

## تأثیر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکی زنجبیل بر تغییرات Mir-21، Mir-133، شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی بافت کلیه آسیب دیده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی

امیر دلشاد<sup>۱</sup>، مریم اسلامی<sup>۲</sup>، زهرا احدی<sup>۲</sup>

۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه فیزیولوژی و ایمونولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی دانشگاه قم، قم، ایران. پست الکترونیکی: Ah\_delshad@yahoo.com

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه قم، قم، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۹

### چکیده

**سابقه و هدف:** کلیه در اثر مواد سمی مانند کادمیوم در معرض خطر آسیب به DNA سلولی می‌باشد. از طرفی بیان تنظیم‌کننده‌های جدید (mirRNAs) تأثیر عمده‌ای بر عملکرد سلولی داشته و می‌تواند موجب بهبود وضعیت عملکرد ارگان‌های اصلی مانند کلیه شود. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تغییرات Mir 21 (mirRNA-21)، Mir-133 (mirRNA-133)، شاخص‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی به دنبال مکمل‌گیری زنجبیل در بافت کلیه آسیب دیده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزن  $250 \pm 30$  و سن ۱۲ هفته استفاده گردید که به صورت تصادفی در چهار گروه هشت تایی: گروه کنترل (C)، گروه کلرید کادمیوم (CD)، گروه تیمار شده با عصاره هیدروالکی زنجبیل با دوز ۵۰ (G50) و گروه تیمار شده با عصاره هیدروالکی زنجبیل با دوز ۱۰۰ (G100) قرار گرفتند. برای آسیب کلیوی ابتدا کلرید کادمیوم را به صورت گاوژ (روزانه یک دوز سه میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن رقیق شده با آب مقطر به صورت خوراکی) دریافت کردند، سپس تزریق درون صفاقی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ عصاره زنجبیل انجام گرفت از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه در سطح معنی‌دار  $P \leq 0/05$  جهت بررسی داده‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد در میزان بیان ژن Mir-21 ( $p=0/002$ )، و Mir-133 ( $p=0/001$ ) بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد همچنین در میزان مالون دی‌آلدئید ( $p=0/039$ ) و گلووتاتیون پر اکسیداز ( $p=0/014$ ) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** مصرف عصاره زنجبیل باعث کاهش تنش اکسیداتیوی ناشی از مواد سمی در کلیه حیوانات می‌شود و می‌تواند بر برخی از نشانگرهای زیستی و miRNAs مؤثر بر آسیب کلیه تأثیر گذار باشد.

**واژگان کلیدی:** کادمیوم، بافت کلیه، زنجبیل، Mir-21، Mir-133، GPX، MAD

### پیام‌های اصلی

- کادمیوم منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول‌های آسیب دیده کبدی می‌گردد.
- عصاره زنجبیل از کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش اکسیدان‌ها فارق از میزان دوز مصرفی، جلوگیری می‌کند.
- miRNAs به دنبال مصرف کادمیوم تغییر می‌کنند اما مصرف عصاره زنجبیل بر تغییرات آنها اثرگذار است.

### مقدمه

پیشرونده که با کاهش عملکرد، منجر به اختلال فیلتراسیون و فیبروز کلیه می‌شود (۱). فیبروز مشخصه پاتولوژیکی تقریباً

امروزه بیماری‌های حاد و مزمن کلیوی از جمله معضلات سیستم سلامت است و با شیوع ۱۰ درصدی در جهان، یک آسیب

رادیکال‌های آزاد در بافت قلب و به طور قابل توجهی بر روی فرآیند رونویسی ژن‌هایی که آپوپتوز (مرگ سلولی)، فیبروز و حمله قلبی را القا می‌کنند، اثرگذار است. با این حال، نتایج متناقضی در رابطه با سطوح این شاخص در بیماری‌ها گزارش شده است. محققان معتقدند که استرس اکسیداتیو می‌تواند بیان ژن Mir-21 را افزایش داده و مسیر سیگنالینگ کاردیومیوسیت‌ها در برابر آپوپتوز را فعال کند و با افزایش بیش از حد استرس-اکسیداتیو فیبروبلاستی منجر به فیبروز شوند. علاوه بر این، مسیرهای سیگنالینگ miRNAs مولکولی نشان می‌دهد که Mir-21 یک نشانگر بیولوژیکی عالی برای درمان‌های خاص مراحل اولیه فیبروز و شبیه‌سازی بافت است و عاملی ضروری برای فعال کردن ماکروفاژهایی که در عملکرد بیولوژیکی بازسازی عضله ایسکمیک، اثرگذار است (۹).

از طرفی نشانگر زیستی Mir-133 که به وسیله عوامل رونویسی SRF (Serum Response Factor) ، MEF2 (Myocyte Enhancer factor2) و MyoD (Myogenic differentiation) تنظیم می‌شوند و در آپوپتوز، میوزنز، هایپرتروفی و رشد عضله اسکلتی و قلبی نقش دارد به خوبی مشخص شده است که تولید بیش از حد ROS باعث ایجاد تغییرات در چرخه سلولی، تغییر بیان ژن‌ها و مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌گردد (۱۰) افزایش Mir-133 باعث کاهش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS)، مالون دی‌آلدئید، افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتاتیون پراکسیداز و محافظت از کاردیومیوسیت‌ها در مقابل آپوپتوز می‌شود (۱۱). Mir-133 بیان پروتئین‌های آپوپتوز را سرکوب و بیان BCL-2 را بهبود می‌بخشد. بنابراین، ممکن است بیان ژن Mir-133 سبب مهار کاسپازها و مهار آپوپتوزیس شود (۱۲). سازوکارهای متعددی برای علت سمیت سلولی کادمیوم عنوان شده، اما مطالعات مختلف نشان می‌دهد علت اصلی آن افزایش استرس اکسیداتیو در سلول است. کادمیوم باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها می‌شود که نتیجه آن، پراکسید اسیون لیپیدها و آسیب به DNA است و از طرف دیگر، با تغییر سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول موجب مرگ سلولی می‌شود. استرس اکسیداتیو می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را کاهش و تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش دهد (۱۳). مصرف مکمل‌های گیاهی حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌ها از شناخته شده‌ترین اقدامات جهت کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۴). براساس گزارشات سازمان بهداشت جهانی (WHO) حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان عمدتاً به درمان‌های سنتی متکی هستند و از عصاره‌های گیاهی یا مواد فعال آنها به دلیل خاصیت ضد التهابی، ضد دیابتی و

تمامی بیماری‌های مزمن کلیه با اتیولوژی‌های متنوع است و اصلی‌ترین پیش‌بینی کننده پیشرفت بیماری CKD (Chronic Kidney Disease) در مرحله نارسایی کلیوی می‌باشد که با درک دقیق مکانیسم‌های اساسی فیبروز می‌توان توسعه درمان‌های مؤثر را تسهیل کرد (۲). از طرفی موجودات زنده، بطور مکرر در معرض فلزات سنگین از جمله کادمیوم که نسبت به سایر فلزات به مقدار بیشتری در منابع زمینی وجود دارد، قرار دارند

کادمیوم (CD=Cadmium) به عنوان یک منبع آلودگی و عامل خورنده تثبیت شده در محصولات PVC، رنگدانه‌های صنعتی با ورود به خاک گیاهان و سپس زنجیره غذایی منجر به مواجهه‌های محیطی و تأثیر بر تغییرات پاتولوژیکی در موجودات زنده می‌گردد (۳). یافته‌ها نشان می‌دهد قرار گرفتن در معرض کوتاه مدت CD باعث مهار متیلاسیون DNA می‌شود در حالی که قرار گرفتن در معرض مزمن آن می‌تواند DNA-متیل ترانسفراز ۱ (DNMTs= DNA Methyl Transferase) را فعال کند (۴). شایع‌ترین عضو درگیر در مسمومیت با کادمیوم کلیه‌ها می‌باشند زیرا مسمومیت با فلزات سنگین مکانیسم استرس خارجی را فعال می‌کند و اگر سلول‌ها به صورت حاد در معرض دوزهای بالای کادمیوم قرار گیرند ممکن است وارد آپوپتوز شوند و پتانسیل متاستاتیک را کاهش دهند (۵). همچنین، مواد سمی در غلظت‌های بالا به طور قابل توجهی، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) را در مقایسه با مقادیر آن در شرایط کنترل کاهش می‌دهند که بیان‌گر نقش آن‌ها در القای آسیب به توبولار، گلوومولار و اختلال در باز جذب مواد در بافت کلیوی می‌شود. با توجه به نتایج تحقیقات پیشین، miRNAs فرآیندهای بیولوژیکی متنوعی از جمله مورفوژنز (ریخت زایی) کلیه را تعدیل می‌کنند. اختلال در بیان miRNAs رشد اولیه کلیه را مختل و همچنین در پاتوژنز (بیماری‌زایی) آن نقش دارد (۶). از جمله Mir-21 که دارای ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید در کروموزوم ۱۷ بوده و به عنوان یک نشانگر زیستی اکسایشی می‌تواند بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم کند. با این حال، بیان و فراوانی آن در انواع سلول‌ها متفاوت است. بالاترین سطوح بیان شده در ماکروفاژها، مونوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک بر اساس بررسی‌های اختصاصی سلول می‌باشد و با تأثیر بر سلول کلیوی باعث تغییر شکل مورفولوژیکی کلیه می‌گردد (۷). یافته‌ها نشان می‌دهد Mir-21 به عنوان یک انکومیر (محرک ایجاد و پیشرفت تومور) در سرطان‌های پانکراس، ریه، کلیه افزایش می‌یابد. از طرفی Mir-21 بیوزنز (زیست‌زایی) میتوکندری را سرکوب و بیماری‌های کلیوی و فیبروز را بهبود می‌بخشد (۸). همچنین مشخص شده است Mir-21 و Mir-133 به دنبال افزایش

خوراک دام پارس) به صورت آزاد و بدون محدودیت دسترسی - داشتند. موش‌ها روزانه یک دوز سه میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کلرید کادمیوم (رقیق شده با آب مقطر) را به صورت گاوژ به مدت ۳۵ روز دریافت می‌کردند (۲۲). در این پژوهش نمونه‌ها (موش) به صورت تصادفی ساده به چهار گروه هشت تایی: گروه کنترل (Co) (n=۸)، گروه کلرید کادمیوم (CD) (n=۸)، گروه‌های تیمار شده عصاره هیدروالکلی زنجبیل با دوز ۵۰ میلی‌گرم (G50) و گاوژ کلرید کادمیوم، (n=۸) و گروه های تیمار شده عصاره هیدروالکلی زنجبیل را با دوز ۱۰۰ (G100) و گاوژ کلرید کادمیوم (n=۸) قرار گرفتند در دوره ۶ هفته‌ای پژوهش، گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی زنجبیل (با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم) به مدت ۳۵ روز دریافت کردند (۲۳). ۲۴ ساعت پس از جلسه آخر داروگیری (هفته ششم) موش‌ها توسط دی اتیل اتر بیهوش و بافت کلیه خارج و در نیتروژن مایع منجمد قرار گرفت. بافت‌ها در محلول انتقال بافت منجمد RNAlater®-ICE از قبل سرد شده (۸۰- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و تا زمان جداسازی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۶) بافت کلیه در آزمایشگاه از انجماد خارج و مورد آزمایش قرار گرفتند.

### روش اندازه‌گیری متغیرهای وابسته تحقیق

#### استخراج RNA و سنتز cDNA

نمونه‌های بافت کلیه در ازت منجمد و با استفاده از هاون خرد و پس از لیز کردن ۵ تا ۱۰ ثانیه ورتکس و پنج دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند. ۲۰۰ میکرولیتر کلروفورم به آن اضافه نموده و میکروتیوب‌ها به مدت سه دقیقه در دمای محیط و سپس به مدت پنج دقیقه بر روی یخ با دمای ۴-°C قرار گرفته و سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد و دوباره نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰-°C قرار گرفتند. سپس استخراج RNA طبق دستورالعمل کیت Samzol™ Reagent صورت گرفت. غلظت و خلوص کمی استخراج شده توسط اسپکتروفوتومتر نانودراپ بررسی شد. روش کار به این صورت بود که حدود یک میکرولیتر از نمونه DNA را در دستگاه قرارداده تا غلظت و خلوص RNA بر اساس مقادیر جذب نوری در موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب ng/μl مشخص شود. به منظور بررسی RNA ژنومیک استخراج شده، نمونه حاصل بر روی ژل آگارز ۱٪، الکتروفورز گردید. بعد از انجام استخراج با استفاده از کیت Sambio™ cDNA synthesis سنتز cDNA انجام شد. پس از سانتریفوژ به مدت ۲۰ ثانیه نمونه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و سپس در دمای

خواص آنتی‌اکسیدانی قوی به طور گسترده استفاده می‌کنند (۱۵) زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe) به عنوان عنصر-ی کلیدی و اثرات ضدالتهابی، ضدآپتوزی و آنتی‌اکسیدانی قوی باعث کنترل تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۱۶) و از طریق تأثیرگذاری روی برخی مسیرهای مولکولی از جمله MAPK، STAT3، NF-kB، و کاسپاز-۳ عمل می‌کند و خواص ضد تکثیر و ضد تهاجمی در سرطان‌ها و بیماری دارد (۱۷). یافته‌ها نشان می‌دهند که زنجبیل در ناحیه انتهای مجاری جمع‌کننده ادرار جذب اوره را کاهش می‌دهد و نیز با مهار بیان بیش از حد سایتوکین‌های التهابی حفاظت سلولی را در کلیه‌ها فراهم می‌کند (۱۸). خواص آنتی‌اکسیدانی زنجبیل روی سلول‌های سرطانی نیز بررسی گردید و نشان داده شد که عصاره زنجبیل و داروی تاکسول به طور مشابه بر روی این سلول‌ها دارای اثرهای سایتوتوکسیک قابل توجهی دارند (۱۹) از طرفی سمیت ناشی از گلوکز موجب تخریب و آسیب کلیوی می‌شود که زنجبیل در بهبود بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند دیابت و همچنین بیماری‌های سیستم ایمنی نقش دارد (۲۰) یافته‌ها نشان داد استفاده از زنجبیل در موش‌های NAFLD (کبد چرب) باعث کاهش قابل توجهی در غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) می‌گردد (۲۱). از این رو با توجه به نقش مکمل‌های دارویی به عنوان یک عامل مهم و واسطه‌گر در تنظیم بیان ژن‌ها که منجر به پیشگیری و یا کنترل بیماری‌های بافت‌های اصلی بدن می‌باشند، این مطالعه با هدف بررسی تغییرات GPX (Glutathione peroxidase)، MAD (Malondialdehyde)، Mir-21 و Mir-133 به همراه مکمل‌گیری عصاره هیدروالکلی زنجبیل در بافت کلیه آسیب دیده با کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر انجام شد.

### • مواد و روش‌ها

#### طراحی مطالعه

پژوهش حاضر از نوع تجربی و طبق دستورالعمل‌های بین‌المللی انجام و کلیه اصول اخلاقی پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه قم با شماره IR.QOM.REC.1401.006 مورد تأیید قرار گرفت. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با دامنه وزنی  $30 \pm 25.0$  گرم و سن ۱۲ هفته که از انستیتو پاستور تهران تهیه شده بود، به عنوان نمونه در نظر گرفته شد. موش‌ها در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $45 \pm 5$  درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از جنس پلی‌کربنات نگهداری و در تمام ساعات شبانه روز به آب و غذای ویژه موش (شرکت

حالت دو رشته ای در می آیند. تغییرات فلورسنت نمونه‌ها در طی این مرحله در منحنی ذوب نشان داده شد.

### طراحی پرایمر

ابتدا توالی miRNAهای مربوط به ژن‌های Mir-21 و Mir-133 با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناژن ساخته شد. در این تحقیق از ژن u6 به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید.

جهت تحلیل داده‌ها از میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها و همسان بودن واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لوین ارزیابی شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس یکراهه (ANOVA) برای مقایسه تغییرات بین گروهی و به دنبال آن برای مقایسه جهت و محل دقیق این تفاوت از آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی داری ( $P \geq 0/05$ ) استفاده گردید کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 24 انجام گرفت.

جدول ۱. لیست پرایمر طراحی شده

Genes	Primer sequence
Mir 21	'- CCTTGTCGGGTAGCTTATCA -3'For: 5
	'- CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT -3'Rev: 5
Mir-133	'- GTCTCCAGGGCAACCGT -3'For: 5
	'- CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT -3'Rev: 5
U6	'- CTTCCGAGTCAGAGTTTC -3'For: 5
	'- GTATGTAGATGTGGGTGGC -3'Rev: 5

Mir-21 ( $p=0/12$ ) و Mir-133 ( $p=0/65$ ) بین گروه زنجبیل ۵۰ با زنجبیل ۱۰۰ این تفاوت معنی دار نبود (جدول ۲ و ۳). در میزان بیان MAD بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی داری وجود داشت ( $F=2/20$ ,  $p=0/39$ ) نتایج آزمون بونفرونی نشان داد که بین گروه کادمیوم با کنترل ( $p=0/02$ )، و زنجبیل ۱۰۰ ( $p=0/04$ ) در بیان MAD دریافت کلیه تفاوت معنی داری دیده می‌شود. همچنین بین گروه زنجبیل ۵۰ با زنجبیل ۱۰۰ این تفاوت دیده می‌شود ( $p=0/49$ ). در میزان GPX بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی داری وجود دارد ( $F=6/25$ ,  $p=0/14$ ) از طرفی نتایج آزمون تعقیبی نشان می‌دهد که بین گروه کادمیوم با کنترل ( $p=0/02$ ) و زنجبیل-۱۰۰ ( $p=0/01$ ) در بیان GPX این تفاوت معنی داری می‌باشد همچنین بین گروه زنجبیل ۵۰ با زنجبیل ۱۰۰ تفاوت معنی داری دیده شد ( $p=0/49$ ).

۴۷ درجه به مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۸۵ درجه به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و سپس نمونه به منفی ۷۰ درجه انتقال داده شدند تا برای بررسی بیان ژن‌ها استفاده شوند.

### انجام تکنیک Real-Time PCR

برای آنالیز تفسیر میزان بیان ژن مورد نظر از ژن کنترل داخلی یا House Keeping Gene استفاده شد. در این روش تعداد مهم نبوده و فقط کاهش یا افزایش بیان ژن مهم است که این افزایش و یا کاهش را با یک ژن استاندارد یا مرجع مقایسه گردد. پردازش اطلاعات در Real-Time PCR براساس نمودار استاندارد و ارزیابی بازده PCR انجام گرفت. پس از اتمام تست و بدست آوردن CT های ژن رفرنس و ارزیابی میزان بیان ژن توسط آزمون Real-Time PCR از روش کمیت سنجی و متد  $\Delta\Delta CT$  استفاده شد. دستگاه دما را با فواصل معین در یک بازه‌ی دمایی بین ۹۵-۶۵ درجه به تدریج و با سرعت  $0/3^{\circ}C/s$  افزایش می‌دهیم این رنگ به تمام DNA های دو رشته ای متصل می‌شود. پس از اتصال نور فلورسنت توسط detector دستگاه آشکار می‌شود. فلورسنت در طی واکنش PCR با افزایش تعداد کپی cDNA افزایش می‌ابد. پس از آنکه PCR به پایان رسید محصولات با افزایش دما ذوب شده و با کاهش دما به

### • یافته‌ها

نتایج تحلیل آماری نشان داد در میزان بیان ژن Mir-21 ( $F=3/77$ ,  $p=0/01$ ) و Mir-133 ( $F=4/53$ ,  $p=0/002$ ) بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی داری وجود دارد و بر اساس نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در بیان ژن Mir-21 بین گروه کادمیوم با کنترل ( $p=0/02$ )، زنجبیل ۵۰ ( $p=0/005$ ) و زنجبیل ۱۰۰ ( $p=0/002$ ) تفاوت معنی داری دیده می‌شود این تفاوت بین گروه کنترل با زنجبیل ۱۰۰ ( $p=0/046$ ) در بیان ژن Mir-21 وجود داشت. همچنین نتایج آزمون بونفرونی در بیان ژن Mir-133 نشان می‌دهد که بین گروه کادمیوم با کنترل ( $p=0/001$ )، زنجبیل ۵۰ ( $p=0/001$ ) و زنجبیل ۱۰۰ ( $p=0/001$ ) تفاوت معنی داری وجود دارد اما در هر دو متغییر

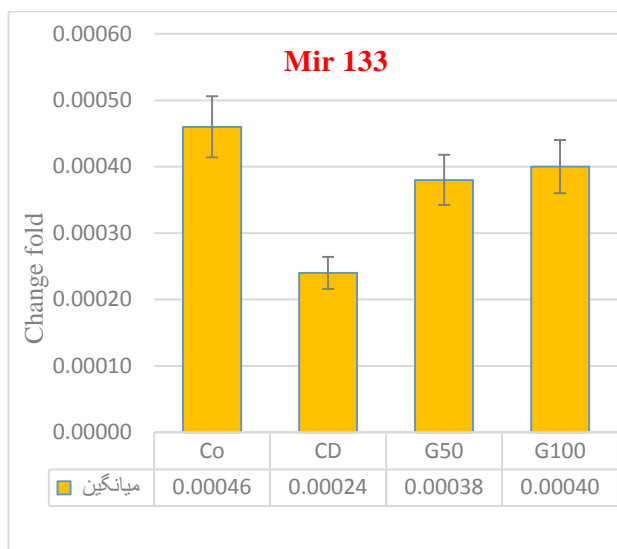
**جدول ۲.** مقایسه میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای Mir-21، Mir-133 و شاخص‌های اکسیدانی و انتی اکسیدانی پس از یک دوره مصرف مکمل زنجبیل

متغیر	گروه‌ها	میانگین و انحراف استاندارد	F	سطح معنی داری P
Mir21	کنترل	$0.0028 \pm 0.0016$	۴/۵۳	۰/۰۰۱*
	کادمیوم	$0.0018 \pm 0.0012$		
	زنجبیل ۵۰	$0.0025 \pm 0.0022$		
	زنجبیل ۱۰۰	$0.0032 \pm 0.0026$		
Mir133	کنترل	$0.0046 \pm 0.0020$	۳/۷۷	۰/۰۰۱*
	کادمیوم	$0.0024 \pm 0.0006$		
	زنجبیل ۵۰	$0.0038 \pm 0.0002$		
	زنجبیل ۱۰۰	$0.0040 \pm 0.0011$		
MDA (Nmol / ml)	کنترل	$0.052 \pm 0.11$	۲/۲۰	۰/۰۳۹*
	کادمیوم	$0.069 \pm 0.34$		
	زنجبیل ۵۰	$0.048 \pm 0.16$		
GPX (Nmol / l)	کنترل	$0.85 \pm 0.11$	۶/۲۵	۰/۰۱۴*
	کادمیوم	$0.54 \pm 0.34$		
	زنجبیل ۵۰	$0.66 \pm 0.16$		
	زنجبیل ۱۰۰	$0.82 \pm 0.02$		

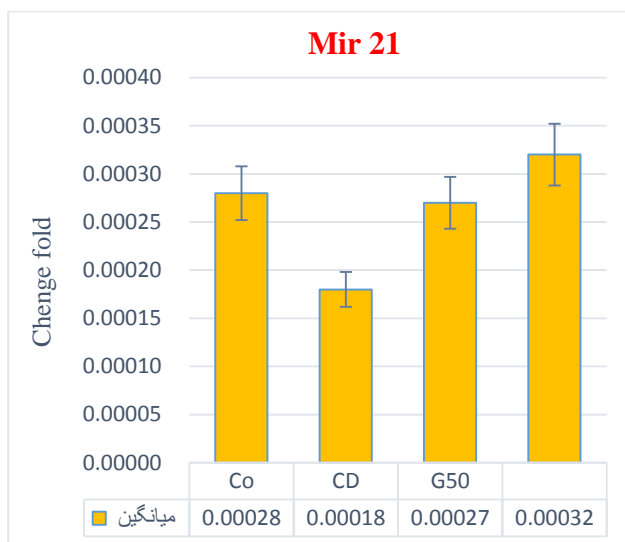
**جدول ۳.** نتایج از مون تعقیبی بونفرونی متغیرهای تحقیق پس از یک دوره مصرف مکمل زنجبیل

گروه	Mir21	Mir133	MDA	GPX
کادمیوم	۰/۰۲*	۰/۰۰۱*	۰/۰۲*	۰/۰۱*
کنترل	۰/۰۵۳	۰/۹۸	۰/۰۹	۰/۰۲۱*
زنجبیل ۱۰۰	۰/۰۴۶*	۰/۲۸	۰/۰۲۱*	۰/۰۰۴*
زنجبیل ۵۰	۰/۰۵	۰/۰۰۶	۰/۰۵*	۰/۰۰۲*
کادمیوم	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۱*	۰/۰۴*	۰/۰۰۱*
زنجبیل ۵۰	۰/۱۲	۰/۶۵	۰/۰۴۹*	۰/۰۳*

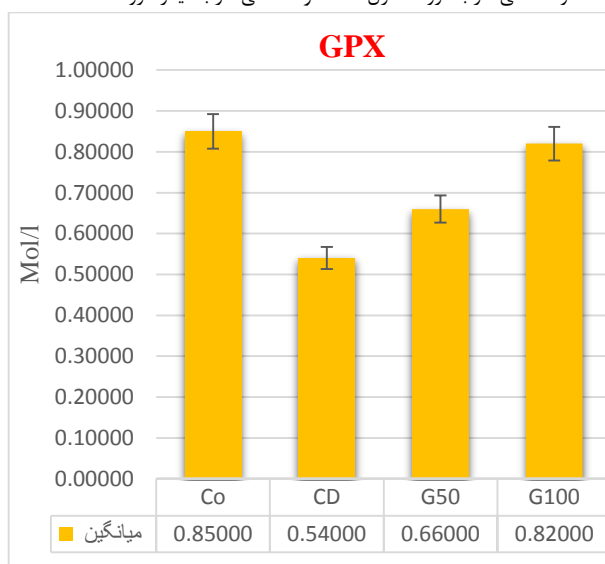
\*: تفاوت معنی دار بین گروه‌های جفتی



نمودار ۲. مقایسه میانگین بیان ژن Mir-133 در گروه‌های تحقیق  
\* : تفاوت معنی دار با گروه کنترل ،  $\theta$ : تفاوت معنی دار با دیگر گروه‌ها



نمودار ۱. مقایسه میانگین بیان ژن Mir-21 در گروه‌های تحقیق  
\* : تفاوت معنی دار با گروه کنترل ،  $\theta$ : تفاوت معنی دار با دیگر گروه‌ها



نمودار ۴. مقایسه میانگین GPX در گروه‌های تحقیق  
\* : تفاوت معنی دار با گروه کنترل ،  $\theta$ : تفاوت معنی دار با دیگر گروه‌ها



نمودار ۳. مقایسه میانگین MAD در گروه‌های تحقیق  
\* : تفاوت معنی دار با گروه کنترل ،  $\theta$ : تفاوت معنی دار با دیگر گروه‌ها

## • بحث

در مطالعه حاضر تغییرات Mir-133، Mir-21، GPX، MDA در دنبال مکمل‌گیری عصاره هیدروالکی زنجبیل در بافت کلیه آسیب دیده باکلریدکادمیوم درموش های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد کادمیوم منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن Mir-133 و Mir-21 نسبت به گروه کنترل می‌شود اما زنجبیل از کاهش آن جلوگیری و حتی می‌تواند منجر به افزایش (ترمیمی) بیان این ژن‌ها در بافت کلیه در معرض مسمومیت با کادمیوم نسبت به گروه‌های دیگر شود. همچنین عصاره هیدروالکی زنجبیل باعث کاهش بیان MAD و افزایش بیان GPX نسبت به گروه کادمیوم در موش‌های صحرایی شده است. مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات فعال از لحاظ زیستی با توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و فعالیت

آنتی‌اکسیدانی، به وفور در گیاهان دارویی یافت می‌شوند (۲۴). نتایج برخی از تحقیقات حاکی از نقش آنتی‌اکسیدانی زنجبیل بر پاسخ‌های استرسی ناشی از بنزو آلفا پیرین در موش‌های ویستار داشته است (۲۵) ترکیبات فعال این گیاه مانند Gingerol و Shogaol به‌خوبی قادر به مهار تولید پروستاگلاندین‌های التهابی، مهارکننده‌های اکسید نیتریک و حتی اینترلوکین‌های دخیل در التهاب هستند. نتایج یک مطالعه نشان داد در موش‌های صحرایی که مبتلا به آسیب‌های کلیوی هستند عصاره ایتیل استاتی زنجبیل احتمالاً با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی دارای خواص محافظتی قابل توجهی در بافت کلیوی در مقابل دوز بالای پاراستامول است (۲۶). ترکیبات فعال زنجبیل اثر بسزایی در محافظت نوروپاتیک از طریق تسریع در مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز و تنظیم مقادیر

قرار دادند. نتایج نشان داد که بیان *Mir-21* به طور قابل توجهی افزایش یافته است و در هر گروه *miR-21-5p*، *miR-146b-5p* یا *miR-149-3p* بیان فراوان تر و بیان قابل توجهی دو برابر یا بیشتر در گروه درمان کادمیوم در مقابل گروه کنترل نشان دادند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کادمیوم به طور قابل توجهی بیان *miRNAs* را در قشر کلیه تغییر می‌دهد و این احتمال را افزایش می‌دهد که بیان *miRNAs* نامنظم ممکن است در پاتو فیزیولوژی آسیب کلیه ناشی از کادمیوم تأثیر داشته باشد. اختلال در بیان *miRNAs* رشد اولیه کلیه را مختل و همچنین در پاتوژنز کلیه نقش دارد (۶). *Feng* و همکاران نتیجه گرفتند که *Mir-21* از طریق افزایش بیان پروتئین *Mammary Serine MASPIN* (Protease Inhibitor) موجب کاهش آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و عامل کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و افزایش توده سلول‌های سرطانی می‌شود (۳۲). همچنین *Wang* و همکاران نشان دادند که *Mir-21* دارای پروتئین‌های هدف است که توسط آنزیم‌های اکسایشی مسیرهای متاستاتیک را فعال می‌کنند و منجر به مهاجرت سلول‌های سرطانی به سایر بافت‌های سالم و شروع متاستاز می‌شود (۳۳).

همچنین مشخص شده است *Mir-21* و *Mir-133* به دنبال افزایش رادیکال‌های آزاد به طور قابل توجهی بر روی فرآیند رونویسی ژن‌هایی که آپوپتوز، فیبروز را القا می‌کنند، اثرگذار است. با این حال، نتایج متناقضی در رابطه با سطوح این شاخص در بیماری‌ها گزارش شده است. محققان معتقدند افزایش بیش از حد استرس اکسیداتیو فیبروبلاست‌ها را فعال می‌کند که منجر به فیبروز می‌شوند (۹). بیان نابجای *Mir-21* می‌تواند از طریق تنظیم ژن‌های هدف و تعدیل مسیر پایین دست آن‌ها، قابلیت تهاجمی تومور را افزایش داده و به متاستاز آن منجر شود. مطابق نتایج منتشره از یک پژوهش متاآنالیز در سال ۲۰۱۴، در بیش از ۳۶ مطالعه، از *Mir-21* به عنوان نشانگر زیستی سرطان در بدخیمی‌های مختلف استفاده شده است که این موضوع تأییدکننده پتانسیل بالای *miRNA* به عنوان ابزاری برای تشخیص زودرس انواع سرطان و توجیه‌کننده نتایج پژوهش حاضر است (۳۳). به خوبی مشخص شده است که تولید بیش از حد ROS باعث ایجاد تغییرات در چرخه سلولی، تغییر بیان ژن‌ها و مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌شود (۱۰). از طرفی نشانگر زیستی *Mir-133* در آپوپتوزیس و میوزنز نقش دارد و افزایش آن نیز باعث کاهش ROS ها و محافظت از کاردیو میوسیت‌ها در مقابل آپوپتوز می‌شود (۱۱) مسیر میتوکندریای مرگ سلولی به وسیله افزایش پروتئین-*BCL-2* و کاهش فعالیت کاسپاز ۳ تنظیم می‌شود (۳۴). *Mir-133* بیان پروتئین‌های آپوپتوز را سرکوب و بیان *BCL-2* را بهبود می‌بخشد. *BCL-2* به عنوان یک پروتئین ضد آپوپتوزی،

MDA به سطوح نرمال در موش‌های دیابتی داشته است و می‌تواند با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به طور مؤثری با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مقابله کند و توسط پلی فنل‌ها و فلاونوئیدهای موجود در آن از تخلیه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کلیه جلوگیری و از آن محافظت نماید (۲۷). همسو با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر گزارش شده است زنجبیل به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی شاخص‌های کسیداتیو را بهبود می‌بخشد و موجب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، آسیب اکسیداتیو DNA و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبدی می‌شود (۲۸). یافته‌های تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که فعال سازی TLR (Toll-like receptor) یکی از اولین مکانیسم‌های دفاعی در برابر پاتوژن‌های مهاجم و آسیب بافتی است، اما سیگنال دهی نامنظم TLR می‌تواند هموستاز ایمنی را با سیتوکین‌های پیش التهابی و ترشح کموکاین‌ها مختل کند. سیگنال دهی توسط TLRs نه تنها باعث القای پروتئین‌های پیش التهابی پایین دست می‌شود، بلکه فعال شدن *miRNAs* متعددی از جمله *miR-155*، *miR-146a* و *miR-21* را تحریک می‌کند (۲۹) فعالیت‌های مهار زنجبیل بر التهاب، ناشی از اثر LPS با گیرنده TLR4 به طور مستقیم آغاز می‌شود و به عنوان یک رویداد تنظیمی اولیه به پاسخ التهابی بعدی می‌باشد. *6-Shogaol*، هوموایمیریزاسیون و بیان TLR4 را مهار می‌کنند مطالعه *Zhou* و همکاران نشان داد که زنجبیل اهداف مشابهی در مسیر TLR4-TRAF6-MAPK دارد که فعالیت ضد التهابی گسترده‌ای را از طریق مسیرهای مکانیکی مختلف نشان می‌دهند (۲۹). با این حال، ترکیبات زنجبیل بر روی هر دو پروتئین بالا دست و پایین دست تأثیر مهاری قابل توجهی دارد و به نظر می‌رسد اثر ترکیبی پروتئین‌های بالا دستی در اهداف پروتئینی افزایش می‌یابد. *TLR4*، *TRAF6* و *p-c-JUN* در مسیر TLR4-TRAF6-MAPK رفتاری چندگانه به عنوان ترکیبات زیست فعال زنجبیل مانند *6-Gingerol* و *6-Shogaol* نشان می‌دهند که فعالیت ضد التهابی گسترده‌ای را از طریق مسیرهای مکانیکی مختلف نشان دهند (۳۰). علاوه بر این، *6-Gingerol* مسیرهای سیگنالینگ MAPK را سرکوب و پیروپتوز ماکروفازها را با کاهش تولید *HMGB1*، و کاسپاز-۱ در پاسخ به درمان با لیپولی ساکاریدها (LPS) و ATP کاهش می‌دهد. *6-Gingerol* از تولید پروتئین‌های مرتبط با پیروپتوز مانند *IL-1* و کاسپاز-۱ جلوگیری و با تحریک مسیر *Nrf2* سپسیس (التهاب ناشی از عفونت) را کاهش می‌دهد (۳۱).

از طرفی قرار گرفتن در معرض کوتاه مدت CD باعث مهار میتواسیون DNA می‌شود (۵). برخی از تحقیقات تأثیر مصرف کادمیوم بر آسیب‌های کلیوی و بیان *miRNAs* تولید شده در کلیه موش‌های صحرایی نر القا شده با کادمیوم را مورد بررسی

و کاهش قابل توجه غلظت پلاسمایی کراتینین، اوره و سیستاتین C ناشی از مصرف الکل می‌شود (۳۷) و همچنین به عنوان یکی از فلاونوئیدهای موجود در زنجبیل به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی، نقش ایمنی سلولی را در برابر استرس اکسیداتیو دارد، به نظر می‌رسد این ترکیب نه تنها به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی خود از سلول‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند، بلکه باعث مرگ برنامه ریزی شده سلولی از طریق فعالیت اکسیداتیو می‌شود و از تشکیل تومور جلوگیری می‌کند.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد مسمومیت با کادمیوم از طریق افزایش MAD می‌تواند باعث افزایش پراکسید لیپیدی شود. از سوی دیگر میزان GPX ضد اکسایشی با مصرف عصاره زنجبیل افزایش یافته است. همچنین نتایج نشان می‌دهد کادمیوم منجر به کاهش بیان ژن Mir-21 و Mir-133 شده اما زنجبیل از کاهش آن جلوگیری و حتی می‌تواند منجر به افزایش (ترمیمی) بیان ژن Mir-21، Mir-133 و GPX در موش‌های صحرایی در معرض مسمومیت با کادمیوم نسبت به گروه‌های دیگر شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود با توجه به نتایج تحقیق مصرف عصاره زنجبیل برای ترمیم بافت کلیه در معرض مسمومیت کادمیوم در نظر گرفته شود زیرا باعث کاهش تنش اکسیداتیوی ناشی از مواد سمی در کلیه حیوانات شده بر برخی ار نشانگرهای زیستی و miRNAs مؤثر بر آسیب کلیه تأثیرگذار باشد. البته برای اثبات کامل این یافته‌ها و مکانیسم اثر آن نیاز به مطالعه بیشتری است.

#### References

1. Kaeidi A, Taghipour Z, Allahtavakoli M, Fatemi I, Hakimzadeh E, Hassanshahi J. Ameliorating effect of troxerutin in unilateral ureteral obstruction induced renal oxidative stress, inflammation, and apoptosis in male rats. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharm* 2020; 393(5): 879-88.
2. Rayego-Mateos, Sandra, et al. "Interplay between extracellular matrix components and cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis." *Clinical Science* 135.16 (2021): 1999-2029
3. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Nickel: Human health and environmental toxicology. *International journal of environmental research and public health*. 2020 Feb;17(3):679.
4. Suzuki M, Takeda S, Teraoka-Nishitani N, Yamagata A, Tanaka T, Sasaki M, et al. Cadmium-induced malignant transformation of rat liver cells: Potential key role and regulatory mechanism of altered apolipoprotein E expression in enhanced invasiveness. *Toxicology* 2017, 382, 16–23. 134.
5. Faran SA, Asghar S, Khalid SH, Khan IU, Asif M, Khalid I, Farooq Gohar U, Hussain T. Hepatoprotective and renoprotective properties of lovastatin-loaded ginger and

سیگنالینگ آپوپتوز را با جلوگیری از انتشار سیتوکروم C و مهار فعال سازی کاسپاز را تنظیم می‌کند (۱۱). بنابراین، ممکن است بیان ژن Mir-133 سبب مهار کاسپازها (گروهی از آنزیم‌ها خانواده پروتئازها) و مهار آپوپتوزیس (مرگ سلولی) شود (۱۰) . با این حال، این متغیرها می‌توانند ردوکس سلولی را تنظیم کنند و از طریق مسیرهای مشابه، مانند افزایش لیپولیز، پروفایل چربی و بیوزن میتوکندری را بهبود بخشند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد کادمیوم منجر به کاهش بیان ژن Mir-21 می‌شود اما در گروه زنجبیل ۱۰۰ بیان ژن Mir-21 تفاوت دیده می‌شود. مکانیسم‌های متعددی برای علت سمیت سلولی کادمیوم عنوان شده است، اما تحقیقات نشان دادند که علت اصلی آسیب ناشی از کادمیوم، استرس اکسیداتیو در سلول‌ها می‌باشد. کادمیوم باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌ها می‌گردد که نتیجه‌ی این امر، پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها و آسیب به DNA است و از طرف دیگر با تغییر سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول، منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود (۳۵). در مطالعات مختلف مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق تنظیم تولید ROS و بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز می‌تواند سلول‌های بنیادی را تقویت کند. از این جهت عصاره زنجبیل با داشتن اجزای آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود می‌تواند از طریق اثر بر مکانیزم‌های ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسروتونینی باعث کاهش فاکتورهای التهابی نظیر سیتوکین‌ها و کموکین‌های التهابی، کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و در کاهش ابتلا، کاهش عوارض و نیز درمان بیماری‌های التهابی مفید باشد (۳۶). از طرفی مصرف عصاره هیدروالکی زنجبیل باعث بهبود اختلال عملکرد کلیوی

- garlic oil nanoemulsomes: insights into serum biological parameters. *Medicina*. 2019 Sep 9;55(9):579.
6. Fay MJ, Alt LA, Ryba D, Salamah R, Peach R, Papaaliou A, et al. Cadmium nephrotoxicity is associated with altered microRNA expression in the rat renal cortex. *Toxics*. 2018; 6(1): 16. DOI: 10.3390/toxics6010016
7. de Rie D, Abugessaisa I, Alam T, Arner E, Arner P, Ashoor H, Astrom G, Babina M, Bertin N, Burroughs AM, et al. An integrated expression atlas of miRNAs and their promoters in human and mouse. *Nature biotechnology*. 2017;35(9):872–8.
8. Gomez IG, Nakagawa N, Duffield JS. MicroRNAs as novel therapeutic targets to treat kidney injury and fibrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2016 May 1;310 (10) :F 931-44.
9. Surina S, Fontanella RA, Scisciola L, Marfella R, Paolisso G, Barbieri M. miR-21 in human cardiomyopathies. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:767064
10. Fathi E, Farahzadi R, Rahbarghazi R, Kafil HS, Yolmeh R. Rat adipose-derived mesenchymal stem cells aging reduction by zinc sulfate under extremely low frequency electromagnetic field exposure is associated with increased telomerase reverse transcriptase gene expression. In *Veterinary research forum Faculty of*

- Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. 2017. 8.(2) p. 89. [In Persian]
11. Mitchelson KR, Qin W-Y. Roles of the canonical myomiRs miR-1-133 and-206 in cell development and disease. *World journal of biological chemistry*. 2015;6(3):162.
  12. Subramanian S, Steer CJ. MicroRNAs as gatekeepers of apoptosis. *Journal of cellular physiology*. 2010;223(2):289-98
  13. Delshad A, Salimi F, Heydariyeh N, Ababzadeh S. Effect of Endurance Exercise on Lipid Peroxidation Level and Total Antioxidant Capacity of Testicular Tissue in Adult Male Rats With Cadmium-induced Infertility. *Qom Univ Med Sci J* 2022; 16 (4) :330-341. [In Persian]
  14. Chekachak S, MolanouriShamsi M, Soudi S. Investigating The Effect of Aerobic Interval Training with Selenium Nanoparticles on the Content of IL-6, TNF- $\alpha$  and IL-4 cytokines in spleen tissue of Mice with Breast Cancer. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2018;8(1):608-17. [In Persian]
  15. Abdolmaleki A, Akram M, Saeed MM, Asadi A, Kajkolah M. Herbal medicine as neuroprotective potential agent in human and animal models: a historical overview. *Journal of Pharmaceutical Care*. 2020: 75-82. [In Persian]
  16. Ma R-H, Ni Z-J, Zhu Y-Y, Thakur K, Zhang F, Zhang Y-Y, et al. A recent update on the multifaceted health benefits associated with ginger and its bioactive components. *Food & Function*. 2021; 12(2): 519-42.
  17. Bahri, F., Mansoori, M., Vafaei, S., Fooladi, S., Mir, Y., Mehrabani, M., Hojabri, Y., Nematollahi, M.H. and Iravani, S., 2024. A Comprehensive Review on Ginger-Derived Extracellular Nanoparticles: Feasible Therapeutic Nano-Agents Against Diseases. *Materials Advances* 2024: Mater. Adv., 2024,1846-1867
  18. Badrinathan S, Shiju MT, Arya R, Rajesh GN, Viswanathan P. Citrus bioflavonoids ameliorate hyperoxaluria induced renal injury and calcium oxalate crystal deposition in Wistar rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2015 Sep;5(3):419.
  19. Farahani H, Hamta A, Zolvanari A. Laboratory evaluation of cytotoxic effects of Zingiber officinale on breast cancer using some methods (Chemofx assay) and comparing the pattern of x-ray diffraction of healthy and cancerous DNA. *Research, Technology-Arak University-Faculty of Basic Sciences*: <http://ganj. irandoc. ac. ir/articles/658924>. 2013. [In Persian]
  20. Hazman O, Ovali S. Investigation of the antiinflammatory effects of safranal on high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2diabetes rat model. *Inflammation*. 2015;38(3):1012-9.
  21. El-Hameed A, Noura E, Heshmat HA. Effect of ginger aqueous extract on some reproductive and antioxidant parameters in male rabbits. *Alexandria J Vet Sci*. 2019;60(2):38-45. <https://doi. org/10.5455/ajvs.24544>
  22. Ghahreman E, EIDI A, Mortazavi P, Oryan S. Protective effect of purslane (*Portulaca Oleracea*) on cadmium chloride-induced testicular damage in adult male Wistar rats. *J comparatave pathobiology*, 2018; 16(3): 2883-92. [In Persian]
  23. Zar A, Hoseini A, Ahmadi F, Rezaei M. Effects of Ginger together with Swimming Training on Blood Fat Profiles in Adult Diabetic Rats with Streptozotocin. *Iranian J Nutr Sci Food Technol* 2016; 11 (2) :65-74 . [In Persian]
  24. Dehghani S, Rouhi L, Ziya Jahromi N, Dehghani R, Khashei Varmamkhasti K. The Antioxidant Effects of Ginger Extract on Bioavailability and Oxidative Stress-induced Apoptosis in Mesenchymal Stem Cells of Human Adipose Tissue and Rat Bone Marrow. *J Arak Uni Med Sci* 2021; 24 (2) :216-229. [In Persian]
  25. Ajayi BO, Adedara IA, Farombi EO. 6-Gingerol abates benzo [a] pyrene-induced colonic injury via suppression of oxido-inflammatory stress responses in BALB/c mice. *Chemico-biological interactions*. 2019 Jul 1;307:1-7.
  26. Abdul Hamid Z, Budin SB, Wen Jie N, Hamid A, Husain K, Mohamed J. Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2012 Mar;13:176-85.
  27. Maralla S. Effect of ginger extract consumption on renal function during ethanol withdrawal induced-stress. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 2013 Nov;2(11):6412-8
  28. Bibi Fatemeh Fatemi, Gholamhassan Vaezi, Shahram Sharfi, Rahela Rahbarian .Antioxidant effects of 6-gingerol on serum levels of liver enzymes and oxidative stress indices induced by gold nanoparticles in the liver tissue of rats . *Animal Biology Quarterly*, 14(2) 2021, 199-210. [In Persian]
  29. Zhou X, Münch G, Wohlmuth H, Afzal S, Kao MH, Al-Khazaleh A, Low M, Leach D, Li CG. Synergistic inhibition of pro-inflammatory pathways by ginger and turmeric extracts in RAW 264.7 cells. *Frontiers in Pharmacology*. 2022 May 19;13:818166
  30. Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol,[8]-gingerol,[10]-gingerol and [6]-shogaol. *J Ethnopharmacol*. 2010; 127(2):515-20.
  31. Menon V, Elgharib M, El-awady R, Saleh E. Ginger: From serving table to salient therapy. *Food Bioscience*. 2021 Jun 1;41:100934
  32. Feng YH, Tsao CJ. Emerging role of microRNA-21 in cancer. *Biomedical reports*. 2016; 5(4):395-402. [DOI:10.3892/br.2016.747]
  33. Wang W, Luo YP. MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2015; 16(1):18-31. [DOI :10. 1631 /jzus .B1400184] .
  34. Skommer J, Rana I, Marques FZ, Zhu W, Du Z, Charchar FJ. Small molecules, big effects: the role of microRNAs in regulation of cardiomyocyte death. *Cell death & disease*. 2014 Jul;5(7):e1325
  35. Kheradmand, Arash. Improvement of sperm evaluation indices following ghrelin treatment in cadmium-induced damage in rat testis. *Journal of Isfahan Medical School*, 2012; 31(265): 2053-2062. [In Persian]
  36. Fereshteh Z, Schmidt SA, Al-Dossary AA, Accerbi M, Arighi C, Cowart J, Song JL, Green PJ, Choi K, Yoo S, Martin-DeLeon PA. Murine Oviductosomes (OVS) microRNA profiling during the estrous cycle: Delivery of OVS-borne microRNAs to sperm where miR-34c-5p localizes at the centrosome. *Sci Rep*. 2018 Oct 31;8(1):16094. doi: 10.1038/s41598-018-34409-4
  37. shirpour A, Rezaei F, Abolazadeh Fard A, Tagizadeh Afshari A L. Ginger Hydro-Alcolic Extract Ameliorates The Alcholi-Induced Kidney Dysfunction In Rat. *Nursing and Midwifery Journal* 2015; 13 (3) :246-252. [In Persian]

## Effects of Various Doses of Hydroalcoholic Extract of Ginger on Changes of Mir-133, Mir-21 and Oxidative and Antioxidant Stress Indices of Rat Kidney Tissues Damaged Using Cadmium Chloride

Delshad A<sup>1\*</sup>, Eslami M<sup>2</sup>, Ahady Z<sup>2</sup>

1- \*Corresponding author, Assistant Professor, Department of Sports Physiology and Immunology, Faculty of Literature and Human Sciences, University of Qom, Qom, Iran. Email; Ah\_delshad@yahoo.com

2- Master's degree in sports physiology, University of Qom, Qom, Iran

Received 30 Jul, 2024

Accepted 9 Nov, 2024

**Background and Objectives:** The kidney is at risk of damages to cellular DNA due to toxic substances such as cadmium; expression of novel regulators (mirRNAs) includes a major effect on cellular function and can improve functions of major organs such as the kidney. Therefore, the aim of this study was to investigate changes of 21-Mir, 133-Mir and oxidant and antioxidant indices following ginger supplementation in kidney tissue of male rats damaged using cadmium chloride.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 32 adult male Westar rats with a weight range of  $250 \pm 30$  and age of 12 w were used. These were randomly divided into four groups of eight, including control group (C), cadmium chloride group (CD), group treated with hydroalcoholic ginger extract with a dose of 50 (G50) and group treated with hydroalcoholic ginger extract with a dose of 100 (G100). For kidney damages, rats first received cadmium chloride via gavage (one oral dose of three mg/kg of BW diluted with distilled water daily); then, intraperitoneal injection with 50 and 100 doses of ginger extract was carried out from the analysis of variance test. One way analysis of variance at a significance level of  $p \geq 0.05$  was used to check the data.

**Results:** Results showed significant differences in the expression level of Mir-21 ( $p = 0.002$ ) and Mir-133 ( $p = 0.001$ ) between the study groups. In levels of MAD ( $p = 0.039$ ) and GPX ( $p = 0.14$ ), significant differences were seen between the groups.

**Conclusion:** Consumption of ginger extract decreases oxidative stresses in kidneys of animals, which are caused by toxic substances and can affect biomarkers and miRNAs that are effective in kidney damages.

**Keywords:** Cadmium, Kidney tissue, Ginger, Mir-21, Mir-133, MAD, GPX