ORIGINAL ARTICLE

# *Effects of Naringin in Combination with Cisplatin on Cell Viability and Oxidative Stress Markers in HeLa Cervical Cancer Cells*

Ali Ziar[1]
Hasti Mohammadi[2]
Mohammad Shokrzadeh[3]

[1]. PhD Student in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2]. Pharmacy Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3]. Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 14, 2026; Accepted October 7, 2026)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Cancer comprises a group of diseases characterized by the uncontrolled growth and proliferation of abnormal cells, which disrupt the normal structure and function of tissues and organs. Chemotherapy is a mainstay of cancer treatment; however, the development of drug resistance and the adverse effects associated with chemotherapy have prompted the search for effective, less toxic compounds. Naringin, a plant-derived flavonoid, exhibits a broad range of biological activities, including antioxidant and anticancer effects. This study aimed to investigate the effects of naringin, alone and in combination with cisplatin, on cell viability and oxidative stress markers in HeLa cervical cancer cells.

**Materials and methods:** HeLa cells were cultured and treated for 24 h with naringin at concentrations of 100, 200, and 500 μM, either alone or in combination with cisplatin (12.5 μM). Cell viability was assessed using the MTT assay. Oxidative stress was evaluated by measuring malondialdehyde (MDA) levels as an indicator of lipid peroxidation, reactive oxygen species (ROS) levels, and reduced glutathione (GSH) levels.

**Results:** Combined treatment with naringin and cisplatin reduced cell viability and increased oxidative stress markers in HeLa cells across all three naringin concentrations (100, 200, and 500 μM). The magnitude of these effects varied with the naringin concentration, with the most pronounced changes observed following combined treatment.

**Conclusion:** Under the experimental conditions, naringin, particularly when combined with cisplatin, reduced HeLa cell viability and increased markers of oxidative stress, suggesting that it may enhance the cytotoxic effects of cisplatin. However, further studies incorporating standardised combination-effect analyses, including calculation of the combination index (CI), are needed to characterise the interaction between naringin and cisplatin and determine whether their combined effects are additive or synergistic.

***Keywords:*** naringin, cisplatin, cervical cancer, HeLa cells, cytotoxicity, oxidative stress

**J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (Supple 1): 15-25 (Persian).**

**Corresponding Author: Mohammad Shokrzadeh** - Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: mslamuk@yahoo.com)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و ششم شماره ویژه نامه مهر سال ۱۴۰۵ (۲۵-۱۵)

# بررسی اثر نارنجین در ترکیب با سیس‌پلاتین بر حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در رده سلولی سرطان دهانه رحم (HeLa)

علی زیار[1]
هستی محمدی[2]
محمد شکرزاده[3]

## چکیده

**سابقه و هدف:** سرطان گروهی از بیماری‌هاست که با رشد و تکثیر کنترل‌نشده سلول‌های غیرطبیعی و اختلال در ساختار و عملکرد طبیعی بافت‌ها و اندام‌ها همراه است. شیمی‌درمانی یکی از روش‌های اصلی درمان سرطان است، اما مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای شیمی‌درمانی، ضرورت شناسایی ترکیبات مؤثر و کم‌عارضه را افزایش داده است. نارنجین، یک فلاونوئید با منشأ گیاهی، دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی از جمله خواص ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر نارنجین در ترکیب با سیس‌پلاتین بر حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سلول‌های سرطان دهانه رحم (HeLa) انجام شد.

**مواد و روش ها:** پس از تهیه و کشت رده سلولی HeLa ، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف نارنجین (شامل ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار)، به‌تنهایی و در ترکیب با سیس‌پلاتین (با غلظت ۱۲٫۵ میکرومولار)، به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. پس از پایان تیمار، حیات سلولی با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. همچنین، به‌منظور بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گلوتاتیون احیاشده (GSH) اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی نارنجین و سیس‌پلاتین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار نارنجین موجب کاهش حیات سلولی و افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سلول‌های HeLa شد. شدت این تغییرات در غلظت‌های مختلف نارنجین متفاوت بود و بیشترین تغییرات در شرایط تیمار ترکیبی مشاهده شد.

**استنتاج:** یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نارنجین، به‌ویژه در حضور سیس‌پلاتین، می‌تواند حیات سلول‌های HeLa را کاهش داده و با افزایش آسیب اکسیداتیو، اثر سیتوتوکسیک سیس‌پلاتین را در شرایط آزمایشگاهی تقویت کند. با این حال، برای تعیین دقیق ماهیت اثر متقابل نارنجین و سیس‌پلاتین و تأیید اثر افزایشی یا سینرژیک، انجام مطالعات تکمیلی و استفاده از تحلیل‌های استاندارد اثر ترکیبی، از جمله محاسبه Combination Index ، ضروری است.

**واژه های کلیدی:** سمیت سلولی ، سیس پلاتین ، نارنجین ، استرس اکسیداتیو

**مولف مسئول: محمد شکرزاده**- ساری، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ساری، ایران **Email:** mslamuk@yahoo.com

۱.دانشجوی دکتری تخصصی سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی دکترای حرفه‌ای داروسازی (Pharm.D)، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ساری، ایران

۳. استاد، گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۵/۳/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۴/۳/۲۶ تاریخ تصویب : ۱۴۰۵/۷/۱۵

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

## مقدمه

سرطان یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر در سراسر جهان است و به دلیل رشد و تکثیر کنترل‌نشده سلول‌ها و توانایی تهاجم به بافت‌های سالم، همچنان یکی از چالش‌های اصلی نظام سلامت محسوب می‌شود(۱). روش‌های متداول درمان سرطان شامل جراحی، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی است که بسته به نوع و مرحله بیماری به‌صورت منفرد یا ترکیبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در درمان، سمیت ناشی از داروهای شیمی‌درمانی و ایجاد مقاومت دارویی از مهم‌ترین محدودیت‌های درمان سرطان به شمار می‌روند(۴- ۲). ازاین‌رو، شناسایی ترکیبات طبیعی با فعالیت ضدسرطانی و قابلیت استفاده در کنار داروهای شیمی‌درمانی مورد توجه قرار گرفته است(۵).

سرطان دهانه رحم یکی از سرطان‌های مهم دستگاه تناسلی زنان است و در مراحل پیشرفته، شیمی‌درمانی مبتنی بر ترکیبات پلاتینی، به‌ویژه سیس‌پلاتین، از گزینه‌های مهم درمانی محسوب می‌شود. سیس‌پلاتین با ایجاد پیوندهای عرضی در DNA و اختلال در همانندسازی و رونویسی آن موجب آسیب ژنومی و در نهایت مهار تکثیر و مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود(۶). علاوه بر آسیب مستقیم به DNA ، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و برهم‌خوردن تعادل اکسیداسیون–احیا نیز می‌تواند در اثرات سیتوتوکسیک سیس‌پلاتین نقش داشته باشد. با این حال، بروز عوارض جانبی و ایجاد مقاومت به سیس‌پلاتین از جمله چالش‌های مهم در استفاده از این دارو محسوب می‌شوند(۷). بنابراین، شناسایی ترکیباتی که بتوانند پاسخ سلول‌های سرطانی به سیس‌پلاتین را تعدیل کنند، از نظر پژوهشی و درمانی حائز اهمیت است.

در سال‌های اخیر، ترکیبات طبیعی به‌ویژه فلاونوئیدها به دلیل اثرات چندوجهی بر فرآیندهای مرتبط با سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند. نارنجین، یک فلاوانون گلیکوزیدی موجود در مرکبات، از جمله ترکیبات طبیعی است که طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی را نشان داده است. شواهد پیش‌بالینی حاکی از آن است که نارنجین می‌تواند از طریق مهار تکثیر سلولی، توقف چرخه سلولی، القای مرگ سلولی، مهار تهاجم و متاستاز و تعدیل مسیرهای پیام‌رسانی در فرآیندهای سرطان‌زایی مداخله کند. همچنین، مطالعات مروری اخیر نقش احتمالی نارنجین را در افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به برخی داروهای شیمی‌درمانی مطرح کرده‌اند(۱۰- ۸). در سلول‌های HeLaنیز گزارش شده است که نارنجین می‌تواند رشد سلولی را مهار کرده و با کاهش فعال‌سازی مسیر NF-κB/COX-2/caspase-1با اثرات ضدسرطانی اعمال کند(۱۴- ۱۱). این شواهد، بررسی نارنجین را به‌عنوان یک ترکیب مکمل بالقوه در کنار داروهای شیمی‌درمانی، از جمله سیس‌پلاتین، توجیه‌پذیر می‌سازد.

یکی از ویژگی‌های شناخته‌شده نارنجین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است که می‌تواند از طریق مهار فرآیندهای اکسیداتیو و تعدیل سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول اعمال شود. با این حال، اثرات فلاونوئیدها بر وضعیت اکسیداسیون–احیا همواره یکسان نیست و می‌تواند به عواملی مانند غلظت ترکیب، نوع سلول و شرایط اکسیداتیو محیط سلولی وابسته باشد(۱۵، ۱۶). بنابراین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نارنجین لزوماً مانع از بروز اثرات پرواکسیدانی آن در شرایط خاص، به‌ویژه در سلول‌های سرطانی، نمی‌شود. در چنین شرایطی، افزایش ROS می‌تواند موجب آسیب اکسیداتیو بهDNA ، لیپیدها و پروتئین‌ها شده و در کنار سایر مکانیسم‌ها، به کاهش بقای سلول‌های سرطانی کمک کند(۱۷، ۱۸). این رفتار دوگانه، احتمالاً یکی از دلایلی است که پاسخ سلول‌های سرطانی به نارنجین می‌تواند بسته به شرایط آزمایش متفاوت باشد.

از سوی دیگر، از آن‌جا که افزایش استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مرتبط با اثرات سیتوتوکسیک سیس‌پلاتین است، بررسی تغییرات

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

شاخص‌های اکسیداتیو در اثر ترکیب نارنجین و سیس‌پلاتین می‌تواند اهمیت ویژه‌ای داشته باشد. بر این اساس، افزایش یا کاهش ROS و سایر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سلول‌های HeLa می‌تواند اطلاعاتی درباره نقش احتمالی تعادل اکسیداسیون–احیا در پاسخ سلولی به این ترکیب فراهم کند. بنابراین، بررسی هم‌زمان حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو می‌تواند به درک بهتر نحوه تعامل نارنجین با سیس‌پلاتین کمک کند.

با وجود شواهد موجود درباره فعالیت ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی نارنجین، نقش آن در تعدیل پاسخ اکسیداتیو سلول‌های سرطان دهانه رحم در حضور سیس‌پلاتین، به‌ویژه با تمرکز هم‌زمان بر حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، نیازمند بررسی بیشتر است. ازاین‌رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر نارنجین، به‌تنهایی و در ترکیب با سیس‌پلاتین، بر سلول‌های سرطان دهانه رحم HeLa انجام شد و اثرات آن بر حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) ، پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و گلوتاتیون احیاشده (GSH) ارزیابی گردید.

## مواد و روش‌ها

*رده سلولی و شرایط کشت*

در این مطالعه که با کد اخلاق IR.MAZUMS.RIB.REC.1405.015 به تصویب رسیده است، از رده سلولی سرطان دهانه رحم انسانی (HeLa) تهیه‌شده از بانک سلولی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران استفاده شد. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 مکمل‌شده با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)، 2 میلی‌مولار L-گلوتامین و ۱ درصد پنی‌سیلین–استرپتومایسین کشت داده شدند. شرایط انکوباسیون شامل دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت اشباع و اتمسفر حاوی ۵ درصد دی‌اکسیدکربن بود. پس از رسیدن سلول‌ها به ۷۰ تا ۸۰ درصدهم‌پوشانی (Confluency)، سلول‌ها با استفاده از محلول تریپسین–EDTA از سطح فلاسک جدا شدند و برای انجام آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند(۱۹).

*تیمار سلول‌ها با نارنجین و سیس‌پلاتین*

به‌منظور ارزیابی اثر ترکیبی نارنجین و سیس‌پلاتین، سلول‌های HeLa در گروه‌های دریافت‌کننده نارنجین به‌تنهایی، سیس‌پلاتین به‌تنهایی و ترکیب نارنجین و سیس‌پلاتین قرار گرفتند. نارنجین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار و سیس‌پلاتین در غلظت ۱۲/۵ میکرومولار استفاده شد(۱۹). علاوه بر این، گروه دریافت‌کننده نارنجین ۵۰۰ میکرومولار به‌تنهایی نیز در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت تیمار، میزان حیات سلولی با استفاده از آزمون MTT تعیین و درصد حیات سلولی گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شد. کاهش بیشتر حیات سلولی در گروه ترکیبی در مقایسه با تیمارهای منفرد به‌عنوان افزایش سمیت سلولی (سیتوتوکسیسیتی) در شرایط ترکیبی تفسیر شد. با این حال، به دلیل عدم محاسبه شاخص‌های کمی سینرژی، این یافته‌ها به‌عنوان اثبات قطعی اثر سینرژیک تلقی نشدند.

*ارزیابی حیات سلولی با آزمون MTT*

در آزمون MTT، پس از افزودن محلول MTT و انکوباسیون به مدت ۴ ساعت، کریستال‌های فورمازان تشکیل‌شده با دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل شده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه ELISA Reader اندازه‌گیری شد. درصد حیات سلولی نسبت به گروه کنترل محاسبه شد(۲۰).

*اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی*

به منظور ارزیابی استرس اکسیداتیو، میزان پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) از طریق سنجش فراورده‌های واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، نمونه‌ها با

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

معرف TBA واکنش داده شده و پس از استخراج با n-بوتانول، جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید(۲۱).

*اندازه‌گیری گلوتاتیون احیاشده (GSH)*

به منظور ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها، میزان گلوتاتیون احیا شده (GSH) اندازه‌گیری شد. در این روش، پس از تهیه هموژنات سلولی، نمونه‌ها با معرف DTNB (5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoic acid) واکنش داده شدند. در اثر واکنش DTNB با گروه‌های سولفیدریل گلوتاتیون، ترکیب زردرنگ TNB تشکیل شد که جذب آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. غلظت GSH با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میکرومولار گزارش شد(۲۲).

*اندازه‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)*

به‌منظور ارزیابی میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های HeLa ، از روش فلوروومتری با استفاده از پروب 2′,7′-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) استفاده شد. پس از پایان دوره تیمار، سلول‌ها با DCFH-DA انکوبه شدند. این ترکیب پس از ورود به سلول و دی‌استیلاسیون به‌واسطه استرازهای درون‌سلولی، به فرم غیر فلورسنت DCFH تبدیل می‌شود که در حضور گونه‌های فعال اکسیژن به ترکیب فلورسنت DCF اکسید می‌گردد. شدت فلورسانس ایجادشده به‌عنوان شاخصی از میزان تولید ROS در سلول‌ها در نظر گرفته شد. شدت فلورسانس با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر فلورسانس اندازه‌گیری و نتایج بین گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل مقایسه شدند(۲۳).

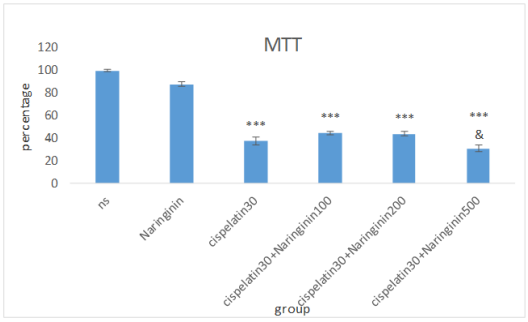
*تجزیه و تحلیل آماری*

تمامی آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار مستقل انجام شدند و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey انجام شد. سطح معنی‌داری برای همه آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد(۲۴).

## یافته ها

*بررسی اثر نارنجین همراه با سیس‌پلاتین بر حیات سلولی رده سلولی HeLa*

بر اساس نتایج حاصل از آزمون MTT و مطابق نمودار زیر، تیمار سلول‌های HeLa با سیس‌پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) موجب کاهش معنی‌دار حیات سلولی در مقایسه با گروه کنترل شد ($P <$ ۰/۰۵). همچنین تیمار همزمان سیس‌پلاتین با نارنجین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار نیز کاهش معنی‌داری در میزان حیات سلولی نسبت به گروه کنترل ایجاد نمود ($P <$ ۰/۰۵). علاوه بر این، گروه دریافت‌کننده سیس‌پلاتین به همراه نارنجین ۵۰۰ میکرومولار در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سیس‌پلاتین به تنهایی کاهش بیشتری در حیات سلولی نشان داد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P <$ ۰/۰۵).

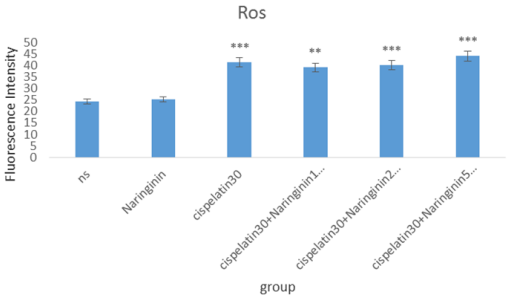



**نمودار شماره ۱:** اثرات میزان حیات سلولی ناشی از اثر نارنجین همراه با سیس پلاتین بر مهار رشد سلول های سرطانی دهانه رحم
***: دارای اختلاف معنی دار با گروه نرمال سالین ($P <$ ۰/۰۰۱)
&: دارای اختلاف معنی دار با گروه سیس‌پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار($P <$ ۰/۰۵)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

*بررسی اثر نارنجین همراه با سیس‌پلاتین بر میزان ROS در سلول‌های HeLa*

نتایج سنجش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نشان داد که تیمار سلول‌های HeLa با سیس‌پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) موجب افزایش معنی‌دار سطح ROS نسبت به گروه کنترل گردید (P <۰/۰۵). همچنین تیمار همزمان سیس‌پلاتین با نارنجین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار سطح ROS در مقایسه با گروه کنترل شد (P <۰/۰۵). بیشترین افزایش ROS در گروه دریافت‌کننده نارنجین ۵۰۰ میکرومولار به همراه سیس‌پلاتین مشاهده گردید.

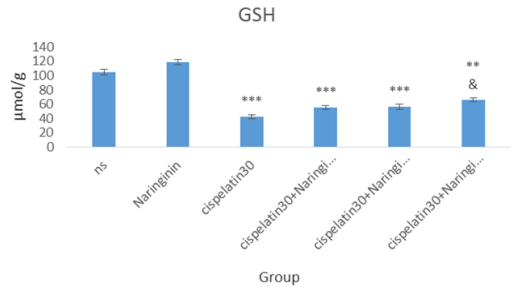



**نمودار شماره ۲:** اثرات اثر نارنجین همراه با سیس پلاتین بر استرس اکسیداتیو(ROS) در سلول های سرطانی دهانه رحم

***: دارای اختلاف معنی دار با گروه کنترل (P <۰/۰۰۱)

*بررسی اثر نارنجین همراه با سیس‌پلاتین بر میزان GSH در سلول‌های HeLa*

مطابق نتایج ارائه‌شده در نمودار زیر، میزان گلوتاتیون احیا شده (GSH) در گروه دریافت‌کننده سیس‌پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت (P <۰/۰۵). همچنین تیمار هم زمان سیس‌پلاتین و نارنجین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار موجب کاهش معنی‌دار GSH در مقایسه با گروه کنترل گردید (P <۰/۰۵). این کاهش در گروه دریافت‌کننده نارنجین ۵۰۰ میکرومولار به همراه سیس‌پلاتین در مقایسه با گروه سیس‌پلاتین به تنهایی نیز معنی‌دار بود (P <۰/۰۵).



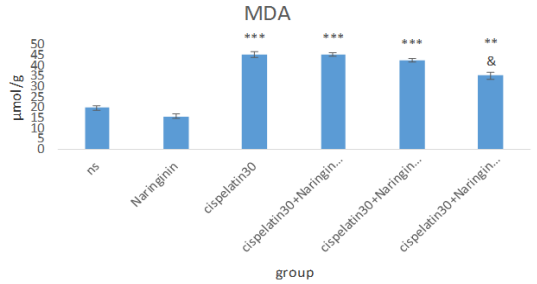

**نمودار شماره ۳:** اثرات نارنجین همراه با سیس پلاتین بر استرس اکسیداتیو(GSH) در سلول های سرطانی دهانه رحم

***: دارای اختلاف معنی دار با گروه کنترل (P <۰/۰۰۱)

&: دارای اختلاف معنی دار با گروه سیس پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) (P <۰/۰۵)

*بررسی اثر نارنجین همراه با سیس‌پلاتین بر میزان MDA در سلول‌های HeLa*

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید(MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی نشان داد که میزان MDAدر گروه سیس‌پلاتین(غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت (P <۰/۰۵). همچنین تیمار همزمان سیس‌پلاتین و نارنجین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار موجب افزایش معنی‌دار سطح MDA در مقایسه با گروه کنترل گردید (P <۰/۰۵). بیشترین افزایش MDA در گروه دریافت‌کننده نارنجین ۵۰۰ میکرومولار مشاهده شد و این افزایش نسبت به گروه سیس‌پلاتین به تنهایی نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (P <۰/۰۵).




**نمودار شماره ٤:** اثرات نارنجین همراه با سیس پلاتین بر استرس اکسیداتیو(MDA) در سلول های سرطانی دهانه رحم

***: دارای اختلاف معنی دار با گروه کنترل (P <۰/۰۰۱)

&: دارای اختلاف معنی دار با گروه سیس‌پلاتین (غلظت ۱۲/۵ میکرومولار) (P <۰/۰۵)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

## بحث

سرطان دهانه رحم همچنان یکی از بدخیمی‌های مهم دستگاه تولیدمثل زنان است و شیمی‌درمانی، به‌ویژه در مراحل پیشرفته بیماری، نقش مهمی در درمان آن دارد. با این حال، سمیت دارویی و ایجاد مقاومت درمانی، لزوم شناسایی ترکیباتی که پاسخ سلول‌های سرطانی به داروهای شیمی‌درمانی را تعدیل کنند، افزایش داده است. در مطالعه حاضر، اثر نارنجین در ترکیب با سیس‌پلاتین در سلول‌های HeLa با تمرکز بر حیات سلولی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو بررسی شد.

کاهش حیات سلولی در تیمار ترکیبی نارنجین و سیس‌پلاتین نشان می‌دهد که این ترکیبات در شرایط آزمایش حاضر اثرات سمیت سلولی قابل توجهی بر سلول‌های HeLa داشته‌اند. با توجه به اینکه سیس‌پلاتین از طریق ایجاد آسیب DNA و فعال‌سازی مسیرهای مرگ سلولی عمل می‌کند، افزایش استرس اکسیداتیو نیز می‌تواند از عوامل‌مؤثر در این پاسخ باشد. یافته‌های مطالعات Azab و همکاران (۲۰۱۹) و AL-Eitan و همکاران (۲۰۲۰) نیز نقش آسیب DNA و استرس اکسیداتیو را در سمیت سلولی سیس‌پلاتین مورد تأکید قرار داده‌اند(۳۰، ۳۱). بنابراین، تغییرات مشاهده‌شده در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی ازافزایش استرس اکسیداتیو توسط سیس‌پلاتین و نارنجین مرتبط باشد.

نکته قابل توجه در مطالعه حاضر، افزایش ROS و MDA همراه با کاهش GSH، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر نارنجین، بود. این الگویی که بیانگر تغییر وضعیت اکسیداسیون–احیا به سمت شرایط اکسیداتیو است . MDAبه‌عنوان یکی از فرآورده‌های پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی را منعکس می‌کند، در حالی که کاهش GSH می‌تواند بیانگر مصرف یا کاهش ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول باشد. هم‌زمانی این تغییرات با کاهش حیات سلولی، احتمال نقش استرس اکسیداتیو را در سمیت مشاهده‌شده تقویت می‌کند؛ با این حال، از آنجا که شاخص‌های مستقیم مرگ سلولی در این مطالعه بررسی نشده‌اند، نمی‌توان بر اساس این یافته‌ها مسیر مشخصی مانند آپوپتوز را به‌طور قطعی نسبت داد.

یکی از نکات مهم حاصل از این مطالعه، تفاوت پاسخ نارنجین در شرایط حاضر با بسیاری از مطالعاتی است که اثرات آنتی‌اکسیدانی آن را گزارش کرده‌اند Septisetyani.و همکاران (۲۰۲۱)، Ahmad و همکاران (۲۰۲۱)، Jin و همکاران (۲۰۱۹) و Kesh و همکاران (۲۰۲۱) عمدتاً کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی را در شرایط مورد بررسی خود گزارش کرده‌اند(۳۵- ۳۲). تفاوت میان این یافته‌ها و نتایج مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع سلول، غلظت نارنجین، مدت تماس و وضعیت پایه سیستم اکسیدان–آنتی‌اکسیدان باشد. بنابراین، اثرات نارنجین را نمی‌توان به یک عملکرد ثابت و مستقل از شرایط آزمایش نسبت داد.

مفهوم رفتار دوگانه آنتی‌اکسیدانی و پرواکسیدانی فلاونوئیدها در تفسیر این نتایج قابل تامل است. ترکیبات پلی‌فنولی در شرایط خاص ممکن است از طریق تغییر تعادل اکسیداسیون–احیا و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، به‌ویژه در سلول‌های سرطانی، رفتار پرواکسیدانی نشان دهند. در مطالعه حاضر، غلظت بالاتر نارنجین در حضور سیس‌پلاتین با افزایش ROS و MDA و کاهش GSHهمراه بود. این یافته با گزارشHazman و همکاران (۲۰۲۲) درباره وابستگی اثر ترکیبات طبیعی به غلظت و شرایط سلولی هم‌راستا است(۳۶). با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر مکانیسم مولکولی دقیق این تغییر رفتار بررسینشده است، نمی‌توان افزایش ROS را مستقیماً به یک مسیر مولکولی خاص نسبت داد.

از سوی دیگر، وجود سیس‌پلاتین در محیط آزمایش می‌تواند در شکل‌گیری این پاسخ نقش داشته باشد. سیس‌پلاتین خود قادر است با ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری و افزایش تولید ROS، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول را مختل کند. بنابراین، افزایش بیشتر ROS در تیمار

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

ترکیبی ممکن است حاصل اثرات هم‌زمان سیس‌پلاتین و نارنجین بر تعادل اکسیدان–آنتی‌اکسیدان باشد Abd . Rashid و همکاران (۲۰۲۱) نیز افزایش ROS را از مکانیسم‌های مهم مرتبط با سمیت سلولی سیس‌پلاتین گزارش کرده‌اند(۳۷). یافته‌های حاضر احتمال دخالت تغییر وضعیت اکسیداتیو در کاهش حیات سلول‌ها را تقویت می‌کند، هرچند برای اثبات رابطه علّی به مطالعات مکانیستی بیشتری نیاز است.

تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعاتی که اثرات آنتی‌اکسیدانی نارنجین را گزارش کرده‌اند، اهمیت انتخاب دوز را نشان می‌دهد. در حالی که غلظت‌های پایین‌تر برخی ترکیبات پلی‌فنولی ممکن است از طریق خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن اثر آنتی‌اکسیدانی داشته باشند، در غلظت‌های بالاتر و در محیط سلولی خاص، تغییر در تعادل اکسیداسیون– احیا می‌تواند به افزایش ROS منجر شود. در سلول‌های سرطانی، افزایش بیش از حد ROS ممکن است ظرفیت تطابق سلول را تحت فشار قرار دهد و در صورت عبور از آستانه تحمل اکسیداتیو، با کاهش بقای سلولی همراه شود. بنابراین، نتایج حاضر را می‌توان در چارچوب وابستگی اثر نارنجین به دوز و زمینه سلولی تفسیر کرد.

در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که نارنجین در شرایط آزمایش حاضر، به‌ویژه در غلظت بالاتر و در حضور سیس‌پلاتین، با تغییر وضعیت اکسیداسیون–احیا همراه بوده است. هم‌زمانی افزایش شاخص‌های اکسیداتیو با کاهش حیات سلولی، احتمال مشارکت استرس اکسیداتیو در پاسخ سلولی مشاهده‌شده را مطرح می‌کند. با این حال، برای تعیین اینکه آیا این تغییرات مستقیماً مسئول مرگ سلولی هستند و همچنین مشخص کردن مسیرهای مولکولی دخیل، مطالعات تکمیلی ضروری است.

*محدودیت‌های مطالعه*

این مطالعه با محدودیت هایی همراه بود که باید در تفسیر یافته‌ها لحاظ شود. نخست، آزمایش‌ها تنها بر روی یک رده سلولی سرطان دهانه رحم، یعنی HeLa ، انجام شدند؛ بنابراین تعمیم نتایج به سایر رده‌های سرطان دهانه رحم یا سایر انواع سرطان نیازمند بررسی‌های بیشتر است. دوم، در این مطالعه تنها برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل ROS، MDA و GSH بررسی شدند و ارزیابی سایر سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، CAT و GPx انجام نشد. سوم، اگرچه کاهش حیات سلولی همراه با افزایش استرس اکسیداتیو مشاهده شد، مسیر دقیق مرگ سلولی مشخص نشد و آزمون‌های اختصاصی برای تمایز آپوپتوز، نکروز یا سایر مسیرهای مرگ سلولی انجام نشدند. همچنین، مکانیسم‌های مولکولی احتمالی مرتبط با پاسخ به نارنجین، از جمله مسیرهای Nrf2/HO-1، MAPK، PI3K/Akt و پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز، مستقیماً ارزیابی نشدند. از سوی دیگر، در مطالعه حاضر سلول‌های طبیعی به‌عنوان کنترل سمیت انتخابی مورد بررسی قرار نگرفتند؛ بنابراین نمی‌توان درباره انتخابی بودن اثر سیتوتوکسیک تیمار ترکیبی نتیجه‌گیری قطعی کرد. در نهایت، مطالعات حاضر در شرایط in vitro انجام شد و برای تأیید اهمیت زیستی و قابلیت کاربرد این یافته‌ها، انجام مطالعات بیشتر در رده‌های سلولی مختلف و مدل‌های حیوانی ضروری است.

در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان داد که نارنجین در ترکیب با سیس‌پلاتین، به‌ویژه در غلظت ۵۰۰ میکرومولار، با کاهش حیات سلولی و افزایش استرس اکسیداتیو در سلول‌های HeLa همراه است. این نتایج نشان می‌دهد که به احتمال زیاد نارنجین می‌تواند از طریق تغییر وضعیت اکسیداسیون–احیا، در تقویت اثرات سیتوتوکسیک سیس‌پلاتین نقش داشته باشد. با این حال، برای تأیید مکانیسم‌های مولکولی این اثر و ارزیابی ایمنی و اثربخشی آن، مطالعات تکمیلی ضروری است.

## سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه دوره دکترای حرفه‌ای داروسازی مصوب و دفاع شده در دانشگاه علوم پزشکی

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

مازندران،پردیس خودگردان رامسر استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولان پژوهشی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و هیئت داوران پایان‌نامه که ما را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

## References

1- Caruso G, Wagar MK, Hsu HC, Hoegl J, Valzacchi GMR, Fernandes A, etal. Cervical cancer: a new era. Int J Gynecol Cancer 2024;34(12):1946-1970 PMID: 39117381.
2- Ghosh S, Das SK, Sinha K, Ghosh B, Sen K, Ghosh N, etal. The emerging role of natural products in cancer treatment. Arch Toxicol 2024;98(8):2353-2391 PMID: 38795134.
3- Elmorsy EA, Saber S, Hamad RS, Abdel-Reheim MA, El-Kott AF, AlShehri MA, etal. Advances in understanding cisplatin-induced toxicity: Molecular mechanisms and protective strategies. Eur J Pharm Sci 2024;203:106939 PMID: 39423903.
4- Yang LJ, Han T, Liu RN, Shi SM, Luan SY, Meng SN. Plant-derived natural compounds: A new frontier in inducing immunogenic cell death for cancer treatment. Biomed Pharmacother 2024;177:117099 PMID: 38981240.
5- Situmorang PC, Ilyas S, Nugraha SE, Syahputra RA, Nik Abd Rahman NMA. Prospects of compounds of herbal plants as anticancer agents: a comprehensive review from molecular pathways. Front Pharmacol 2024;15:1387866.
6- Francoeur AA, Monk BJ, Tewari KS. Treatment advances across the cervical cancer spectrum. Nat Rev Clin Oncol 2025;22(3):182-199 PMID: 39753753.
7- Jung T, Cheon C. Synergistic and additive effects of herbal medicines in combination with chemotherapeutics: a scoping review. Integr Cancer Ther 2024;23:15347354241259416 PMID: 38867515.
8- He J, Zhang HP. Research progress on the anti-tumor effect of Naringin. Front Pharmacol 2023;14:1217001.
9- Alhalmi A, Amin S, Ralli T, Ali KS, Kohli K. Therapeutic role of naringin in cancer: molecular pathways, synergy with other agents, and nanocarrier innovations. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2025;398(4):3595-3615 PMID: 39614898.
10- Zeng JN, Tan JY, Mo L. Naringin inhibits colorectal carcinogenesis by inhibiting viability of colorectal cancer cells. Chin J Integr Med 2023;29(8):707-713 PMID: 37340202.
11- Wang Y, Wang Y, Yuan C, Wang N, Zhang T. Naringin inhibits cisplatin resistance of ovarian cancer cells by inhibiting autophagy mediated by the TGF-β2/Smad2 pathway. Transl Cancer Res 2024;13(6):2618-2628 PMID: 38988927.
12- Bisht P, Prasad SR, Choudhary K, Pandey R, Aishwarya D, Aravind V, etal. Naringin and temozolomide combination suppressed the growth of glioblastoma cells by promoting cell apoptosis: network pharmacology, in-vitro assays and metabolomics based study. Front

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

Pharmacol 2024;15:1431085 PMID: 39148542.

13- Mohamed EM, Ahmed OM, Zoheir KMA, El-Shahawy AAG, Tamur S, Shams A, etal. Naringin-dextrin nanocomposite abates diethylnitrosamine/acetylaminofluorene-induced lung carcinogenesis by modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis, and cell proliferation. Cancers (Basel) 2023;15(20):5102.

14- Effat H, Abosharaf HA, Radwan AM. Combined effects of naringin and doxorubicin on the JAK/STAT signaling pathway reduce the development and spread of breast cancer cells. Sci Rep 2024;14(1):2824 PMID: 38310190.

15- Xi Y, Chi Z, Tao X, Zhai X, Zhao Z, Ren J, etal. Naringin against doxorubicin-induced hepatotoxicity in mice through reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis via the up-regulation of SIRT1. Environ Toxicol 2023;38(5):1153-1161.

16- Mohamed EM, Ahmed OM, Zoheir KMA, El-Shahawy AAG, Tamur S, Shams A, etal. Naringin-dextrin nanocomposite abates diethylnitrosamine/acetylaminofluorene-induced lung carcinogenesis by modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis, and cell proliferation. Cancers (Basel) 2023;15(20):5102 PMID: 37894468.

17- Badhe P, Nanaware V, Badhe A, Wondmie GF, Bin Jardan YA, Bourhia M. Assessing the antioxidant properties of Naringin and Rutin and investigating their oxidative DNA damage effects in breast cancer. Sci Rep 2024;14:15314.

18- Chen CH, Tien N, Yao CH, Chen SJ, Bau DT, Pandey S, etal. Naringin induces ROS-stimulated G1 cell-cycle arrest and apoptosis in nasopharyngeal carcinoma cells. Environ Toxicol 2024;39(11):5059-5073 PMID: 39056589.

19- Yuan YG, Gurunathan S. Combination of graphene oxide–silver nanoparticle nanocomposites and cisplatin enhances apoptosis and autophagy in human cervical cancer cells. Int J Nanomedicine 2017; 12:6537-6558 PMID: 28919753.

20- Mirzaei H, Shokrzadeh M, Modanloo M, Ziar A, Riazi GH, Emami S. New indole-based chalconoids as tubulin-targeting antiproliferative agents. Bioorg Chem 2017;75:86-98 PMID: 28922629.

21- Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. Toxicol Lett 2006;160(2):171-177 PMID: 16111842.

22- Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Ziar A, Mohammadi H. Oxidative damage induced by retching; antiemetic and neuroprotective role of Sambucus ebulus L. Cell Biol Toxicol 2015;31(5):231-239 PMID: 26493312.

23- Sadegh C, Schreck RP. The spectroscopic determination of aqueous sulfite using Ellman’s reagent. Murj 2003;8:39-43.

24- Zamani E, Shokrzadeh M, Ziar A, Abedian-Kenari S, Shaki F. Acrylamide attenuated immune tissues' function via induction of apoptosis and oxidative stress: Protection by L-carnitine. Hum Exp Toxicol 2018;37(8):859-869 PMID: 29168405.

25- Wei F, Georges D, Man I, Baussano I, Clifford GM. Causal attribution of human papillomavirus genotypes to invasive cervical cancer worldwide: a systematic analysis of the global literature. Lancet

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]

2024;404(10457): 435-444 PMID: 39097395.

26- World Health Organization. Cervical cancer. Geneva: World Health Organization; 2025. Available from: WHO Health Topics.

27- Yin Z, Hua X, Lu M. Integrated network pharmacology and metabolomics to dissect the mechanisms of naringin for treating cervical cancer. Comb Chem High Throughput Screen 2024;27(5):754-764.

28- Zhou J, Li H, Wu B, Zhu L, Huang Q, Guo Z, etal. Network pharmacology combined with experimental verification to explore the potential mechanism of naringenin in the treatment of cervical cancer. Sci Rep 2024;14:1860.

29- Stabrauskiene J, Kopustinskiene DM, Lazauskas R, Bernatoniene J. Naringin and naringenin: their mechanisms of action and the potential anticancer activities. Biomedicines 2022;10(7):1686 PMID: 35884991.

30- Belal A, Alassaf A, Abdulrahman A-H, Dardas Z, Almousa H, Alsalem M, etal. Genotoxicity of cisplatin and carboplatin in cultured human lymphocytes: a comparative study. Interdiscip Toxicol 2019;12(2):93-97 PMID: 32206030.

31- Al-Eitan LN, Alzoubi KH, Al-Smadi LI, Khabour OF. Vitamin E protects against cisplatin-induced genotoxicity in human lymphocytes. Toxicol Vitro 2020;62:104672 PMID: 31629897.

32- Septisetyani E, Prasetyaningrum P, Santoso A. Naringin may alleviate doxorubicin cytotoxic effects in C2C12 myoblast cells. IOP Conference Series: Earth and Environ Sci 2021;762:012027.

33- Ahmad MH, Fatima M, Ali M, Rizvi MA, Mondal AC. Naringenin alleviates paraquat-induced dopaminergic neuronal loss in SH-SY5Y cells and a rat model of Parkinson's disease. Neuropharmacology 2021;201:108831 PMID: 34655599.

34- Jin Y, Wang H. Naringenin inhibit the hydrogen peroxide-induced SH-SY5Y cells injury through Nrf2/HO-1 pathway. Neurotoxicity Research 2019;36(4):796-805.

35- Kesh S, Kannan RR, Balakrishnan A. Naringenin alleviates 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism in SHSY5Y cells and zebrafish model. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 2021;239:108893.

36- Hazman Ömer, Evin H, Fatih Bozkurt M, Hakkı Ciğerci I. Two faces of arbutin in hepatocellular carcinoma (HepG2) cells: Anticarcinogenic effect in high concentration and protective effect against cisplatin toxicity through its antioxidant and anti-inflammatory activity in low concentration. Biologia 2022;77: 225-239.

37- Abd Rashid, Abd Halim SAS, Teoh SL, Budin SB, Hussan F, Adib Ridzuan NR, etal. The role of natural antioxidants in cisplatin-induced hepatotoxicity. Biomed Pharmacother 2021;144: 112328 PMID: 34653753.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03 ]