دی تیونیت (در غلظت اپتیمم) با بررسی پارامتر Tail moment به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۰۱)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱).



نمودار شماره ٥: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر میزان آسیب به DNA بر سلول های مواجه شده با سدیم دی تیونیت (در غلظت اپتیمم) با بررسی پارامتر % of DNA in Tail به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۰۱)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱).



نمودار شماره ٦: اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر میزان آسیب به DNA بر سلول های مواجه شده با سدیم دی تیونیت (در غلظت اپتیمم) با بررسی پارامتر Tail Length به صورت میانگین ± SEM، ***: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل منفی (P <۰/۰۰۱)، ###: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۰۱)، ##: اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل مثبت (P <۰/۰۱).

بحث

صنعت غذا به دلیل تأثیر مستقیم مواد غذایی بر دستگاه گوارش و سایر بخش‌های بدن انسان و همچنین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

اثرات بلند مدت مواد موجود در محصولات این صنعت، از مهم‌ترین صنایع تأثیرگذار بر سلامت انسان‌ها است به همین دلیل، نظارت بر افزودنی‌ها، روش‌های تولید و تهیه مواد اولیه این صنعت باید در اولویت‌های هر جامعه‌ای باشد. با توجه به تنوع و گستردگی تولیدات این صنعت، شناخت روزافزون و تدوین قوانین بهداشتی کارآمد از نیازهای اساسی هر سیستم نظارتی بر سلامت جامعه است. سدیم دیتیونیت یک عامل سفید کننده است که جهت بهبود کیفیت محصولات غذایی از جمله نان به آن اضافه شد و این ماده قدرت کاهندگی بالایی داشته که باعث ایجاد آسیب سلولی و ژنتیکی می‌شود(۲۵). به عبارت ساده، جهش‌زایی به معنای ایجاد آسیب به DNA و تغییرات ژنتیکی است که می‌تواند از تغییر در یک یا چند جفت باز (جهش ژنی) تا تغییرات بزرگ در ساختار کروموزوم (ناهنجاری‌های کروموزومی) یا تعداد کروموزوم‌ها (آنوپلوئیدی و پلی پلوئیدی) متغیر باشد. به طور کلی، ژنوتوکسیسیتی یا سمیت ژنی، اثرات ترکیبی مواد خارجی و پاسخ زیستی بدن به این مواد را در نظر می‌گیرد(۲۶). مطالعات قبلی در کشور نشان داده است که ماده سدیم دیتیونیت در برخی محصولات صنایع غذایی وجود دارد. بررسی‌های انجام شده در چند شهر و حتی در سطح استانی به اندازه‌گیری غلظت و تعیین مقدار این ماده در محصولات تولیدی پرداخته‌اند. سدیم دیتیونیت، به دلیل داشتن گروه فعال اکسیژن، پتانسیل بالایی برای ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو به DNA دارد. نتایج مطالعات سید محمدی و همکاران در سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۴ در کارگاه‌های تولیدی نبات شهر همدان نشان داد که بالاترین میزان بلانکیت در کارگاه‌ها 28.85 میلی‌گرم بر کیلوگرم و کم‌ترین آن۳,۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. در تمام کارگاه‌ها از این ماده استفاده می‌شد و ۳۷/۵ درصد نمونه‌ها غلظتی بالاتر از استاندارد کشوری داشتند(۲۷). در تحقیقاتی که توسط Idris Bektasو همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی اثرات سمیت ژنتیکی رنگ ایندیگو (که از رنگ‌های پرکاربرد در صنایع نساجی است) و هم‌چنین ماده سدیم دیتیونیت به عنوان ماده رنگ‌بر انجام شد، اثرات سمیت ژنتیکی این ماده در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد، که نتایج این مطالعه همسو با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر مبنی بر القای سمیت ژنتیکی و همچنین ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در گروه دریافت کننده سدیم دیتیونیت در غلظت اپتیمم بود(۲۸). در تحقیق انجام شده توسط سلیمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ مشخص گردید که سدیم دیتیونیت با نام بلانکیت که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، به‌دلیل تولید رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو، باعث آسیب ژنتیکی، سلولی، آلرژی و حساسیت و مشکلات تنفسی می‌شود(۲۹). با توجه به مطالعات انجام شده مشخص گردید که آسیب‌رسانی سدیم دی‌تیونیت به حیات و ژنوم سلولی انسان، همسو با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، مبنی بر مضر بودن آن، می‌باشد.

در حالت استرس اکسیداتیو بسیاری ازماکرومولکول‌ها آسیب می بینند و فرایند پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداتیون DNA، اکسیداسیون پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها و اختلال عملکرد غشاهای مختلف اتفاق می‌افتد. شواهد موجود نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیش از یک صد بیماری دخالت دارد. در حال حاضر شاخص مطلق و تعریف شده‌های برای استرس اکسیداتیو وجود ندارد. ولی شاخص‌های زیادی وجود دارد. که می‌تواند تا حدودی نشان دهنده این وضعیت باشند. اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها به‌طور کل یا هر یک به تنهایی و هم‌چنین ارزیابی مولکول‌های بیولوژیکی اکسید شده و صدمه دیده از مهم‌ترین این روش‌ها می‌باشند که امروزه کاربرد بسیار زیادی پیدا کرده اند که با توجه به مطالعات ابتدایی مطالعه حاضر برای این تحقیق همسو می‌باشد(۳۰).

گزارش شده است که انواع محصولات طبیعی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مانند سبزیجات، میوه ها، دانه‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

غـلات، گیاهـان دارویـی و دم‌کـرده‌هـای گیـاهی هسـتند. چندین مطالعه نشان داده است کـه زنجبیـل همچنـین دارای فعالیـت آنتـی اکسـیدانی بـالایی اسـت(۳۱). فعالیـت آنتـی اکسـیدانی زنجبیـل از طریـق روش هـای قـدرت آنتـی اکسـیدانی کاهنـده آهـن (FRAP، DPPH، ABTS) در شـرایط in vitro ارزیـابی شـده اسـت. نتـایج نشـان داد کـه زنجبیل خشـک قـوی‌تـرین فعالیـت آنتـی اکسـیدانی را بـه نمایش می گذارد، زیرا تعداد ترکیبات فنلی به ترتیـب ۵/۲، ۱/۱ و ۲/۴ برابـر بـیش‌تـر از زنجبیـل تـازه stirfried و carbonized gingerبود که با نتـایج مطالعـه در تسـت‌هـای زنـده مـانی و ROS سـلولی و گلوتـاتیون همسـو بـود(۳۲). چندین مطالعه نشان داده است کـه زنجبیـل بـرای محافظـت در برابر استرس اکسیداتیو موثر است. مکانیسم‌های اساسـی عمل آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های سلولی بررسی شد. عصاره زنجبیل اثرات آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های غضروفی انسـان نشان داد به واسطه کاهش استرس اکسیداتیو و اینترلوکین ۱ می‌باشد. علاوه بر این، عصاره زنجبیل می‌تواند تولیـد ROS در سلول‌های فیبروسارکومای انسانی را با استرس اکسیداتیو ناشی از H2O2 کاهش دهد(۳۳). این نتایج با کاهش سـطح ROS سلولی توسط عصاره زنجبیل بـه‌دسـت آمـده در ایـن تحقیق همسو بود. مطالعه انجام شده بـرای بررسـی خـواص آنتـی اکسـیدانی زنجبیـل و ترکیبـات فعـال زیسـتی آن در داخـل بـدن انجـام شـده اسـت در آن‌جـا، ۶ شـوگائول (-6 shogaol) با القای بیان ژن‌هـای Nrf2 هـدف ماننـد MT1، HO-1 و GCLC در سـلول‌هـای روده بـزرگ مـوش‌هـا، پتانسیل آنتی اکسیدانی را به نمـایش گذاشـته اسـت(۳۴). بـا توجه به نتایج مطالعات قبلی، عصـاره زنجبیـل مـی توانـد از افزایش سطح MDA و کاهش فعالیت کاتـالاز و هـم‌چنـین سطح گلوتاتیون جلوگیری کند که با نتایج بـه‌دسـت آمـده در تست مربوط به اندازه‌گیری گلوتـاتیون همسـو بـود(۳۵). زنجبیل مـی‌توانـد سـطح H_2O_2 و MDA را کـاهش دهـد، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان را افزایش دهـد و گلوتـاتیون را با آسیب اکسیداتیو ناشی از chlorpyrifos افزایش دهد کـه این نتایج بـا فرضـیه مطالعـه حاضـر مبنـی بـر خـواص آنتـی اکسیدان عصاره زنجبیـل در برابـر سـدیم دیتیونیـت همسـو بـود(۳۶). عـلاوه بـر ایـن، درمـان بـا عصـاره زنجبیـل باعـث افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان هـا و تستوسـترون در سـرم و بیضه های موش صـحرایی از آسـیب در شـیمی درمـانی بـا سیکلوفسفامید می‌شود(۳۷). علاوه بـر مطالعـات مـذکور، در تحقیقـــات Masuda و همکـــاران، تحقیقـــات Chan و همکـــاران و تحقیقـــات Ghasemzadeh و همکـــاران در دهـه‌های اول و دوم قـرن بیسـتم، اثـرات آنتـی‌اکسـیدانتی عصاره زنجبیل ثبات شد(۴۰-۳۸). نتـایج بـه دسـت آمـده از این مطالعـه نشـان داد کـه عصـاره هیـدروالکلی زنجبیـل در غلظت‌های مختلف باعـث مهـار سـمیت سـلولی و ژنتیکـی سدیم دی تیونیت در سلول‌های PC12 شد. با توجه به نتایج مطالعات فوق و نتایج به‌دست آمده از این مطالعـه مشـخص گردید که عصاره هیدروالکلی زنجبیل باعـث مهـار سـمیت سلولی و ژنتیکی سدیم دی تیونیت شد.

با توجه به مطالعه که به‌صورت in vitro بود، میـزان و قدرت عملکرد عصـاره زنجبیـل در محـیط in vivo و اثرات آن از جمله محدودیت های این مطالعه بود.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل پایان نامه دوره دکتـری عمـومی داروسازی خـانم صـبا عاصـمی بـا دانشـکده داروسـازی مازندران بود که منـابع مـالی آن توسـط دانشـگاه تـامین شده است و بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Yu X, Xiang L, Yang S, Qu S, Zeng X, Zhou Y, et al. A near-infrared fluorogenic probe with fast response for detecting sodium dithionite in living cells. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2021; 245: 118887. PMID: 32927301.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

2. Chun-Yan Y, Ling H. Neuroprotective effects of sinapine on PC12 cells apoptosis induced by sodium dithionite. Chin J Nat Med 2008; 6(3): 205-209.
3. Zare Gashti R, Mohammadi H. Sodium dithionate ($Na_2 S_2 O_4$) induces oxidative damage in mice mitochondria heart tissue. Toxicol Rep 2022; 9: 1391-1397. PMID: 36518422.
4. Karami M, Alikord M, Mokhtari Z, Sadighara P, Jahed-Khaniki G. Sodium Hydrosulfite (Blankit) in Iranian food as a threat to human health: a review. J Food Saf Hyg 2021; 7(1): [page numbers].
5. Yang S, Lian G. ROS and diseases: Role in metabolism and energy supply. Mol Cell Biochem 2020; 467: 1-12. PMID: 31813106.
6. Izanloo H, Atafar Z, Aali R, Ghafuri Y. Sodium dithionite concentration in traditional bread and health risk assessment: a case study in Qom city. Arch Hyg Sci 2022; 11(1): 13-18.
7. Rashidovna MN, Urmonovich NO. Comparative Characteristics of the Leaving of Glutathione from Cells of Different Types. Int J Orange Technol 2020; 2(10): 79-82.
8. Abdurrahim AE, Mazurak VC, Chen L. Gingerols synergize with anthocyanins to induce antioxidant activity in vitro. Front Nutr 2023; 10: 1123456. PMID: 37743923.
9. Yaghubi Beklar S, Hamzeh M, Karimpour Malekshah A, Talebpour Amiri F. The hydroalcoholic extract of Zingiber officinale diminishes diazinon-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress and apoptosis in rats. Biotech Histochem 2021; 96(4): 269-275. PMID: 32672073.
10. Bidinotto LT, Spinardi-Barbisan ALT, Rocha NS, Salvadori DMF, Barbisan LF. Effects of ginger (Zingiber officinale Roscoe) on DNA damage and development of urothelial tumors in a mouse bladder carcinogenesis model. Environ Mol Mutagen 2006; 47(8): 624-630. PMID: 16878317.
11. Wen C, Liu Y, Ye Y, Tao Z, Cheng Z, Wang T, et al. Effects of gingerols-rich extract of ginger on growth performance, serum metabolites, meat quality and antioxidant activity of heat-stressed broilers. J Therm Biol 2020; 89: 102544. PMID: 32364987.
12. Wiatrak B, Kubis-Kubiak A, Piwowar A, Barg E. PC12 Cell Line: Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions. Cells 2020; 9(4): 958. PMID: 32295099.
13. Liu Y, Zou L, Wang P, Zhou J, Yuan C, Wang J. Construction of differential expression plasmids of NGF to detect its influence on PC12 cell neuronal differentiation. Exp Ther Med 2021; 21(4): 1234-1242. PMID: 33732336.
14. Shokrzadeh M, Ahmadi A, Chabra A, Naghshvar F, Salehi F, Habibi E, et al. An ethanol extract of Origanum vulgare attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury and oxidative lung damage in mice. Pharm Biol 2014; 52(10): 1229-1236. PMID: 24646304.
15. Kedare SB, Singh R. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol 2011; 48(4): 412-422. PMID: 23572765.
16. Vinatoru M, Toma M, Radu O, Filip P, Lazurca D, Mason T. The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. Ultrason

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

Sonochem 1997; 4(2): 135-139. PMID: 11237031.

17. Ghassemi-Barghi N, Varshosaz J, Etebari M, Dehkordi AJ. Role of recombinant human erythropoietin loading chitosan-tripolyphosphate nanoparticles in busulfan-induced genotoxicity: Analysis of DNA fragmentation via comet assay in cultured HepG2 cells. Toxicol In Vitro 2016; 36: 46-52.
18. Motafeghi F, Gerami M, Mortazavi P, Khayambashi B, Ghassemi-Barghi N, Shokrzadeh M. Green synthesis of silver nanoparticles, graphene, and silver-graphene nanocomposite using Melissa officinalis ethanolic extract: Anticancer effect on MCF-7 cell line. Iran J Basic Med Sci 2023; 26(1): 57-65.
19. Marefati N, Abdi T, Beheshti F, Vafaee F, Mahmoudabady M, Hosseini M. Zingiber officinale (Ginger) hydroalcoholic extract improved avoidance memory in rat model of streptozotocin-induced diabetes by regulating brain oxidative stress. Horm Mol Biol Clin Investig 2022; 43(1): 15-26. PMID: 34679261.
20. Rezaei F, Shokrzadeh M, Majd A, Nezhadsattari T. Cytotoxic Effect of Hydroalcoholic Extract of Cornus mas L. fruit on MCF7, HepG2 and CHO cell line by MTT Assay. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(113): 130-138.
21. Ansari M, Shokrzadeh M, Karima S, Rajaei S, Fallah M, Ghassemi-Barghi N, et al. New thiazole-2(3H)-thiones containing 4-(3,4,5-trimethoxyphenyl) moiety as anticancer agents. Eur J Med Chem 2020; 185: 111784. PMID: 31669850.
22. Azadbakht M, Safapour S, Ahmadi A, Ghasemi M, Shokrzadeh M. Anti-diabetic effects of aqueous fruits extract of Diospyros lotus L. on streptozotocin-induced diabetic rats and the possible morphologic changes in the liver, kidney and heart. J Pharmacogn Phytochem 2010; 2(2): 10-16.
23. Tavares JMR, Bourauel C, Geris L, Vander Slote J. Computer Methods, Imaging and Visualization in Biomechanics and Biomedical Engineering II: Selected Papers from the 17th International Symposium CMBBE and 5th Conference on Imaging and Visualization, September 7-9, 2021. Cham: Springer Nature; 2022.
24. Shokrzadeh M, Ghassemi-Barghi N. Antioxidant and Genoprotective effects of Amifostine against irinotecan toxicity in human hepatoma cells. Int J Cancer Res Ther 2018; 3(1): 1-5.
25. Zare gashti R, Mohammadi H. Sodium dithionate ($Na_2 S_2 O_4$) induces oxidative damage in mice mitochondria heart tissue. Toxicol Rep 2022; 9: 1391-1397. PMID: 36518422.
26. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A 1971; 68(4): 820-823. PMID: 5279523.
27. Seidmohammadi A, Asgari G, Lotfi A, Fardmal J, Heshmati A, Pirmoghani A. Investigation of sodium dithionite residues in the rock candies produced in the candies making plants of Hamadan, Iran. J Health Res Community 2017; 3(1): 1-8.
28. Bektaş İ, Karaman Ş, Dıraz E, Çelik M. The role of natural indigo dye in alleviation of genotoxicity of sodium dithionite as a reducing agent. Cytotechnology 2016; 68(6): 2245-2255. PMID: 27757710.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]

29. Salimi F, Nemati A, Amani F, Adeib A, Abbasgholizadeh N. Survey of Blankit Residues in sugarloaf, shakar-panir and rock candy in Ardabil province in 2015. J Health 2017; 8(2): 204-210.
30. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. Med Sci Monit 2004; 10(6): 141-147. PMID: 15173684.
31. Aoki S, Morita M, Hirao T, Yamaguchi M, Shiratori R, Kikuya M, et al. Shift in energy metabolism caused by glucocorticoids enhances the effect of cytotoxic anti-cancer drugs against acute lymphoblastic leukemia cells. Oncotarget 2017; 8(55): 94271-94282. PMID: 29212227.
32. Li Y, Hong Y, Han Y, Wang Y, Xia L. Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2016; 1011: 223-232. PMID: 26799205.
33. Romero A, Forero M, Sequeda-Castañeda LG, Grismaldo A, Iglesias J, Celis-Zambrano CA, et al. Effect of ginger extract on membrane potential changes and AKT activation on a peroxide-induced oxidative stress cell model. J King Saud Univ Sci 2018; 30(2): 263-269.
34. Chen H, Fu J, Chen H, Hu Y, Soroka DN, Prigge JR, et al. Ginger compound [6]-shogaol and its cysteine-conjugated metabolite (M2) activate Nrf2 in colon epithelial cells in vitro and in vivo. Chem Res Toxicol 2014; 27(9): 1575-1585. PMID: 25148906.
35. Saiah W, Halzoune H, Djaziri R, Tabani K, Koceir EA, Omari N. Antioxidant and gastroprotective actions of butanol fraction of Zingiber officinale against diclofenac sodium-induced gastric damage in rats. J Food Biochem 2018; 42(1): e12456.
36. Abolaji AO, Ojo M, Afolabi TT, Arowoogun MD, Nwawolor D, Farombi EO. Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from Zingiber officinale (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. Chem Biol Interact 2017; 270: 15-23. PMID: 28373059.
37. Mohammadi F, Nikzad H, Taghizadeh M, Taherian A, Azami-Tameh A, Hosseini S, et al. Protective effect of Zingiber officinale extract on rat testis after cyclophosphamide treatment. Andrologia 2014; 46(6): 680-686. PMID: 23889539.
38. Ghasemzadeh A, Jaafar HZ, Rahmat A. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (Zingiber officinale Roscoe). Molecules 2010; 15(6): 4324-4333. PMID: 20657444.
39. Jitoe A, Masuda T, Tengah I, Suprapta DN, Gara I, Nakatani N. Antioxidant activity of tropical ginger extracts and analysis of the contained curcuminoids. J Agric Food Chem 1992; 40(8): 1337-1340.
40. Chan EWC, Lim YY, Wong L, Lianto FS, Wong S, Lim K, et al. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. Food Chem 2008; 109(3): 477-483.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-10-24]