اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل (*Zingiber officinal*) بر اسپرماتوژنز و محور هورمونی هیپوفیز ـ گنادی در موش‌های سوری بالغ

فاطمه رحمانیان[۱]، وحید حمایت خواه جهرمی[۲*]، امیراشکان مهجور[۲]، حسین کارگر[۳]

چکیده

زنجبیل یکی از گیاهان دارویی بسیار با ارزش است. این گیاه دارای بیشترین آنتی‌اکسیدانت‌ها از قبیل ویتامین‌های B ، C و E می‌باشد. هم چنین این گیاه در تقویت قوه باء نیز مؤثر است. در این تحقیق، تأثیر عصاره زنجبیل بر محور هورمونی هیپوفیز- گنادی و فرایند اسپرماتوژنز در موش‌های سوری بالغ نژاد Balb/C مورد بررسی قرار گرفته است. حیوانات مورد استفاده ۲۸ سر موش سوری نر بالغ با وزن تقریبی ۲۶ تا ۳۱ گرم و محدوده سنی ۱۰ هفتگی بود. نمونه ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی شامل گروه‌های کنترل، شم و تجربی۱ و ۲ تقسیم شدند. گروه‌های تجربی ۱ و ۲ هر کدام به مدت دو هفته دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی مذکور به صورت تزریق درون صفاقی(IP) دریافت نمودند. در مدت زمان ذکر شده گروه شم، آب مقطر به صورت (IP) دریافت کرد. گروه کنترل از آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی در طی دوره آزمایش استفاده کرد. بعد از تزریقات موش‌ها تشریح شد. پارامترهای مورد بررسی شامل اندازه-گیری غلظت هورمون های تستوسترون، LH و FSH بود. همچنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، اسپرم، لایدیگ و سرتولی شمارش گردید. نتایج حاصله نشان داد که مقادیر سرمی هورمون LH در گروه تجربی با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هورمون FSH نیز در هر دو گروه تجربی کاهش معنی-داری($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم دارد. درصورتی که هورمون LH در گروه تجربی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم افزایش معنی دار ($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل و شم دارد. همچنین نتایج نشان داد که در تعداد سلول‌های اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و لیدیگ در گروه‌های تجربی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه-های کنترل و شم وجود دارد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده و با توجه به افزایش تعداد سلول های لایدیگ و افزایش غلظت تستوسترون می‌توان نتیجه‌گیری کرد که زنجبیل ممکن است باعث تکثیر سلول‌های جنسی در موش های نر بالغ گردد.

کلمات کلیدی: زنجبیل، بیضه، تستوسترون، اسپرماتوژنز، موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه

ناباروری و مشکلات مربوط به آن به عنوان یکی از مسائل مهم در زندگی زوجین شناخته شده است. بر اساس آمارهای موجود ۳۵٪ موارد ناباروری زوجین مربوط به مردان می‌باشد که شایع ترین علت ناباروری مردان، عدم توانایی آنان در تولید کافی اسپرم‌های سالم و فعال است. نقش گیاهان دارویی و از جمله زنجبیل در باروری مردان در طب سنتی مناطق مختلف دنیا ذکر گردیده است. مهمترین ترکیبات زنجبیل شامل: جینجرول، شوگائول و سزکوئی‌ترپن‌ها است. در مورد اثرات زنجبیل کارهای تحقیقاتی صورت گرفته است که می-توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

۲*- استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

Hemayatkhahr@jia.ac.ir

۳- کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

از زنجبیل در جلوگیری از حالت تهوع (۷ و۱۳)، درمان نفخ و سوء هاضمه و زخم معده (۲)، حذف کلسترول از بدن (۱۲) و کاهش فشار خون (۱۴) استفاده می شود. همچنین ریشه زنجبیل و ترکیبات اصلی پلی فینیلیک که مواد آنتی اکسیدان دارند به عنوان ضد التهاب (۱ ، ۸ و در مورد اثرات این گیاه بر سیستم تولیدمثلی نر تحقیقات اندکی انجام شده است؛ بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی اثر عصاره زنجبیل بر غلظت سرمی هورمون‌های تستوسترون و گنادوتروپین‌ها و همچنین روند اسپرماتوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی بالغ می‌باشد.

مواد و روش کار

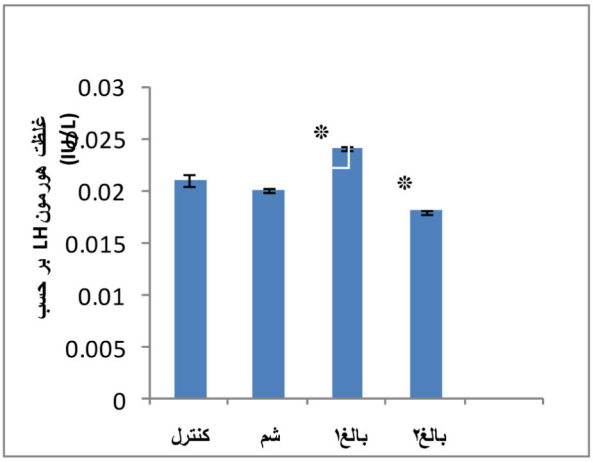
این یک مطالعه‌ی تجربی می‌باشد. در این تحقیق از تعداد ۲۸ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد Balb/C با وزن تقریبی ۲۶ تا ۳۱ گرم و محدوده سنی ۱۰ هفتگی که از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز خریداری شد، استفاده گردید. حیوانات به مدت دو هفته جهت سازش با محیط جدید درخانه‌ی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جهرم نگهداری شد. درجه حرارت محیط $۲۵ \pm ۲^{0}C$ و دوره تاریکیـ روشنایی برای حیوانات به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی انتخاب گردید. غذای مورد استفاده در طول آزمایش، غذای استاندارد حیوان (*pellet*) و آب آشامیدنی آنها، آب لوله کشی شهر بود. کف قفس‌ها از خاک اره و تراشه چوب پوشیده می شد و هفته ای دو بار شستشو و ضدعفونی می گردید. نمونه‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی شامل گروه های کنترل، شم و تجربی ۱و۲ تقسیم شدند. گروه‌های تجربی ۱و۲ هر کدام به مدت دو هفته دوزهای۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی هیدروالکلی زنجبیل به صورت تزریق درون صفاقی(IP) دریافت نمود. در مدت زمان ذکر شده گروه شم آب مقطر به صورت (IP) دریافت کرد. گروه کنترل از آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی در طی دوره آزمایش استفاده کرد. عمل تزریق با سرنگ های انسولینی انجام شد که از حساسیت نسبتاً قوی برخوردار است. طرز تهیه عصاره زنجبیل به این صورت بود که بعد از تهیه ی یک کیلو گرم ریزوم زنجبیل تازه از یکی از فروشگاه های معتبر بندر عباس و خشک کردن ریزوم، آن را به وسیله آسیاب برقی به صورت پودر در آورده، سپس مقدار ۱۰۰ گرم پودر در ۸۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ حل شد. محلول حاصل به مدت ۷۲ ساعت در پرکولاتور در دمای اتاق نگهداری شد. سپس عصاره گیری به وسیله قیف، انجام گردید. جهت خشک شدن عصاره، ماده تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور قرار داده تا به وسیله پمپ خلأ، آب، الکل و مواد اضافی دیگر تبخیر شود. برای تهیه دارو، با دوز های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم از عصاره در ظرف جداگانه، در یک سی سی آب مقطر حل گردید. جهت جلوگیری از آلودگی، عصاره در یخچال نگهداری می شد. پس از اتمام تزریقات از قلب جانور خونگیری انجام شد. خون گرفته شده، در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس سرم آن جدا و به لوله های آزمایش دیگری منتقل گردید. لوله ها درون فریزر با دمای ۲۰c- درجه سانتی گراد قرار گرفتند. غلظت هورمون های FSH و LH به وسیله کیت های مخصوص خریداری شده از شرکت پیشتاز طب و تستوسترون به وسیله کیت هورمونی ساخت DRG کشورآلمان به روش ELISA اندازه گیری شد. در مرحله بعد بیضه‌ها خارج، در پتری دیش حاوی سرم فیزیولوژیک قرار داده تا تمامی بافتهای اضافی و خونی که به بافت چسبیده است جدا شود. سپس بیضه ها را در ظرف هایی حاوی فیکساتیو فرمالین قرار داده تا جهت تهیه بافت و مقطع گیری آماده شوند. بعد از تهیه ی بلوک های پارافینی، برش گیری و رنگ آمیزی (هما توکسیلین ـ ائوزین)، برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرون با دستگاه میکروتوم تهیه شد و نمونه‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی نوری آماده شدند. در مطالعات میکروسکوپی تعداد سلول های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید، اسپرماتوزوئید، سرتولی و بینابینی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده بر اساس برنامه آماری spss و آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

۱۵) و ضد سرطان عمل می‌کنند که سلول‌های سرطانی از جمله سلول‌های سرطانی تخمدان را مهار می‌کند (۹). اخیراً معلوم شده است که زنجبیل باعث افزایش قدرت تحرک وزیست اسپرم‌ها می-شود(۵).

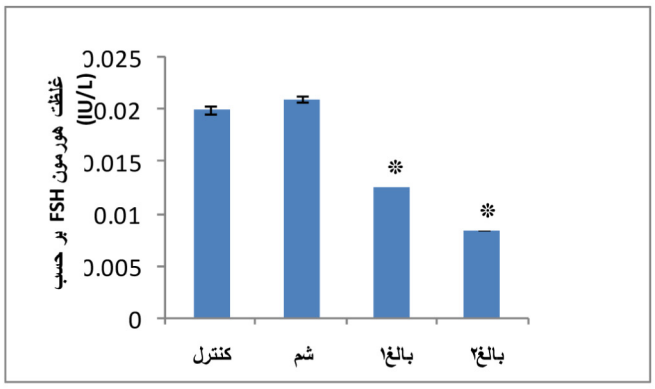
نتایج

نتایج حاصله نشان داد که مقادیر سرمی هورمون LH در گروه تجربی با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش و گروه تجربی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه-های کنترل و شم دارد (نمودار۱). هورمون FSH در هر دو گروه تجربی کاهش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم دارد (نمودار۲). نتایج هورمون تستوسترون در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) را نشان داد (نمودار۳).

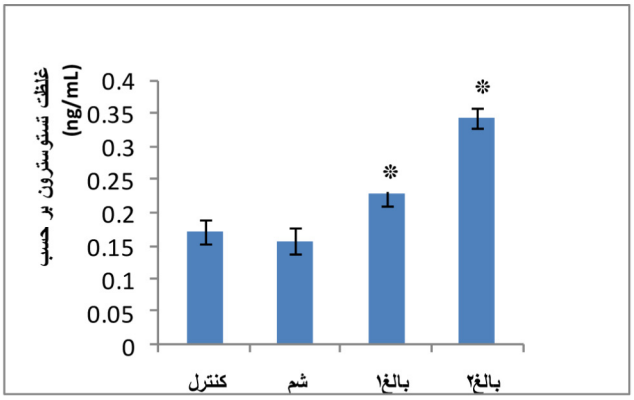
همچنین نتایج حاصل از تعداد سلول‌های اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و لیدیگ افزایش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم نشان داد (نمودارهای ۶، ۷ و ۹). نتایج حاصل از تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و سرتولی در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم اختلاف معنی داری را نشان نداد (نمودارهای ۴، ۵ و ۸). همانطور که در تصاویر ۱و۲ دیده می‌شود تعداد سلول های جنسی در گروه تجربی افزایش پیدا کرده است.



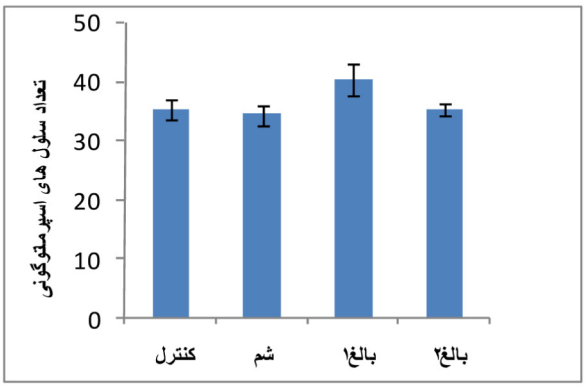
نمودار ۱ ـ اثرعصاره زنجبیل بر غلظت LH سرم خون در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



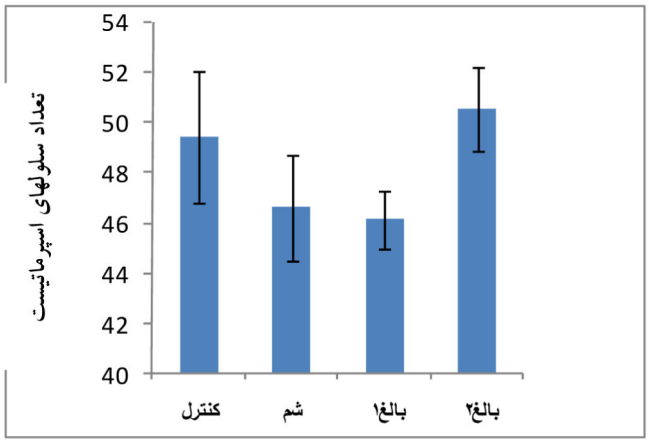
نمودار ۲ ـ اثرعصاره زنجبیل بر غلظت FSH سرم خون در گروه‌های تجربی، کنترل وشم.



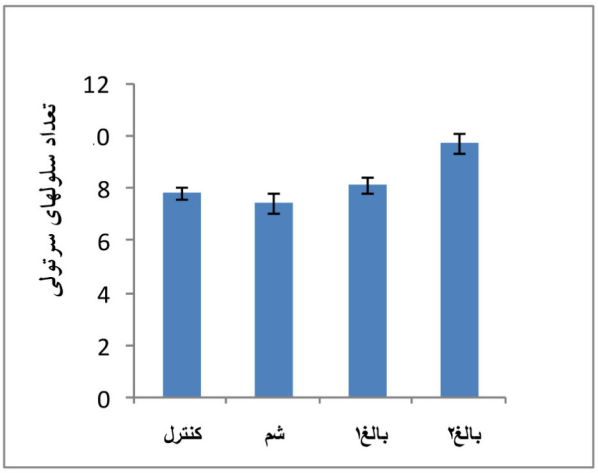
نمودار ۳ـ اثرعصاره زنجبیل بر غلظت تستوسترون سرم خون در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



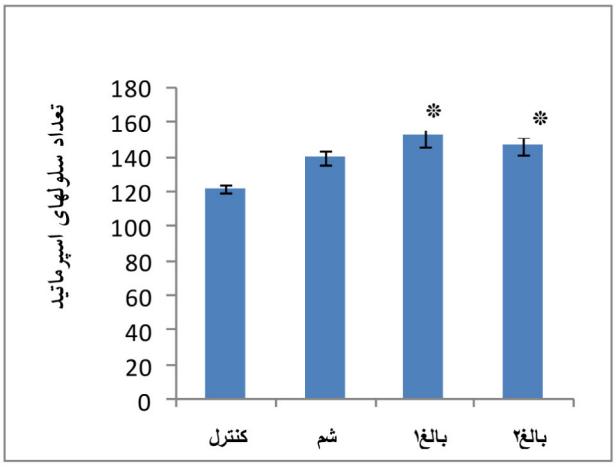
نمودار ۴ ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



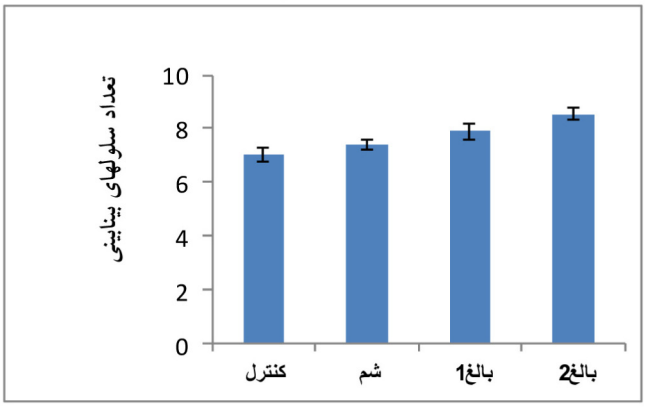
نمودار ۵ ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



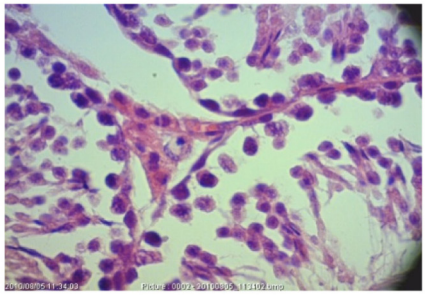
نمودار ۸ ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول‌های سرتولی در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



نمودار ۶ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول‌های اسپرماتید در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



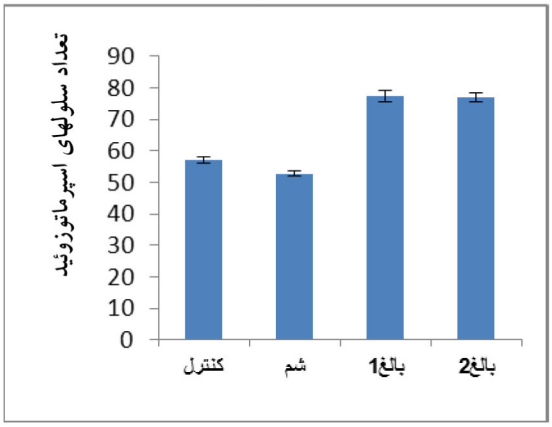
نمودار ۹ ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول های بینابینی در گروه‌های تجربی، کنترل و شم.



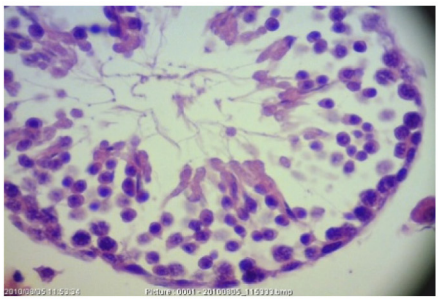
تصویر۱ـبرش عرضی لوله‌های منی ساز در گروه کنترل

بزرگنمایی: ۴۰۰ ×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین–ائوزین

بزرگنمایی: ۴۰۰ ×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین–ائوزین



نمودار ۷ ـ اثرعصاره زنجبیل بر تعداد سلول‌های اسپرماتوزوئید در گروه‌های تجربی، کنترل و شم



تصویر۲- برش عرضی لوله‌های منی ساز در گروه تجربی
بزرگنمایی: ۴۰۰ ×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین-ائوزین
بزرگنمایی: ۴۰۰ ×، رنگ آمیزی: هماتوکسیلین-ائوزین

بحث

گیاهان دارویی به دلیل ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ دارویی در کنار هم، با بدن سازگاری داشته و معمولاً فاقد عوارض ناخواسته هستند، بنابراین در موارد مصرف طولانی بسیار مناسب می-باشند. زنجبیل جزء گیاهان دارویی با ارزش بوده و دارای خواص متعددی از جمله ضد تهوع، مقوی قلب، محرک سیستم ایمنی و محرک هضم غذاست. زنجبیل گیاهی است که محتوی بیشترین آنتی اکسیدانت‌ها از قبیل جینجیرول‌ها و شوگائول‌ها می‌باشد. با توجه به اینکه در ارتباط با اثر زنجبیل بر فرایند اسپرماتوژنز و سیستم تولیدمثلی تحقیقات اندکی انجام شده است. بنابراین دراین تحقیق، تأثیر عصاره زنجبیل بر محور هورمونی هیپوفیز – گناد و فرایند اسپرماتوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی بالغ نژاد Balb/C مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که مقادیر سرمی هورمون LH در گروه تجربی با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و هورمون FSH نیز در هر دو گروه تجربی کاهش معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم دارد. درصورتی که هورمون LH در گروه تجربی با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و هورمون تستوسترون در گروه های تجربی با دوزهای۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم دارد. همچنین نتایج نشان داد که در تعداد سلول‌های اسپرماتید، اسپرماتوزوئید و لیدیگ در گروه‌های تجربی با دوزهای۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری ($P\leq ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه های کنترل و شم وجود دارد. این مسأله می‌تواند به علت اثر ترکیبات زنجبیل بر محور هورمونی هیپوفیز-گناد و فرایند اسپرماتوژنز باشد. مطالعات نشان می‌دهد، با افزایش سروتونین، غلظت گنادوتروپین ها کاهش می یابد(۳). از آن جایی که جینجیرول موجود در زنجبیل آنتی سروتونرژیک است و می‌توانند گیرنده ۳ سرتونین را مهار کند (۱۱). پس به نظر می‌رسد جینجیرول با کم کردن سروتونین، موجب افزایش غلظت گنادوتروپین ها می‌شود و این دلیلی بر افزایش هورمون LH در گروه تجربی۱ می باشد. همچنین جینجیرول‌ها و شوگائول‌ها تحریک کننده آندروژن‌ها می‌باشند و می‌توانند هورمون تستوسترون را افزایش دهند (۵). مطالعات نشان می‌دهد که جینجرول-ها و سزکویی‌ترپن‌ها با مهار مسیرهای لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز از تولید آراشیدونیک اسید جلوگیری می‌کنند و مهار تولید آراشیدونیک اسید به نوبه خود تولید پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌کند و با توجه به نقش پروستاگلاندین ها در تولید گنادوتروپین‌ها، این ترکیبات موجود در زنجبیل از اثر خود تنظیمی منفی گنادوتروپین‌ها بر ترشح هورمون تستوسترون جلوگیری می‌کنند. پس با افزایش دوز زنجبیل در گروه-های تجربی افزایش هورمون تستوسترون مشاهده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد عصاره زنجبیل باعث افزایش تستوسترون می‌گردد (۸ و۱۶). طبق نتایج به دست آمده در این تحقیق، افزایش سلول‌های بینابینی می تواند عاملی برای افزایش ترشح هورمون تستوسترون باشد. بنابراین در گروه‌های تجربی با افزایش دوز زنجبیل غلظت هورمون تستوسترون افزایش می یابد. افزایش تستوسترون، بر روی سلول های تولید کننده LH و FSH واقع در هیپوفیز پیشین با اثر فیدبک منفی، باعث پایین آمدن سطح سرمی هورمون های LH و FSH می شود که این تغییرات بر هیپوتالاموس و سلول های تولید کننده GnRH اثر می کند و میزان هورمون تولید شده GnRH نیز کاهش می‌یابد که کاهش GnRH نیز به نوبه‌ی خود باعث کاهش هورمون‌های LHو FSH می‌شود (۱۰). گزارش‌های موجود، حاکی از این است که روند اسپرماتوژنز به یک سری تداخل‌های سلول به سلول بستگی دارد. در این میان می‌توان به تداخل عمل سلول های لایدیگ و سرتولی اشاره نمود. تحقیقات نشان می‌دهد که لوله های منی ساز عملکرد ترشحی تعداد و تمایز سلول‌های لایدیگ را کنترل می کند. همچنین پیشنهاد شده است که سلول های جنسی در مراحلی از روند اسپرماتوژنز، حساسیت سلول‌های دور لوله‌ای به هورمون‌های اندروژنیک را تعیین می‌کنند. طبق تحقیقات به عمل آمده تزریق

هورمون‌های LH و hCG باعث تغییر گردش خون بیضه می‌شود. پاسخ به هورمون hCG به حضور سلول‌های لایدیگ که کنترل جریان خون بیضه را شدیداً کنترل می‌کنند وابسته است (۴). در تحقیق حاضر در گروه تجربی در تعداد سلول‌های لایدیگ در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم افزایش معنی داری مشاهده می‌شود. همچنین تعداد سلول های اسپرماتید و اسپرم افزایش معنی داری در گروه های تجربی در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. با توجه به تحقیقات انجام شده که نشان دهنده ارتباط بسیار نزدیک بین عملکرد سلول‌های لایدیگ و سلول‌های جنسی در لوله‌های منی‌ساز می‌باشد و همچنین با توجه به این که تمایز و ترشحات سلول‌های لایدیگ توسط لوله های منی ساز کنترل می‌شود، باید پذیرفت که افزایش سلول های لایدیگ باعث افزایش پیشرفت روند اسپرماتوژنز شده است. جینجرول‌ها و شوگائول‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های موجود در زنجبیل خاصیت آنتی اکسیدانی دارند و موجب حذف رادیکال‌های آزاد و حذف متابولیت‌های فعال در بدن می‌گردد. این مسأله موجب ترمیم DNA های شکسته شده و آسیب دیده می‌شود. این ترکیبات موجب می‌شوند که سلول‌های ژرمینال به تقسیمات میوزی و میتوزی خود ادامه دهند (۶). علاوه بر این، آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به عنوان یک آنتی اکسیدانت در حفاظت اسپرم ها در بافت بیضه و اپیدیدیم نقش ویژه‌ای ایفا می‌کند و کاهش این آنزیم در بدن سبب نازایی می‌گردد. این آنزیم با قرار گرفتن در غشای پلاسمایی اسپرم، هسته اسپرم و مایع اپیدیدیم را از گزند رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند و سبب بلوغ نهایی و تکامل اسپرم‌ها می‌شود (۵). مطالعات نشان می‌دهد، مصرف زنجبیل به مقدار قابل توجهی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد و با تکثیر و تمایز اسپرم ها باعث افزایش باروری می‌گردد (۶).

بنابراین طبق نتایج به دست آمده در این تحقیق، می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که زنجبیل قادر است از طریق افزایش تعداد سلول‌های لایدیگ و افزایش هورمون تستوسترون باعث تکثیر سلول‌های زاینده و جنسی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی گردد.

منابع

1- Altman, R.D. and Marcussen, K.C. (2001). Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. Arthritis-rheum. 44(11):2531-8.

2- Al-Yahya, M.A., Rafatullah, S., Morsa, J.S., Ageel, A.M., Parmar, N.S. and. Tariq, M. (1989). Gastroprotective activity ofginger, Zingiber officinale Roscoe in albino rats. Am J Chinese Med 17: 51.

3- Anderson, Y.H., Wong, O.L. and John, P. (2002). Serotonin interferes with Ca and PKC signaling to reduce gonadotropin-relasing hormone-stimulated GH serotonin in goldfish pituitary cells, General and Comparative Endocrinology, 159: 58-66.

4- Bernard, A.J. Damber, E. and Widmark, A.(2005) Hormonal control of testicular blood flow. Mol.Cellu. Endocrinology. Vol(50). pp: 123-133.

5- Khaki, A. ,Fathiazad, F., Nouri, M.,and. Khaki, A. A., (2009). *The effects of Ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat.* Iranian Journal of Reproductive Medicine. Vol(7): 7-12.

6- Krishna, P., Polasa, K., Kota, N. (2007). Alteration in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet, Science Direct, 106:991-996.

7-Mowrey, D.B. and Clayson, D.E. (1982). Motion sickness, ginger and Psychophysics, The Lancet, 20,655-657.

8- Murakami, A., Takahashi, D., Kinoshita, T., Koshmizu, K., Kim, H.W., Yoshihiro, A.,

Nakamura, Y., Jiwajinda, S., Terao, J. and Ohigashi, H. (2002). Zerombone a shoutheast Asian ginger sesguiterpene, markedly suppresses free radical generation, proinflammarory protein production, and cancer cell proliferation accompanied by apoptosis: the alpha, beta-unsaturated carbonyl group is a prerequisite, Carcinogenesis, 23950:795-802.

9- Ness, R.B., Grisso, J.A., Cottreau, C. Klapper, J., Vergona, R. , Wheeler, J.E., Morgan, M. and Chlesselman, J.J.(2000). Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer. *Epidemiology.* 11:111–117.

10- Norman, J.F., and .way, J.M., (1998). Some ecological observation on the use of dat pollen in hypothalamic hormons. Endocrinology. 2: 532-548.

11- Sharma, S.S. and Gupta, Y.k. (1998). Reversal of cis platin indused delay in gastric empting in rats by ginger, Ethonopharmacology, 62:19-55.

12- Srinivasan, K. and Sambaiah, K. (1999). The effect of spicies on cholesterol 7alpha-hydroxylase, activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat.Int J Vitamin Nure Res, 67:363-369.

13- Stewart, J., Wood, M.J., Wood, C.D. and Mims, M.E. (1991). Effects of ginger on motion sickness susceptibility and gastric function. Pharmacology 42: 111.

14- Tanabe, M., Chen, Y.D., Saits, K. and Kano, Y. (1993). Cholesterol biosynthesis inhibitory component from *Zingiber officinale Roscoe*. Chem Pharm Bull, 41: 710.

15- Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Al-Sawan, S.M. , Alnaqeeb, M.A., Khan, I. and Ali, M.(2002). The use of ginger (*Zingiber officinale Rosc*.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 67(6): 475-478.

16- Yogeshwer, S.H., Sahdeo, P. , Chitra, T., Madhulika, S. , Jasmine, G. and Neetu, K.(2007). In vitro and in vivo modulation of testosterone mediated alterations in apoptosis related proteins by [6]- gingerol, Science Direct. (168):1492-1502.