Protective properties of the aqueous extract of *Zingiber* on the colon of Syrian hamsters after injecting it with 1,2 dimethyl hydrazine

Dr. Nahla Ebrahem [*]
Dr. Ali Daoud **
Doha Mohamad ***

(Received 23 / 2 / 2022. Accepted 25 / 7 /2022)

□ ABSTRACT □

The present study aimed to know the effect of the aqueous extract of zingiber plant roots in preventing the damage caused by injecting Syrian hamsters with 1,2 dimethyl hydrazine (DMH). The control, the rest of the groups were divided into 20 individuals for each group, the second and third groups dosed zingiber extract (80 mg/kg, 220 mg/kg) respectively, and the fourth group was injected with DMH at a concentration of 40 mg/kg peritoneally through the abdomen at a rate of 4. times/week for 8 weeks, the fifth and sixth groups dosed with zingiber extract (80 mg/kg, 220 mg/kg) for a week, then they were dosed with the plant extract simultaneously with DMH injection

A study of the histological sections of the colon in animals injected with DMH showed the development of cancerous tumors by 80%. The second and third groups did not suffer from any changes in the structure of the colon tissue. The tissue structure improved in the fifth group, but it returned to its normal structure in the sixth group in terms of cells and glands, which Emphasizes the importance of the aqueous extract of zingiber in protecting colon tissue, improving cell structure, and preventing oxidative stress induced by 1,2 dimethyl hydrazine

Key words: zingiber, colon, cancer, Hamster,.1,2 dimethyl hydrazine

[*] **Associate professor, Zoology Department, Faculty of sciences, Tishreen University / Syria**
d.alya-n@hotmail.com
**** Associate professor, Pathology Department, Faculty of Medicine, Tishreen University/ Syria.**
Dr.ali.K.Daoud@Gmail.com
*****P hD student- Zoology Department, Faculty of sciences, Tishreen Univerity / Syria**
flowerlotus684@gmail.com

الخصائص الوقائية للمستخلص المائي لنبات الزنجبيل على قولون الهامستر السوري بعد حقنه بمادة 1,2 dimethyl hydrazine

د . نهله إبراهيم*
د . علي داود **
ضحى محمد ***

(تاريخ الإيداع 23 / 2 / 2022. قبل للنشر في 25 / 7 / 2022)

□ ملخّص □

هدفت الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير المستخلص المائي لجذور نبات الزنجبيل في الوقاية من الأضرار الناجمة عن حقن الهامستر السوري بمادة 1,2 dimethyl hydrazine (DMH) حيث شملت الدراسة 110 من الهامستر السوري وزعت على ست مجموعات على النحو الآتي :المجموعة الأولى 10 افراد وهي المجموعة الشاهد، قسمت بقية المجموعات إلى 20 فردا لكل مجموعة ،المجموعة الثانية والثالثة جرعتا بخلاصة الزنجبيل (80 ملغ/كغ ، 220 ملغ/كغ) على التوالي ،أما المجموعة الرابعة فقد حقنت بمادة (DMH) بتركيز 40ملغ/كغ صفاقيا عن طريق البطن بمعدل 4 مرات /الاسبوع لمدة 8 أسابيع ،المجموعة الخامسة والسادسة جرعتا بخلاصة الزنجبيل (80 ملغ/كغ ، 220 ملغ/كغ) لمدة اسبوع ثم جرعتا بالمستخلص النباتي بالتزامن مع حقنهما بمادة DMH

أظهرت دراسة المقاطع النسيجية للقولون في الحيوانات التي حقنت بمادة DMH تطور أورام سرطانية بنسبة 80 % ولم تعاني المجموعتان الثانية والثالثة من أي تغيرات في بنية نسيج القولون ، تحسنت البنية النسيجية في المجموعة الخامسة إلا أنها عادت إلى بنيتها الطبيعية في المجموعة السادسة من حيث الخلايا والغدد مما يؤكد على أهمية المستخلص المائي لنبات الزنجبيل في حماية أنسجة القولون وتحسن بنية الخلايا والوقاية من الإجهاد التأكسدي المحدث بفعل مادة 1,2 dimethyl hydrazine

الكلمات المفتاحية: الهامستر، ثنائي ميتيل الهيدرازين، القولون، السرطان، الزنجبيل

*أستاذ مساعد – قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم _ جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا d.alya-n@hotmail.com
**أستاذ مساعد-قسم التشريح المرضي -كلية الطب البشري- جامعة تشرين-اللاذقية-سوريا Dr.ali.K.Daoud@Gmail.com
***طالبة دكتوراه-قسم علم الحياة الحيوانية -كلية العلوم – جامعة تشرين _اللاذقية _سوريا. flowerlotus684@gmail.com

مقدمة:

أظهرت العديد من الدراسات التي أجريت في العقدين الأخيرين أهمية المستخلصات النباتية في وقاية الأنسجة الحية من التأثيرات الضارة للجذور الحرة التي تتشكل بفعل الإجهاد التأكسدي الناجم عن تعرض الكائن الحي لظروف معينة لذلك استخدمت كوسائل علاجية أو وقائية على الأقل للكثير من الأمراض حيث تعمل هذه النباتات على تعطيل دورة الخلية وهذا هو المبدأ المستخدم في العلاج الكيماوي إلا أن هذه يترافق مع بعض المضاعفات والآثار الجانبية السلبية (Manish,, *et al*., 2014) لذلك اهتمت الأبحاث الحديثة بالعلاج الشعبي بواسطة المستخلصات النباتية من أجل توسيع استعمال الأدوية من المصادر الطبيعية النباتية بدلا من الأدوية المصنعة كيميائيا(Akram *et al*., 2017)

يعد سرطان القولون ثالث أنواع السرطانات شيوعا على مستوى العالم (Gosh *et a*l.,2015) حيث يتصف سرطان القولون بنشوء خلايا خبيثة في البطانة أو الأغشية الداخلية للقولون تفقد هذه الخلايا آلية السيطرة الطبيعية على النمو نتيجة وجود خلل وحدوث عدم التوازن بين الخلايا المتجددة والمتمايزة والتي تموت مما يؤدي إلى حدوث الموت الخلوي المبرمج Apoptosis وبالتالي حدوث زيادة تجدد الخلايا في تلك المنطقة كالذي يحدث في أعلى البؤر القولونية (Kim *et a*l ., 2017)انطلاقا من الأضرار التي تحدثها العقاقير والعلاج الكيميائي للسرطان ازداد الاهتمام بالنباتات الطبية ومستخلصاتها وعزل المركبات الكيميائية فيها لدراسة تأثيراتها الوقائية أو العلاجية (Bak *et al*.,2012) ومن هذه النباتات مستخلص نبات الزنجبيل (Sakr,2007) حيث تم استخدامه في علاج العديد من أمراض الجهاز الهضمي مثل الغثيان وآلام البطن والإسهال وآلام العضلات والقلب والسكري وكشفت الدراسات أن الزنجبيل يحمل خصائص مضادة للسرطان في مجموعة متنوعة من النماذج التجريبية (Black,2010)

انطلاقا من هذه الحقائق ونظرا لأهمية البحث والتحري عن تأثير خلاصة الزنجبيل المائية في قولون الهامستر السوري بما في ذلك التغيرات النسيجية المستحدثة بعد حقن الحيوانات صفاقيا بمادة Dimethylhydrazine ، ودراسة الآثار السمية لهذه المادة حيث تفتح هذه الدراسة آفاقا لدراسات أخرى أكثر تعمقا تسهم في إلقاء الضوء على فعالية المركبات المتركزة في لمستخلص النباتي ودراسة آلية تأثير هذه المركبات في حماية الخلايا والأنسجة من الإجهاد التأكسدي المحدث بفعل عوامل مختلفة لما في ذلك أهمية في تحسين حياة الإنسان.

أهمية البحث وأهدافه :

أهمية البحث :

تنبع أهمية البحث من التحري والكشف عن تأثيرات ضارة محتمله على قولون الهامستر السوري الناتجة عن حقن مادة Dimethylhydrazine وعن حدوث تغيرات نسيجية وبنيوية في خلايا وأنسجة القولون وكذلك تقصي تأثير تناول مستخلص نبات الزنجبيل ودورة الوقائي في حيوانات التجربة يمكن لنتائج هذه الدراسة أن تمثل إضافة جديدة في االتحري عن تأثير مستخلص الزنجبيل والآثار الجانبية الناتجة عن مادة (DMH) .

أهداف البحث : تهدف الدراسة الحالية إلى الآتي:

1- دراسة التأثير الوقائي لمستخلص نبات الزنجبيل على التغيرات السلبية في الهامستر المحدث بمادة(DMH) من خلال دراسة التغيرات النسيجية على القولون من حيث الشكل العام للنسيج مع بنية الخلايا والغدد

2 – تقصي تأثير إيجابي محتمل ناتج عن تجريع حيوانات التجربة بالمستخلص المائي للزنجبيل في قولون الهامستر السوري .

طرائق البحث ومواده :

حيوانات التجربة: أجريت الدراسة على110 من حيوانات الهامستر بعمر3-4شهور وسطياً وبوزن تراوح ما بين90-110غتم شراؤها من مصدر تجاري- مركز تربية الحيوانات/اللاذقية. حفظت الحيوانات في شروط مناسبة من حيث الغذاء ودرجة الحرارة (25 م) والإضاءة (12ساعة إضاءة/12 ساعة ظلام)،وتركت للتأقلم لمدة لا تقل عن اسبوعين قبل بدء التجربة.

1,2 Dimethyl Hydrazine: تم الحصول على المادة المسرطنة 1,2 Dimethyl Hydrazine من شركة سيغما (Sigma Chemical Co) تم إذابة 1 ، 2-ثنائي ميثيل هيدرازين (DMH) في 1 EDTA ميلي مولار، تم تحضيره طازجًا قبل الاستخدام) وتم تعديل pH إلى 6.5 مع 1 ملي مولار من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH . تم حقن مادة 1,2 dimethyl hydrazine صفاقيًا عن طرّيق البطن بمعدل أربع مرات/الأسبوع لمدة 8 أسابّيع وذلك بتركّز (40 ملغ/ كغ).

تحضير المستخلص المائي لنبات الزنجبيل: غسلت جذور نبات الزنجبيل بالماء المقطر وجففت في الظل لمدة 4-5 أيام قبل سحقها بخلاط كهربائي للحصول على بودرة ناعمة ،بعد ذلك ، أضيف إلى المسحوق النباتي (500غ) ليتر واحد من الماء المقطر بحرارة (35-40م) وترك المزيج لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المختبر ،بعد ذلك رشح المحلول مرتين باستخدام ورق ترشيح واتمان ونقلت الرشاحة إلى الحاضنة لحين الحصول على بودرة نقية جافة (Amin and hamza,2005)

حفظت البودرة ضمن أنابيب زجاجية مانعة للضوء في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ لحين الاستخدام حيث حضرت منها الجرعات بالتراكيز المطلوبة لتجريع حيوانات التجربة (80ملغ/كغ ،220ملغ/كغ) يوميا

تصميم التجربة:

وزعت حيوانات التجربة (بعد أقلمتها) عشوائيا في ست مجموعات بواقع ست حيوانات وذلك على النحو الآتي: المجموعة الأولى(10 أفراد)، وهي مجموعة الشاهد وقد جُرعت بالماء المقطر فقط وقدم لها الغذاء المناسب.

المجموعة الثانية والثالثة (20فردا لكل مجموعة):جُرعتا يومياً بخلاصة الزنجبيل (80 ملغ/كغ ،220 ملغ/كغ) على التوالي بواسطة التغذية الأنبوبية لمدة 8 أسابيع.

المجموعة الرابعة: حقنت بمادة 1,2 (dimethyl hydrazine) بتركيّز (40 ملغ/كغ) وتم الحقن صفاقياً عن طرّق البطن بمعدل أربع مرات/الأسبوع لمدة 8 أسابيع

المجموعتان الخامسة و السادسة :تم تجريعهما بمستخلص الزنجبيل بتركيز(40ملغ/كغ،220 ملغ/كغ) على التوالي يومياً لمدة أسبوع ثم جرعتا بمستخلص الزنجبيل بنفس الجرعة يومياً إضافة إلى حقنهم بمادة (.DMH) بتركيز 40 ملغ/كغ 4 مرات /الاسبوع لمدة 8 أسابيع .

بعد الانتهاء من التجربة تم تخدير الحيوانات وفتح البطن، تم استئصال قولونات حيوانات الهامستر وحفظت بشكل مستقل في عبوات بلاستيكية سعة 50 مل مخصصة لهذه الغاية تحتوي على محلول الفورمالين بتركيز 10% لحين إجراء الدراسة النسيجية

الدراسة النسيجية

جُهزت عينات القولون لإجراء المقاطع النسيجية بغمرها بالبارافين ضمن قوالب خاصة ثم أجريت المقاطع النسيجية بسماكة 5 ميكرون باستخدام المقطاع النسيجي (Meditome A 550) ثم عولجت تمهيدا لتلوتنها بالهيماتوكسيلين –

ايوزين وفقاً للطرائق المعتمدة (Drury *et al.*,1985; Maity *et al* 2012;). بعد ذلك، درست المحضرات النسيجية مجهرياً باستخدام مجهر ضوئي مجهز بكميرا رقمية لتحري الآثار الناتجة عن تجريع الحيوانات بالمستخلص النباتي المائي وحقن مادة (DMH) والدور الوقائي المحتمل لخلاصة الزنجبيل.

النتائج والمناقشة :

التغيرات الشكلية المشاهدة في القولون المفتوح طولياً:

تبين الأشكال من1 إلى6 البنية العيانية للقولونات في مجموعات الحيوانات (الأولى حتى السادسة).

الشكل(1) القولون في المجموعة الأولى (الشاهد).

الشكل(2) القولون في المجموعة الثانية (زنجبيل فقط، 80 ملغ/كغ).

الشكل (3):القولون في المجموعة الثالثة (زنجبيل فقط، 220 ملغ/كغ) توضح الشكل الطبيعي للقولون .

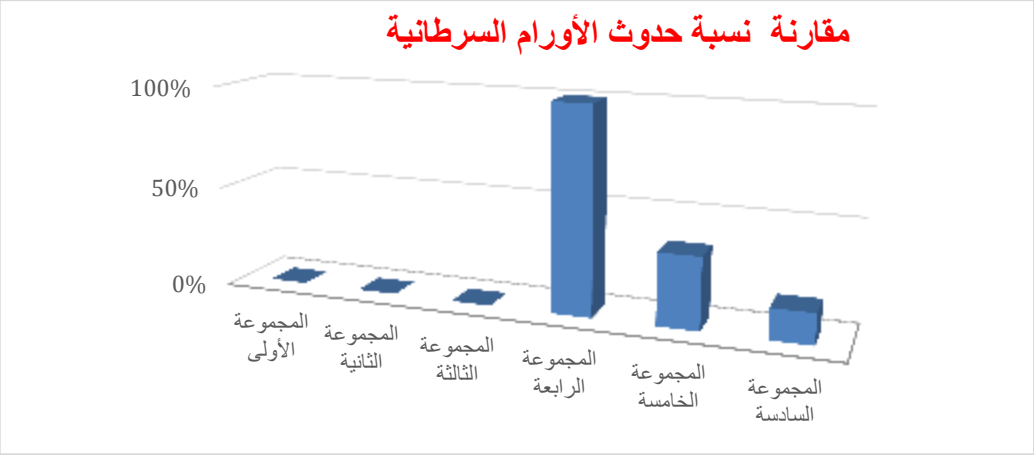
الشكل(4):القولون في المجموعة الرابعة (المادة المسرطنة Dimethyl Hydrazine 2,1 بتركيز (40 ملغ/كغ) وتظهر أوراماً واضحة كبيرة الحجم

الشكل(5) القولون في المجموعة الخامسة (خلاصة الزنجبيل لمدة أسبوع قبل البدء بحقن المادة المسرطنة (40 ملغ/كغ) ثم تعطى هذه المادة بنفس الجرعة بالتزامن مع خلاصة الزنجبيل (80 ملغ/كغ)) وتظهر أوراماً صغيرة الحجم

الشكل(6) القولون في المجموعة السادسة (خلاصة الزنجبيل لمدة أسبوع قبل البدء بحقن المادة المسرطنة (40 ملغ/كغ) ثم تعطى هذه المادة بنفس الجرعة بالتزامن مع خلاصة الزنجبيل (220 ملغ/كغ) وتظهر البنية الطبيعية للقولون مع انعدام الأورام .

نتائج تأثير الزنجبيل على النسبة المئوية لحدوث الأورام:

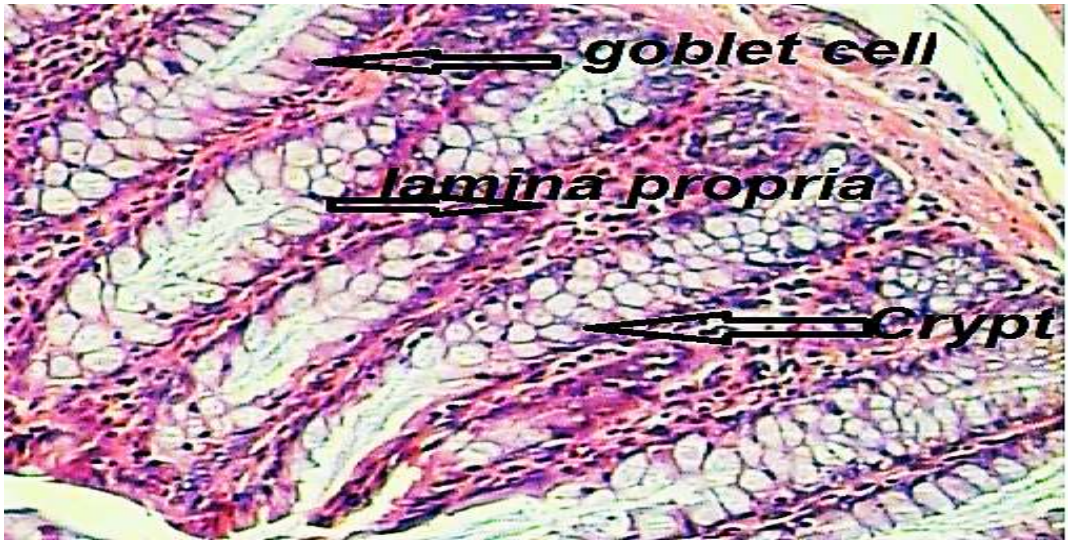
لدى مقارنة نسبة حدوث الأورام عند مجموعات الحيوانات الست (الشكل 1) كانت النسب صفراً لدى مجموعة الشواهد (الأولى) والمجموعتين الثانية والثالثة ووصلت إلى 80% لدى المجموعة الرابعة حيث تعرضت 16 فرد من الهامستر للأورام السرطانية ، أي أدت إلى ارتفاع ذو دلالة إحصائية (***= $p<0.001$) (التي حقنت بمادة (DMH) وانخفضت إلى 35% في المجموعة الخامسة (7أفراد من أصل 20 فرد) المعالجة بخلاصة الزنجبيل لمدة أسبوع قبل البدء بحقن المادة المسرطنة (40 ملغ/كغ) ثم أعطيت هذه المادة بنفس الجرعة بالتزامن مع خلاصة الزنجبيل (80 ملغ/كغ) أي ارتفعت مقارنة بالمجموعة الشاهد (* = $p<0.05$). فيما انخفضت نسبة حدوث الأورام إلى 15% في المجموعة السادسة (3 أفراد من أصل 20 فرد) التي جرعت بمستخلص الزنجبيل بتركيز (220 ملغ/كغ) متزامنا مع الحقن بمادة (DMH) أي لم يكن الارتفاع ذو دلالة إحصائية .



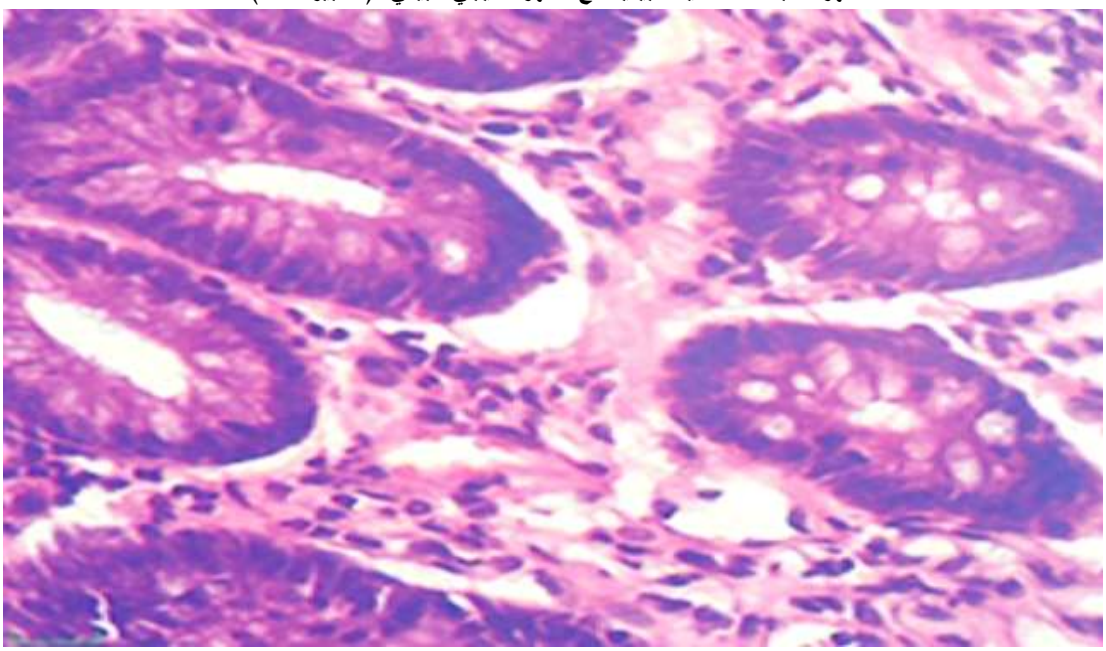
الشكل رقم (7): مقارنة نسبة حدوث الأورام السرطانية في قولون المجموعات الستة (نلاحظ ارتفاع نسبة الإصابة في حيوانات المجموعة الرابعة وانخفاضها في المجموعة السادسة)

التبدلات النسيجية في مقاطع قولونات مجموعات الحيوانات المختلفة

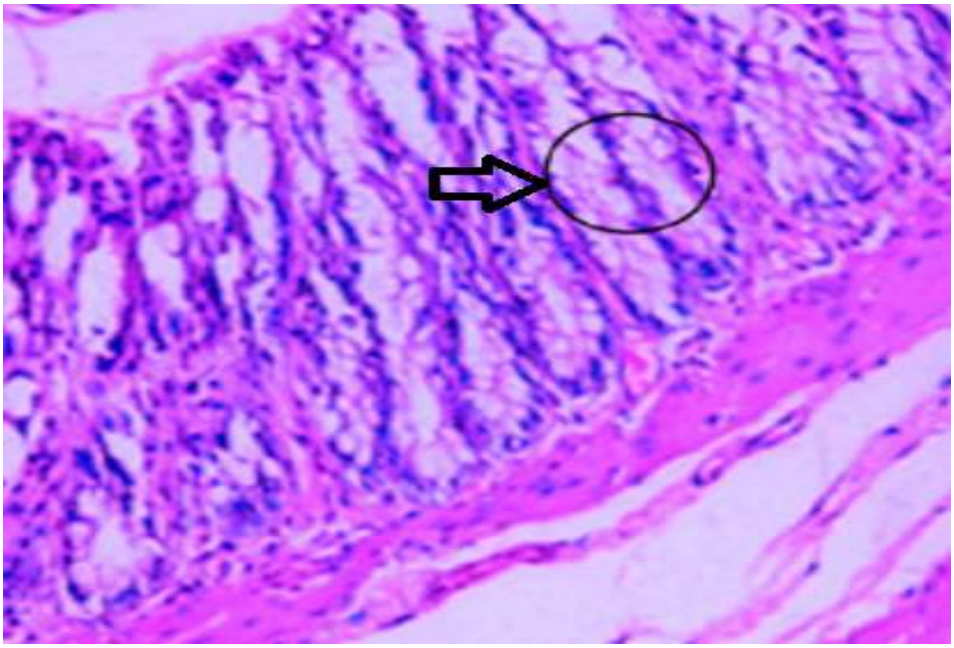
المجموعة الأولى من الحيوانات الشاهدة أظهرت مظهراً طبيعياً للبنية الغدية (الشكل 8). كانت خلايا الظهارة المبطنة للقولون في الحيوانات التي عولجت بالزنجبيل فقط (المجموعة الثانية والثالثة) طبيعية المظهر دون أي تشوهات حيث نلاحظ النسق الخلوي الطبيعي للنسيج الظهاري المبطن للقولون كالطيات والبؤر وظهور الخلايا الظهارية بشكلها الطبيعي فضلا عن ترتيب الغدد بشكل منتظم (الشكل 9-10). أما مجموعة الحيوانات التي حقنت بالمادة المسرطنة Dimethyl Hydrazine 2,1 بتركيز (40 ملغ/كغ (المجموعة الرابعة) فقد أظهرت نمواً مفرطاً لجريبات الخلايا الظهارية مع تبدلات ورمية وتكاثر للخلايا السرطانية في منطقة تحت المخاطية مع نوى متضخمة وزيادة مؤشر الانقسام وانتفاخ في الغدد مع فرط التنسج في بؤر الخبايا الشاذة للطبقة المخاطية في القولون واصبحت الأنوية متعددة الاشكال (pleomorphic) مع زيادة كثافة الكروماتين فيها.



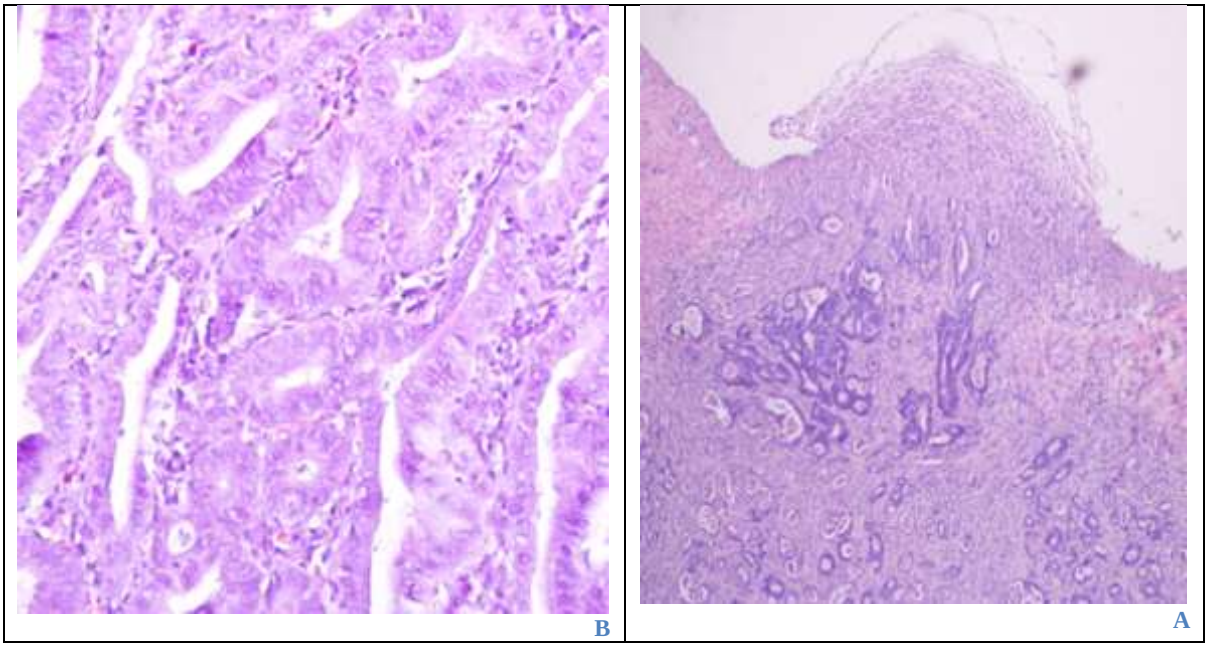
الشكل(8) صورة مجهرية لمقطع في قولونات مجموعة الحيوانات الشاهدة الطبيعية (المجموعة الأولى) تظهر شكلاً طبيعياً للبنية الغدية. تظهر الطبقة المخاطية طبيعية مع مظهر نسيجي طبيعي. (التكبير x40).

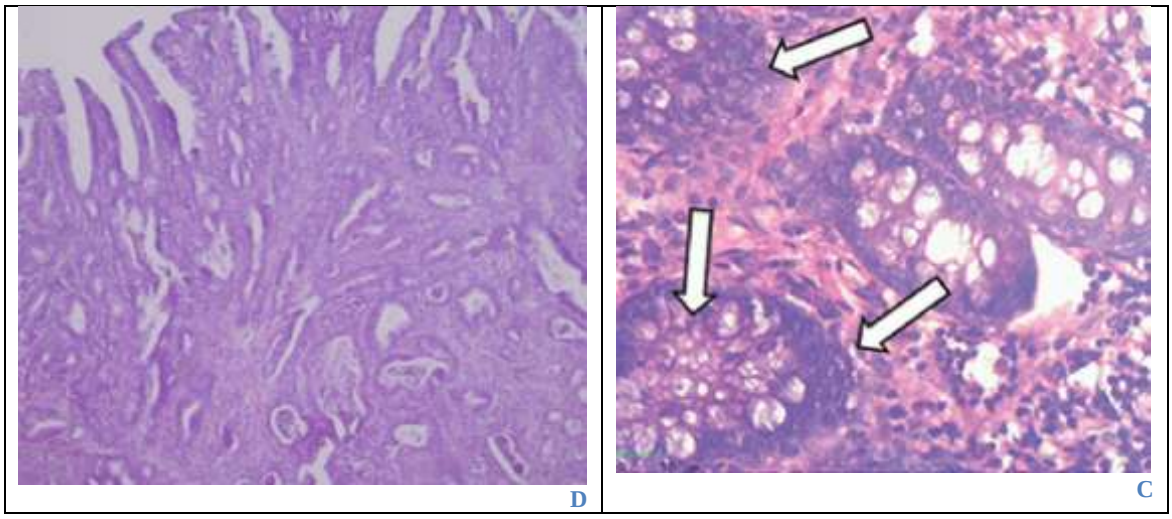


الشكل (9) صورة مجهرية لمقطع في قولونات مجموعة الحيوانات المعالجة بالزنجبيل (المجموعة الثانية) تظهر شكلاً طبيعياً للبنية الغدية. (التكبير x40).

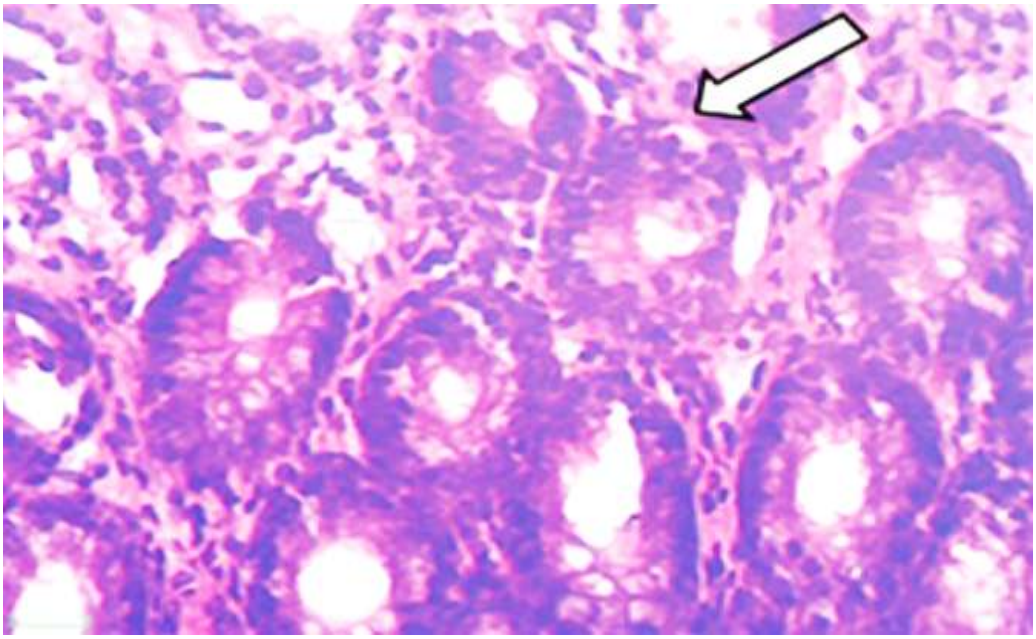


الشكل(10) صورة مجهرية لمقطع في قولونات مجموعة الحيوانات المعالجة بالزنجبيل (المجموعة الثالثة) تظهر شكلاً طبيعياً للبنية الغدية. (التكبير 10x).

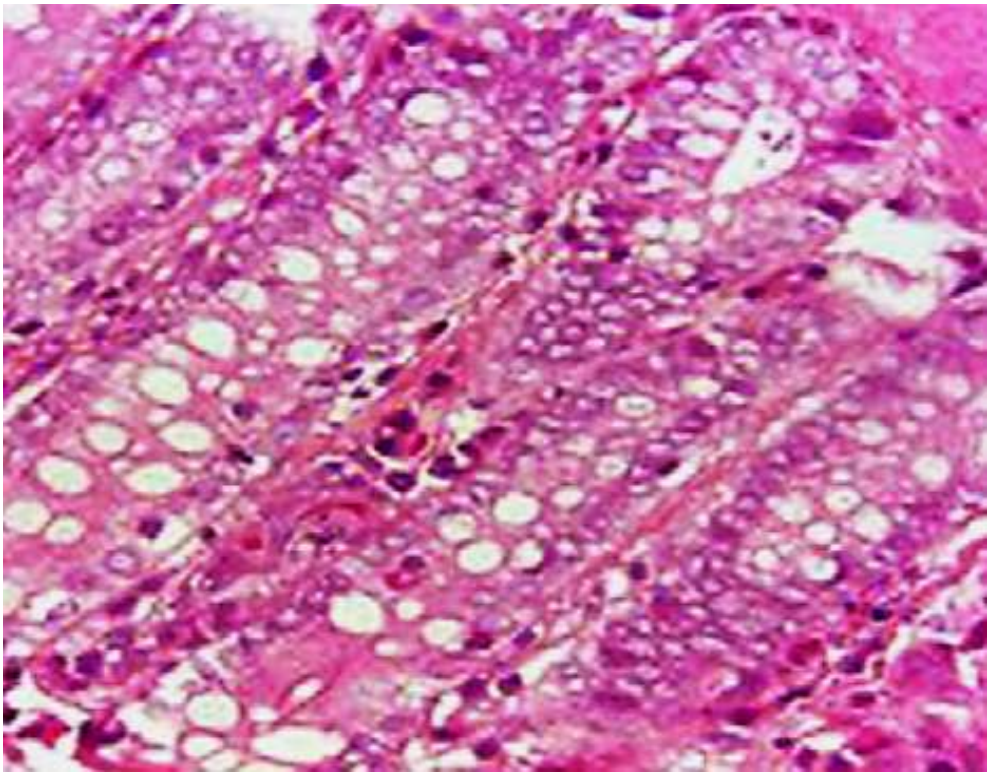




الشكل (11): صور مجهرية لمقاطع في قولونات مجموعة الحيوانات المعالجة بالمادة المسرطنة Dimethyl Hydrazine 2,1 بتركيز (40 ملغ/كغ (المجموعة الرابعة) نلاحظ الانوية متعددة الاشكال (pleomorphic) وزيادة كثافة المادة الكروماتينية وزيادة فعالية الانقسام الخلوي مع شذوذ في الخلايا A: ارتشاح خلايا الطبقة العضلية بالغدد الشاذة (التكبير x10) B: سرطان غدي carcinoma متوسطة التمايز. (التكبير x40) C: Dysplasia من الدرجة الثالثة حيث نلاحظ الخلايا الداكنة متراكبة على عدة طبقات مع فرط الكروماتين (التكبير x40)، D: سرطان غدي Carcinoma درجة أولى نلاحظ إرتشاح الطبقة تحت المخاطية بغدد شاذة ذات أشكال وأحجام مختلفة (التكبير x10)



الشكل (12) صورة مجهرية توضح تحسن نسيج القولون في حيوانات المجموعة الخامسة (التكبير x40)



الشكل (13) صورة مجهرية لمقطع في قولونات مجموعة الحيوانات المعالجة بخلاصة الزنجبيل لمدة أسبوع قبل البدء بحقن المادة المسرطنة (40 ملغ/كغ) ثم تعطى هذه المادة بنفس الجرعة بالتزامن مع خلاصة الزنجبيل (220 ملغ/كغ) (المجموعة السادسة). (التكبير x40). المظهر النسيجي مشابه لمظهر قولون الهامستر الطبيعية الشاهدة.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية دورا وقائيا للمستخلص المائي لنبات الزنجبيل ضد سرطان القولون المستحدث بفعل مادة (DMH) بعد حقنها صفاقيا عن طريق البطن بتركيز 40 ملغ/كغ ،حيث يتعرض البشر لمشتقات الهيدرازين من خلال التلوث البيئي(Kaur *et al*., 2017) وتلوث الغذاء في الحياة اليومية (Frazier, Tarr *et al*. 1991)

و تفترض هذه الدراسة أن مادة ثنائي ميثيل الهيدرازين مادة مسببة للسرطان لها القدرة على إحداث سرطان القولون. حيث أنه طليعة مادة مسرطنة procarcinogen (Siri *et al*., 2019) يتم تنشيطه استقلابيا في الكبد عن طريق خطوات متتالية من التفاعلات المتتالية من خلال مواد وسيطة مثل azoxymethane (AOM) و methylazoxy methane (MAM) وأخيراً إلى مستقلب ميثيل ديازونيوم المسرطن. يتم نقل هذه المادة المسرطنة النشطة إلى القولون عن طريق الصفراء والدم. حيث توافقت نتائج البحث مع أبحاث أخرى أكدت سمية مادة Dimethylhydrazine في تكوين أيون الميثيلديازونيوم في جسم الفئران الذي يؤدي إلى تلف الحمض النووي DNA واحداث الطفرات (Perše and Cerar ,2011).

تظهر هذه الدراسة أن مجموعة الحيوانات الشاهدة والتي لم تعط شيئاً (الاولى) أو أعطيت الزنجبيل فقط (الثانية والثالثة) لم تطور اي أورام إن اعطاء الزنجبيل فقط لم يسبب أي تأثيرات جانبية(Chang et al.,2015) . بينما طور 80% من حيوانات المجموعة الرابعة التي اعطيت المادة المسرطنة أوراماً قولونية اي انه مسرطن بشكل مؤكد.

وانخفضت نسبة حدوث الأورام إلى 35% في المجموعة الخامسة والى أكثر إلى 15% في المجموعة السادسة المعالجة خلاصة الزنجبيل لمدة أسبوع قبل البدء بحقن المادة المسرطنة (40 ملغ/كغ) ثم أعطيت هذه المادة بنفس الجرعة بالتزامن مع خلاصة الزنجبيل (220 ملغ/كغ). يشير ذلك إلى أن اعطاء خلاصة الزنجبيل قبل البدء بإعطاء المادة المسرطنة كان ذا تأثير إيجابي وقائي وقلل من نسبة حدوث الأورام بشكل واضح. كما أن هذا التأثير الوقائي لتطوير سرطانات القولون كان مرتبطاً بجرعة خلاصة الزنجبيل (Katiyar, *et al.* 1996). حيث لوحظ تحسن البنية النسيجية لحيوانات المجموعة الأخيرة التي جرعت بخلاصة الزنجبيل متزامنا بحقنها بمادة (DMH Klatt *et al.*, 2021) تقدِّم نتائج هذه الدراسة أسلوباً فعّالاً قد يكون من الممكن الاستفادة منها في الوقاية الأوليّة من سرطان القولون عند البشر في المستقبل القريب(Prasad *et al.*,2015).

كما يمكن أن تلعب خلاصة الزنجبيل دوراً محتملاً في إزالة سُميّة المادة المسرطنة من خلال تثبيط الأنزيمات الكبدية المسؤولة عن استقلاب المادة المسرطنة (Bhattacharyya *et al.*,2014)، وقد يكون لذلك دورٌ بارزٌ في تفسير فعاليتها في الوقاية من تسرطن القولون (Tuntiwechapikul et al.,2010) وذلك عبر مساهمتها في إنقاص كمية مستقلب المادة المسرطنة وهو Azoxymethane الذي يُعتبر الشكل الفعال القادر على إحداث الطفرات التي تؤدي إلى تشكل أورام القولون. (El-Najjar *et al.*,2010)

الاستنتاجات والتوصيات :

1-يؤدي الحقن بمادة dimethylhydrazine 2-1 إلى أضرار نسيجية تجلت بمظاهر سرطانية في قولون الهامستر السوري

2-تظهر الدراسة الحالية الدور الوقائي للمستخلص المائي لنبات الزنجبيل ضد سرطان القولون المستحدث بمادة (DMH)

3- تجلت القدرة الوقائية لنبات الزنجبيل ضد الإجهاد التأكسدي حسب تركيز الجرعة المستخدمة من المستخلص النباتي .

References:

1-AKRAM, M; AND NAWAZ, A. *Efeect of medicinal plants on Alzheimer`s disease and memory deficits.* Neural Reqen. Res., Vol, 12(4), 2017.660-670.

2-AMIN, A; HAMZA, A. *Hepatoprotective effects of hibiscus, rosemarinus and salvia on azathioprine-induced toxicity in rats*. Life Sciences;77,2005, 266-278 .

3-BAK MJ, OK S, JUN M, JEONG WS. *6-Shogaol-Rich Extract From Ginger Up-Regulates the Antioxidant Defense Systems in Cells and Mice. Molecules*.;17 ,2012:8037–55.

4-BHATTACHARYYA, A ; CHATTOPADHYAY, R ; SANKARMITRA; AND SHEILA, E. . *Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases*. Physiol Rev. Vol 94(2), 2014,329–354.

5-BLACK, C. D., M. P. HERRING, D. J. HURLEY AND P. J. O'CONNOR. "*Ginger (Zingiber officinale) reduces muscle pain caused by eccentric exercise.*" J Pain **11**(9), 2010,894-903,

6-CHANG, K. W. AND C. Y. KUO. "6-Gingerol modulates proinflammatory responses in dextran sodium sulfate (DSS)-treated Caco-2 cells and experimental colitis in mice through adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activation." Food Funct **6**(10) 2015, 3334-3341

7-EL-NAJJAR, N., *ALI ,S*. Reactive oxygen species mediate thymoquinoneinduced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis*; 15, 2010,183–195.

8-FRAZIER, D. E., JR., M. J. TARR AND R. G. OLSEN. "The in vitro and in vivo effects of 1,1-dimethylhydrazine (UDMH) on murine lymphocyte subsets and Ia antigen expression." Immunopharmacol Immunotoxicol **13**(1-2), 1991,25-46.

9-GHOSH, D; MITRA, E; DEBASIS, M; PADHYAY, B. *Protective Effect of Aqueous Leaf Extract Of MurrayaKoenigiAgainst Lead Induced Oxidative Stress In Rat Liver, Heart And Kidney: A Dose ResponseStudy*. Asian J. pharmaceutical and clinic research, Vol 5 (4), 2015,54-58.

10-KATIYAR, S. K., R. AGARWAL AND H. MUKHTAR. "Inhibition of tumor promotion in SENCAR mouse skin by ethanol extract of Zingiber officinale rhizome." Cancer research **56 5**,1996, 1023-1030.

11-KAUR, I. P., P. K. DEOL, K. K. KONDEPUDI AND M. BISHNOI. "*Anticancer Potential of Ginger: Mechanistic and Pharmaceutical Aspects."* Curr Pharm Des **22**(27), 2016,4160-4172.

12-KIM, M.P.; LOZANO, G .*Mutant p53 partners in crime. Cell Death Differ.*, 25, 2017,161–168,. [CrossRef] [PubMed]

13-KLATT, E. C R S L C R, S. Robbins & Cotran atlas of pathology.223(2) , 2021,221-300.

14-MANISH, M. M ; MOHAMMAD, R. M; KHIEM T, K; SEKHAR, P; REDDY,S.R; AND ASRAR B, A.B .*Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury.* Antioxid Redox Signal. Vol 20(7), 2014,1126–1167,.

15-PERŠE, M. AND A. CERAR). "Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats." J Biomed Biotechnol 2011: 473964, 2011

16-PRASAD, S. AND A. K. TYAGI . "*Ginger and its constituents: role in prevention and treatment of gastrointestinal cancer*." Gastroenterology research and practice 2015: 142979-142979.

17-SAKR,S.A . *Ameliorative effect of ginger (Zingiberofficinale) on mancozeb fungicide induced liver injury in albino rats.* Australian J. Basic Appl. Sci., 1(14), 2007,650-656.

18-SIRI, S.; MAIER, F.; SANTOS, S.; PIERCE, D.M.; FENG, B). *Load-bearing function of the colorectal submucosa and its relevance to visceral nociception elicited by mechanical stretch. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*., 317, 2019,G349–G358. ([CrossRef]

19-TUNTIWECHAPIKUL, W., T. TAKA, C. SONGSOMBOON, N. KAEWTUNJAI, A. IMSUMRAN, L. MAKONKAWKEYOON, W. POMPIMON AND T. R. LEE "Ginger extract inhibits human telomerase reverse transcriptase and c-Myc expression in A549 lung cancer cells." J Med Food **13**(6), 2010,1347-1354.