مقاله پژوهشی

بررسی اثرتوکسیسیته عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول های سرطانی کبد

دکتر جلیل توکل افشاری*، نسرین محقی**، اعظم بروک***

دریافت : ۸۹/۲/۱۸ ، پذیرش : ۸۹/۵/۲۶

چکیده:

مقدمه و هدف: بطور کلی عصاره بسیاری از ادویه ها اثرات بالای مهار کنندگی (سایتوتوکسی سیتی) بر کشت سلولهای توموری نشان داده اند.زنجبیل گیاهی طبی بوده و مطالعات اخیر نشان میدهد که دارای خواص آنتی توموری، ضد قارچ ،حشره کشی و anti ulcer میباشد.با اینحال تاثیرات آنتی توموری آن برروی رده سلول سرطان کبد انجام نشده است .لذا در این مطالعه اثر آنتی توموری عصاره الکلی آن مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی سلول های HepG2 و سلولهای نرمال(L929) در محیط DMEM حاوی سرم جنین گاو و آنتی بیوتیک کشت گردیدند. سپس سلولها با رقت دو گانه از غلظت ۵۰۰۰ تا ۷۸،۱۲۵ میکروگرم/میلی لیتر به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شدند و زیست پذیری (Viability) سلولها به روش MTT تعیین گردید.

نتایج: نتایج تستMTT بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم/میلی لیتر نشان داد که ۵۰٪ سلولها نسبت به گروه کنترل (L929) زنده بودند($p<0.001$) ، ولی سلولهایL929 از نظر مورفولوژی سالم و زنده بودند. لذا IC50 در حدود غلظت ۲۵۰۰در نظر گرفته میشودنتایج مرفولوژی نشان می دهد که سلولهای L929 تحت اثر عصاره هیچگونه تغییرات مرفولوژیکی مشخصی نسبت به سلولهای کنترل (بدون عصاره) ندارد.مقایسه نتایج مرفولوژیکی در سلولهای سرطانی (He pG2) در روزهای مختلف نتایج مهمی را نشان می‌دهد. سلولهای تحت اثر عصاره در روزهای مختلف تفاوتهای بسیار بارز و وابسته به دوزی نشان دادند . بطوریکه بتدریج و با افزایش زمان و در دوزهای بالاتر تغییر شکل سلولی بسیار واضح‌تر بود . مهار رشد سلولها ، تحلیل رفتگی و افزایش اندازه واکوئل ، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانته شدن هسته قابل مشاهده بود.

نتیجه نهایی: با توجه به اینکه عصاره الکلی زنجبیل خواص سیتوتوکسیسیته در سلولهای سرطانی داشته ولی با اینحال اثرات سمی در سلولهای نرمال ندارد، از آن می توان به عنوان یک ماده در درمان سرطان استفاده کرد.

کلید واژه ها: زنجبیل / سرطان کبد / سمیّت

مقدمه :

هپاتوسل کارسینوما (Hcc) یک نوع سرطان کبدی می باشد که اکثراً پس از ابتلاء فرد به هپاتیت ویروسی B وC و یا سیروز که در بیشتر موارد بعلت مصرف الکل می باشد رخ می دهد (۱). هپاتو سل کارسینوما مانند سرطانهای دیگر زمانیکه یک موتاسیون در ماشین سلولی رخ دهد و منجر به تکثیر بی رویه سلولها شود و یا ناشی از پرهیز سلول از پدیده آپوپتوزیس باشد بوجود می آید. در مورد هپاتیتهای BوCعلت عمدهHcc حمله سیستم ایمنی خود فرد به سلولهای کبدی که آلوده به ویروس هستند میباشد.

در امریکای شمالی و اروپای غربیHcc بیشتر به علت متاستاز تومور از سایر ارگانها می باشد(۱) در حالیکه در جنوب آسیا و چین دومین سرطان شایع کشنده می باشد ومطالعات اپیدمیولوژیک رابطه نزدیکی بین ابتلا به عفونت هپاتیتB و این بیماری را نشان داده است(۲).

در بیماران مزمن هپاتیتB ابتلا به Hcc ۱۰۰برابر بیشتر از افراد غیر مبتلا می باشد و اکثر بیماران‌Hcc سالها

* دانشیار گروه ایمونولوژی و عضو مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** کارشناس ارشد ایمونولوژی ، مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد(moheghin1@mums.ac.ir)

*** کارشناس ارشد بیوشیمی ، مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

Archive of SID

www.SID.ir

پس از ابتلا به هپاتیت کرونیک تحت تاثیر عوامل موتاژنیک محیط یا تغییرات ژنتیک تصادفی که رخ می دهند مبتلا به Hcc میگردند. یک مطالعه در تایوان نشان داده است که واکسیناسیون هپاتیت Bدر کودکان سبب کاهشHcc می گردد(۳). مطالعات حاکی از این است که ریسک بیماریHcc در حال افزایش بوده و در کل جهان به ۵ میلیون در سال رسیده است(۴).

گیاه زنجبیل بعنوان دارو ، ادویه و خوراک لذیذ در دنیا استفاده می گردد این ریزوم از گیاه Zingiber Officinale تهیه می گردد. کشت گیاه زنجبیل ابتدا در آسیا بوده که سپس به افریقای غربی و سپس کارائیب گسترش یافته است(۵). بو و طعم خاص زنجبیل ناشی از مخلوط (zingerone وshogaols وgingerols) روغن های فراری است که ۳٪ وزن زنجبیل تازه را تشکیل می دهند. در حیوانات آزمایشگاهی gingerols ها سبب افزایش تحریک لوله گوارش گردیده و ضد درد ،مسکن تب برو خاصیت ضد باکتریایی دارند(۶). چربی زنجبیل در موش ضد سرطان نشان داده شده است(۷) و مطالعات دانشگاه میشیگان خاصیت کشندگی gingerols را بر سلولهای سرطان تخمدان نشان داده اند(۸). زنجبیل شامل بیش از سه درصد از چربی های اسانسی معطر است که ترکیب اصلی سسکوئی ترپن ها را دارا می باشند که zingerone ترکیب اصلی آن می باشد. مقدار کمتری از سسکوئی ترپن ها و farnesene و مقادیر کمی از مونوترپنوئیدها و citral نیز در آن وجود دارد. طعم تند آن ناشی از فنیل پروپانوئید غیر فرار و تا حدی gingerols و shogaols می باشد که در هنگام طبخ و خشک شده گیاه وجود دارد. همچنین یک ترکیب شیمیایی محرک بوده و به این دلیل در جنگ های قدیم استفاده میشده است. زنجبیل خاصیت بزاق آور داشته و سبب تحریک تولید بزاق و در نتیجه عمل بلع را آسان می نماید. در طب کاربرد فراوانی داشته و بعنوان یک محرک و داروی ضد نفخ بوده و در کولیک و سوئ هاضمه استفاده فراوان می شود. همچنین جهت بر طرف کردن بوی بد برخی از دارو ها استفاده می گردد.زنجبیل در لیستFDA بعنوان داروی معمولاً سالم (safe) معرفی گردیده است و با داروی وارفارین تداخل دارد. در افرادی که از سنگ کیسه صفرا رنج می برند تداخل داشته و سبب افزایش تولید صفرا می گردد(۸).

در این مطالعه به بررسی اثر کشندگی عصاره الکلی زنجبیل تازه برسلولهای سرطان کبد (HEPG2) پرداخته شده است.

روش کار:

تهیه عصاره زنجبیل: در این مطالعه تجربی ریزوم زنجبیل پس از پوست کندن رنده شده و مقدار۵گرم از آن با ۱۰ میلی لیتر از محلول الکل اتیلیک۹۶ درجه مخلوط گشته و به مدت ۳۰ دقیقه سونیکه گردید ، سپس از صافی گذرانده شده و در حرارت اتاق خشک گردید.عصاره خشک وزن شده و غلظت مورد نظر در محیط کشت DMEM تهیه شد. این محلول از فیلتر ۰/۲ میکرو متر عبور داده شد و استریل گردید. رقت دو گانه از غلظت ۵۰۰۰ تا ۱۲۵ ، ۷۸میکروگرم/ میلی لیتر از عصاره تهیه گردید و در پلیتهای ۹۶ تایی با تعداد سلولهای ۵۰۰۰ به مدت ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شد و اثرات عصاره بر زنده بودن سلولها از نظر مورفولوژیک وبا استفاده از تستMTT بررسی گردید.

کشت سلول: سلولهای HEPG2 و L929 از انستیتو پاستور ایران ـ تهران تهیه گردید ، سپس در محیط DMEMبه همراه ۵٪ سرم جنین گوساله(FCS) ،پنی سیلین ۱۰۰ یونیت/میلی لیتر و استرپتو مایسین ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر کشت گردید. سلولها در انکوباتور ۳۷ درجه در رطوبت ۹۰ درصد و CO2 5% قرار گرفتند. سلولهای L929 در FCS 10% قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت ، ۴۸ ساعت و۷۲ ساعت سلولها در معرض عصاره الکلی در رقت دو گانه از غلظت۵۰۰۰ تا ۱۲۵ ، ۷۸ میکروگرم/میلی لیتر قرار گرفت. همزمان نمونه کنترل فاقد عصاره نیز بصورت سه تایی مانند نمونه های حاوی عصاره در نظر گرفته شد.

بررسی زنده بودن سلولها: زنده بودن سلولها توسط تست MTT [۳،۴،۵ دی متیل تیازول ۲ یل ۲،۵ دی فنیل تترازولیوم (۹)] مورد ارزیابی قرار گرفت. بطور خلاصه سلولها به تعداد ۵ هزار در هر ول ۹۶ تایی پلیت سلولی قرار گرفت و در زمانهای۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و۷۲ ساعت پس از اضافه کردن عصاره به سلولها محیط کشت رویی دور ریخته شد و سلولها در محلولMTT (۵ میلی گرم/ میلی لیتردر PBS) به مدت ۴ ساعت قرار گرفت و پس از محلول سازی فرمازان توسط DMSO(Dimethylsulfoxid) ۱۰۰ میکرولیتر جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر (رفرانس ۶۲۰ نانومتر) توسط دستگاه خوانده شد(stat fax 2000 USA).

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی آماری: نتایج آماری با اسـتفاده از آنـالیز بنفرونـی و نرم افزار آماری SPSS بدست آمد

نتایج:

اثرات عصاره الکلی بر زیست پـذیری سـلولی(Viability): نتایج مرفولوژی نـشان مـی دهـد کـه سـلولهای سـرطانی نسبت به غیـر سـرطانی تیمـار شـده بـا عـصاره زنجبیـل تغییرات مرفولـوژیکی داشـته اسـت. تـأثیرات اثـر عـصاره وابسته به دوز و زمان، قابل مشاهده بود.

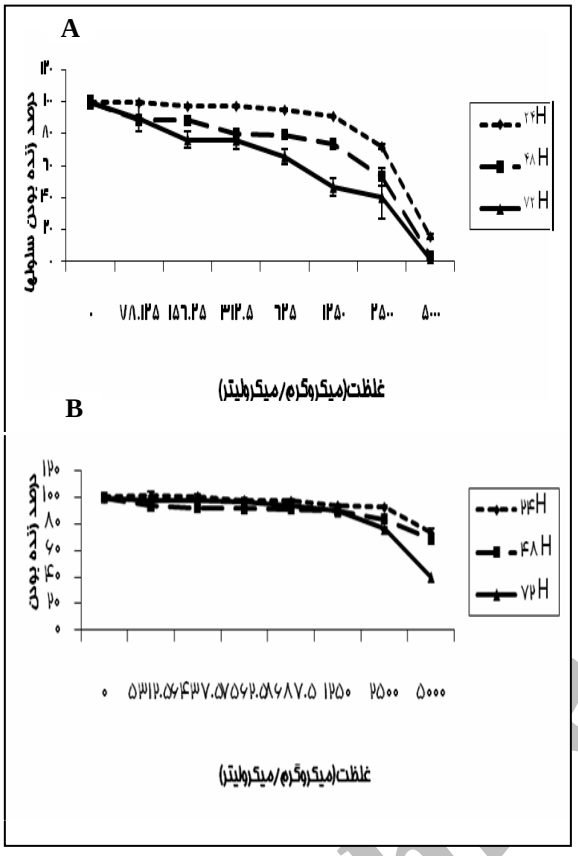
تغییرات مورفولـوژی در سـلولهای سـرطانی بـصورت مهار رشد سـلولها و تغییـر چـسبندگی سـلولها بـه سـطح فلاسک و سلولها به یکدیگر و ایجاد مورفولـوژی سـتاره‌ای شکل ، تغییرات در شکل دیـواره سـلولی ، کـاهش سـطح سلولی و پیگمانته شدن سلول همـراه بـود. ایـن تغییـرات مورفولوژیک مشاهده شده بیانگر القای مرگ برنامه ریـزی شده سلول (آپوپتوزیس) در سلولهای سرطانی تیمار شـده با زنجبیل میباشد که در سلولهای غیر سـرطانی مـشاهده نگردید.

سلولهای تحت اثر عصاره در روزهای مختلف تفاوتهای بسیار بـارز و وابـسته بـه دوزی بـا یکـدیگر نـشان دادنـد. با افزایش زمان و افزایش دوز تغییـر شـکل سـلولی بـسیار واضح بود و این تغییرات در سلولهای HEPG2 تا زمان ۴۸ ساعت مشاهده گردید. تغییـرات مورفولـوژی در سـلولهای HEPG2 در زمان۴۸ ساعت بیشترین اثرات سایتوتوکسیک قابـل مـشاهده بـود. عـصاره زنجبیـل در سـلول هـای غیر سرطانی (L929) تاثیر چندانی نداشت.

نتایج سنجش رنگ MTT با اندازه گیری جذب نـوری (OD) بر اساس غلظت عصاره مورد استفاده در مقایـسه بـا میزان تکثیر مولکولی بـصورت رسـم نمـودار بدسـت آمـد. درصد سلولهای زنده تحت اثر عصاره نسبت بـه سـلولهایی که عصاره‌ای دریافت نکرده بودند با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید :

$$\frac{\text{جذب نوری سلولهای تیمار شده با عصاره در هر ول}}{\text{میانگین جذب نوری سلولهای کنترل}} \times ۱۰۰$$

نتایج با استفاده از آنالیز آماری بدست آمد که نمودارها اثر عصـاره را پـس از ۲۴ ، ۴۸ سـاعت و ۷۲ سـاعت بـر روی سلولها نشان می‌دهد. نتایج آماری نشانگر آنست که عصاره الکلی بـرروی سـلولهای نرمـال اثـری نـدارد ولـی بـرروی سلولهای سرطانی با توجه به دوز ماده موثر و زمان تاثیـر، اثر مهارکنندگی دارد. نتایج همچنـین بیـانگر ایـن مطلـب است که بعد از ۴۸ ساعت در غلظت۲۵۰۰، ۵۰٪ سلولهای HEPG2 نسبت به گروه کنتـرل(L929) زنـده بودنـد. لـذا IC50 در حدود غلظـت ۲۵۰۰ در نظـر گرفتـه مـی شـود (شکل ۱).



شکل ۱: A : نمودار تأثیر عصاره بـر روی سـلول HEPG2 بـا غلظت‌های مختلف پس از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ساعت با روش MTT را نشان می دهد. B : نمودار تأثیر عصاره بر روی سلول L929 با غلظت‌هـای مختلـف پـس از ۲۴ ،۴۸ و ۷۲سـاعت بـا روش MTT را نشان می دهد

بحث:

گیاهـانی کـه درخـانواده زنجبیـل قـرار دارنـد بطـور چـشمگیری در رژیـم غـذایی افـراد در دنیـا قراردارنـد. اولئورزینی که از ریشه گیاه زنجبیل تهیه میشود حـاوی gingerol است که یک ماده فعال از نظرفارماکولوژیک می باشد. همچنین تاثیر این مواد بر ممانعت از تکثیر سلولهای سـرطان انـسانی از مـسیر آپوپتـوزیس بـه اثبـات رسـیده است(۱۳-۱۰) با این وجود هنوز آنالیزمکانیسمهای ملکولی خاصیت ضد سرطانی آنها بطور وسیع انجام نشده است.

بسیاری از گیاهـــان و ادویه جات دارای خاصیـــت

Archive of SID

www.SID.ir

فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل خاصیت آنتی اکسیدانی ضد التهاب داشته که به نظر میرسد در فعالیت های آنتی کارسینوژنیک و آنتی موتاژنیک دخالت دارند. با توجه به اینکه پیشرفت تومور ارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضد التهابی یا آنتی اکسیدانی داشته باشد میتواند یک عامل آنتی کارسینوژن باشد(۱۴).

تاکنون بیش از ۵۰ نوع آنتی اکسیدان از ریزوم زنجبیل جدا گردیده است ، [6]-gingerol عمده ترین آنها میباشد که مزه تندی داشته و خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد.تحریک اثر مهاری پراکسیداسیون فسفولیپیدی در سیستم FeCl اسکوربات به اثبات رسیده است(۱۵).

[6]-gingerol اثر مهاری روی سیستم گزانتین اکسیداز دارد (۱۶) که مسئول تولید انواع اکسیژن فعال نظیر آنیون های سوپر اکسید می باشد. در مطالعه دیگری اثر مهاری این ماده بر آراشیدونیک اسید هایی که سبب اگریگیشن پلاکتها و تشکیل ترومبوکسان B2 و پروستاگلاندین D2 به اثبات رسیده است.

Gingerol وshogaol و ترکیبات ساختمانی مشابه آنها در زنجبیل از بیوسنتز لوکوترینها و پروستاگلاندینها با مهار کردن مسیر۵-لیپو اکسیژناز و پروستاگلاندین سنتتاز جلوگیری می نمایند(۱۷).

خاصیت عصاره های زنجبیل برمهار و جلوگیری از گسترش سرطان پوست در موش به اثبات رسیده است و این امر به دلیل ترکیبات vanillyl ketones آن نظیر [6]-gingerol وparadol[6] می باشد(۱۱).

پارک و همکارانش گزارش کردند که استفاده موضعی از [6]-gingerol وparadol[6] ۳۰ دقیقه قبل از TPA باعث تضعیف papilomagenesis اولیه توسط DMBA در موش ICR ماده گردید و بطور واضح مانع تحریک پروموتوری تومور می گردد(۱۸). عصاره های الکلی زنجبیل نیز دارای این خاصیت هستند(۱۹). همچنین خاصیت chemopreventive ماده Gingerol در Rat و کاهش کارسینوژنز در سیستم گوارش به اثبات رسیده است(۲۰). عصاره های استنی زنجبیل نظیر zingiberene و همچنین اثر مهاری [6]-gingerol بطور چشمگیری در زخم معده در Rat گزارش گردیده است(۲۰).

در مطالعه دیگری اثرات مهاری Gingerol در رشد سلولهای سرطان کولون انسان گزارش شده است(۲۱) و این اثرات بر مراحل اولیه کارسینوژنز کولون توسط ماده DMH در حیوان Wistar Rat نیز گزارش شده است(۲۲) که موجب کاهش بروز تومور می گردد.تجویزخوراکی عصاره آبی زنجبیل در موش اثر مهاری بر تومور تخمدان داشته است(۲۳). اثر مهاری Gingerol بر ممانعت از متاستاز سرطان ریه در موش بررسی گردید و احتمالاً این اثر از طریق تحریک عملکرد سیستم ایمنی میزبان پیشنهاد گردیده است(۲۴) همچنین Gingerol دارای اثر آنتی آنژیوژنیک بوده و مانع از رشد تومور و متاستاز آن میگردد (۲۵) زنجبیل درسلولهای Hep2 از طریق افزایش تولید انواع اکسیژن فعال، سبب آپوپتوزیس می گردد(۲۶). همچنین موجب آپوپتوزیس در سلولهای سرطان تخمدان در موش می شود(۲۷).

نتیجه نهایی:

در این مطالعه مشخص گردید که عصاره الکلی تازه تهیه شده از ریزوم تازه زنجبیل اثر کشندگی بر سلولهای سرطانی کبد(HepG2) داشته و تغییرات مورفولوژی مشاهده شده بیانگر القای مرگ برنامه ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) در سلولهای سرطانی تیمار شده با زنجبیل می باشد (در صورتیکه این تغییرات مورفولوژی در سلولهای غیر سرطانی مشاهده نگردید) لذا استفاده روزانه آن بصورت خوراکی بخصوص در افرادی که در مناطق با احتمال ابتلا بالاتر به این بیماری هستند توصیه میگردد. به نظر می رسد عصاره زنجبیل خواص سیتوتوکسیسیته در سلولهای سرطانی داشته ولی با اینحال اثرات سمی در سلولهای نرمال ندارد.مطالعات بیشتری در اثبات آن ونحوه تاثیر این ماده بر سلول های سرطانی لازم است انجام گردد.

سپاسگزاری:

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات طرحهای پژوهشی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد پرداخت شده است که بدینوسیله قدردانی می گردد.

منابع :

1. Kumar V, Fausto N, Abbas A. Robbins & Cotran pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2003: 914–7
2. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22707 men in Taiwan. Lancet 1981; 2: 1129–1133.
3. Chang MH, Chen CJ, Lai MS, Hsu HM, Wu TC, Kong MS. Universal hepatitis B vaccination in

Archive of SID
www.SID.ir

Taiwan and the incidence of hepato- cellular carcinoma in children. N Engl J Med 1997; 336: 1855−1859.
4. Chang G, Roth CB. Structure of MsbA from E. coli: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. Science 2001; 293: 1793-1800.
5. Spices: Exotic Flavours & Medicines: Ginger. Retrieved 2007-08. Available From: Spice Exhibit URL: http://unitproj.library.ucla.edu/ biomed/spice/index.cfm
6. O' Hara M, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. Arch Fam Med 1998; 7 (7): 523–536.
7. Levin R. Glorious ginger: Root out ailments with this ancient spice published. Available from URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Ginger
8. Al-Achi A. A current look at ginger use. Retrieved 2007-08-02.Available From: URL: http:// www.uspharmacist.com/oldformat.asp?url=newlook/files/Comp/ginger2.htm&pub_id=8&article_id=772.
9. Masada Y, Inoue T, Hashimoto K, Fujioka M, Shiraki K. Studies on the pungent principles of ginger(Zingiber officinale Roscoe)by GC-MS. Yakugaku Zasshi 1973;93:318-321
10. Lee E, Surh YJ. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids[6]-gingerol and [6]paradol. Cancer Lett 1998; 134(2):163-168.
11. Surh Y. Molecular mechanisms of chemopriventive effect of selected dietary and medicinal phenolic substances. Mutat Res 1999 ; 428: 305-327.
12. Bode AM, MA WY, Surh YJ, Dong Z. Inhibition of epidermal growth factor induced cell transformation and activator protein 1 activation by [6]-gingerol. Cancer Res 2001;61(3):850-853.
13. Keum YS, Kim J, Lee KH, Park KK, Surh YJ, Lee JM, et al. Induction of apoptosis and caspase-3 activation by chemopreventive [6]-paradol and structurally related compounds in KB cells. Cancer Lett 2002; 177 (1):41-47.
14. Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. Food Chem Toxicol 2007; 45: 683–690
15. Aeschbach R, Loliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B, et al. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. Food Chem Toxicol 1994; 32: 31–36.
16. Chang WS, Chang YH, Lu FJ, Chiang, HC. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. Anticancer Res 1994;14: 501– 506.
17. Flynn DL, Raerty MF, Boctor AM. Inhibition of human neutrophil 5-lipoxygenase activity by gingerdione , shogaol , capsaicin and related pungent compounds. Prostaglandins Leukot Med 1986;24: 195–198.
18. Park KK, Chun KS, Lee JM, Lee SS, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activ- ity and skin tumor promotion i n ICR mice. Cancer Lett 1998; 129: 139– 144.
19. Kim SO, Chun KS, Kundu JK, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol on PMA-induced COX-2 expression and activation of NF-jB and p38 MAPK in mouse skin. Biofactors 2004;21: 27–31.
20. Yoshimi N, Wang A, Morishita Y, Tanaka T, Sugie S, Kawai K, et al. Modifying effects of fungal and herb metabolites on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. Japan J Cancer Res 1992;83: 1273–1278.
21. Bode A. Ginger is an effective inhibitor of HCT116 human colorectal carcinoma in vivo. paper presented at the frontiers in cancer prevention Research Conference, Phoenix, AZ. 2003;October 26–30.
22. Manju V, Nalini N. Chemopreventive effcacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta 2005;358: 60–67.
23. Nagasawa H, Watanabe K, Inatomi H. Effects of bitter melon (Momordica charantia l.) or ginger rhizome (Zingiber o□finale rosc) on spontaneous mammary tumorigenesis in SHN mice. Am J Chinese Med 2002; 30: 195–205.
24. Kim EC, Min JK, Kim TY, Lee SJ, Yang HO, Han S, et al. [6]-Gingerol, a pungent ingredient of ginger inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. Biochem Biophys Res Commun 2005; 335: 300–308.
25. Suzuki F, Kobayashi M, Komatsu Y, Kato A, Pollard RB. Keishi-ka-kei-to, a traditional Chinese herbal medicine, inhibits pulmonary metastasis of B16 melanoma. Anticancer Res 1997; 17: 873–878.
26. Viswanadha VP, Swamidurai ADC, Kunga MR. Induction of Apoptosis by Ginger in HEp-2 Cell Line Is Mediated by Reactive Oxygen Species. J Compilation Basic Clin Pharmacol Toxicol 2007; 100: 302–307
27. Rhode JM, Huang J, Fogoros S, Tan L, Zick S Liu JR. Ginger induces apoptosis and autophagocytosis in ovarian cancer cells. Proc Am Assoc Cancer Res 2006; 47.

Archive of SID

www.SID.ir