



Foto di Forest and Kim Starr

Zingiber officinale. La pianta dello zenzero è una pianta erbacea perenne, originaria del Sud-Est asiatico, coltivata principalmente in Cina, Africa, India, Giamaica.

Effetto dello zingiberene, isolato da *Zingiber officinale* Roscoe, nel dolore cronico centrale modulando la senescenza microgliale

*In questo lavoro l'autrice ha delineato un potenziale effetto terapeutico dell'estratto di *Zingiber officinale* Roscoe e del suo principale componente terpenico, lo zingiberene, nel trattamento del dolore cronico centrale associato allo sviluppo di malattie neurodegenerative come la sclerosi multipla, attraverso la modulazione della senescenza microgliale e della neuroinfiammazione a essa associata.*

*** Chiara Sasia**

Senescenza microgliale nel dolore cronico centrale.

Negli ultimi anni la senescenza cellulare a carico delle cellule del SNC sta assumendo un ruolo sempre più interessante nello studio di nuove strategie terapeutiche in patologie neurodegenerative a carattere infiammatorio (van Deursen, 2014). Le cellule della microglia sono cellule immunitarie innate del SNC, dove contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi tissutale e allo sviluppo e protezione neuronale (Nayak *et Al.*, 2014). In seguito a stimolazione, come infezioni o ictus, queste cellule si "attivano" rapidamente e subiscono cambiamenti morfologici e molecolari in risposta ai segnali provenienti dal tessuto danneggiato (Subhramanyam *et Al.*, 2019). L'invecchiamento è un fenomeno che va a modificare in modo importante le funzioni della microglia e porta allo sviluppo di uno stato infiammatorio cronico, scatenato dalla presenza di fattori ossidativi e infiammatori. Le cellule microgliali acquisiscono così un fenotipo definito "senescente" (von Bernhardt *et Al.*, 2015). Ci sono vari studi che hanno dimostrato come l'invecchia-

mento determini la formazione di irregolarità sia da un punto di vista morfologico che da un punto di vista funzionale, che ne limitano la loro abilità di risposta agli stimoli (Chinta *et Al.*, 2015). Le cellule senescenti sono caratterizzate infatti dalla resistenza all'apoptosi, dall'arresto del ciclo cellulare, dalla formazione di agglomerati eterocromatinici a livello nucleare e da alterazioni nella trascrizione di geni coinvolti nella replicazione cellulare, da un'aumentata attività dell'enzima β -galattosidasi e da una secrezione abbondante di fattori SASP (*Secretory Phenotype Associated with Senescence*, Antignano *et Al.*, 2023). Nelle cellule microgliali un enzima altamente espresso è HDAC-1, che presenta un meccanismo epigenetico importante nel controllo della senescenza e del fattore NF-kB (Willis-Martinez *et Al.*, 2010). Un accumulo eccessivo e aberrante di cellule senescenti nei tessuti e una secrezione incontrollata di fattori SASP, tra cui citochine infiammatorie e ROS, portano alla formazione di un ambiente pro-infiammatorio, favorendo lo sviluppo di un'infiammazione cronica persistente di basso grado, definita "inflammaging", tipica dell'invecchiamento e responsabile dell'insorgenza di patologie legate all'età, tra cui malattie degenerative, disturbi dell'umore e dolore cronico (Cevenini *et Al.*, 2013; von Bernhardi *et Al.*, 2015). L'analisi di tessuti cerebrali umani invecchiati ha rivelato la presenza di un fenotipo di microglia distrofica (microglia senescente) associato a cambiamenti funzionali. Questo fenotipo microgliale distrofico è più abbondante nelle condizioni neurodegenerative e può addirittura precedere l'insorgenza della neurodegenerazione, suggerendo dunque il contributo

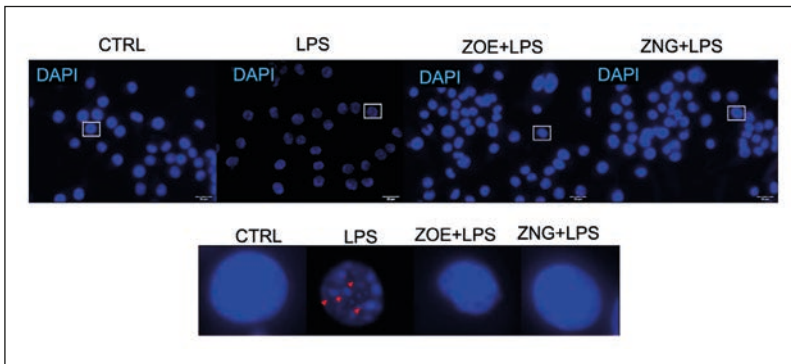
della senescenza nella fisiopatologia dei disturbi neurodegenerativi, come sclerosi multipla, disturbo del Parkinson e malattia di Alzheimer (Candlish & Hefendehl, 2021; Kritsilis *et Al.*, 2018). La sclerosi multipla è una malattia neurodegenerativa, associata all'insorgenza di dolore cronico centrale, dove la neuroinfiammazione, che colpisce principalmente microglia e macrofagi, è in una fase talmente avanzata da portare a demielinizzazione (Zrzavy *et Al.*, 2017). Studi recenti hanno evidenziato anche un ruolo pro-rimielinizzante delle cellule della microglia e un coinvolgimento di HDAC-1 in tale patologia, che li rendono un possibile bersaglio per nuovi futuri trattamenti (Göschl *et Al.*, 2018; Lloyd & Miron, 2019). Ad oggi, come possibili trattamenti terapeutici per patologie neurodegenerative e neuroinfiammatorie del SNC, sono sempre più investigate sostanze estratte da piante medicinali, per il loro effetto antiinfiammatorio e senolitico, come lo *Zingiber officinale* Roscoe, noto per le sue molteplici proprietà. Lo scopo di questo lavoro è infatti quello di valutare l'effetto dell'estratto di zenzero e dello zingiberene, terpeni isolato dal suo estratto, nel ridurre la senescenza microgliale e quindi come possibile target per la modulazione del dolore cronico centrale a essa associato.

Zingiber officinale Roscoe

Lo zenzero, *Zingiber officinale* Roscoe, è una pianta appartenente alla famiglia delle *Zingiberaceae*. La pianta dello zenzero è una pianta erbacea perenne, originaria del Sud-Est asiatico, coltivata principalmente in Cina, Africa, Giamaica. La droga è contenuta nel rizoma essiccato, che si presenta in pezzi orizzontali, ir-

regolari, schiacciati lateralmente con delle ramificazioni, brevi e appiattite, che si dipartono lateralmente in modo obliquo. Il rizoma inoltre presenta un forte odore caratteristico e un sapore pungente e aromatico (<https://www.who.int>). La sua composizione chimica è abbastanza complessa ed è caratterizzata da oltre 300 costituenti (Liu *et Al.*, 2019), suddivisi in due classi principali: composti volatili, quali monoterpeni e sesquiterpeni (tra questi troviamo lo zingiberene), e composti non volatili come gingeroli e shogaoli, responsabili della piccantezza (<https://www.ema.europa.eu/en>). Grazie alla varietà di componenti al suo interno, molteplici sono gli usi medici dello zenzero, avvalorati da dati clinici (<https://www.who.int>). Noto fin dai tempi antichi è il suo utilizzo come antinausea e antiemetico, efficace e sicuro anche per le donne in gravidanza (Palatty *et Al.*, 2013), o in seguito a trattamento con chemioterapia o per nausea da cinetosi (Lete & Allué, 2016). Mediante inibizione della ciclossigenasi (COX) e della lipossigenasi e una soppressione dell'attività del fattore di NF-kB, i composti attivi dello zenzero esercitano anche un'importante azione antinfiammatoria (Mao *et Al.*, 2019). Studi più recenti hanno evidenziato anche il potenziale dello zenzero nelle patologie neurodegenerative. L'importante azione antiossidante lo rende un probabile trattamento per il disturbo di Alzheimer (Talebi *et Al.*, 2021). Inoltre, è stato visto essere efficace nella sclerosi multipla sia per la sua attività antinfiammatoria, andando a inibire l'infiltrazione di cellule infiammatorie a livello centrale, sia perché allo stesso tempo favorisce la rimielinizzazione e inibisce la demielinizzazione (Arcusa *et*

Fig. 1
 In queste immagini si può osservare la diversa intensità della marcatura del DAPI tra le cellule di CTRL, le cellule senescenti (LPS) e le cellule in seguito al trattamento con ZOE e ZNG. Nelle cellule senescenti la marcatura è meno intensa per la formazione dei foci di senescenza. Nell'immagine sottostante si può osservare l'ingrandimento di una singola cellula per mettere in evidenza la presenza di foci di senescenza, indicati dalle frecce rosse, nelle cellule senescenti (LPS). Nelle cellule in seguito al trattamento con ZOE e ZNG è possibile osservare una maggiore uniformità nucleare, per l'effetto protettivo dei due trattamenti.



Al., 2022). Infine, è stato visto essere in grado di modulare il dolore neuropatico, riducendo allodinia meccanica e iperalgesia termica, in uno studio in vivo su un modello animale di neuropatia periferica (Borgonetti *et Al.*, 2020).

Treatments utilizzati

Per investigare l'effetto dello zenzero e del suo principale componente terpenico sono stati utilizzati i seguenti trattamenti.

Un estratto di *Zingiber officinale* Roscoe rhizome extract (ZOE), ottenuto tramite CO2 supercritica, titolato in 24.73% gingeroli totali e 3.03% shogaoli totali, è stato fornito da INDENA S.p.A. (Milan, Italy) e standardizzato dall'università di Modena e Reggio Emilia nel laboratorio della Prof.ssa Federica Pellati.

Il componente terpenico zingiberene (ZNG) è stato acquistato da Santa Cruz Biotechnology.

I trattamenti sono stati testati sia nel modello cellulare in vitro che nel modello in vivo di Encefalomielite Autoimmune Sperimentale (EAE). Nel modello cellulare le concentrazioni testate sono 10 µg/mL per ZOE e 1 µg/mL per ZNG. Per i test nel modello in vivo la dose scelta per ZOE è stata 200 mg/kg, ottenuta da uno studio precedentemente condotto in un modello animale di neuropatia periferica, e ZNG invece

è stato testato alla concentrazione di 20 mg/kg, ovvero la concentrazione contenuta all'interno dell'estratto. I trattamenti sono stati somministrati ai topi per via orale tramite gavaggio, utilizzando come veicolo la carbossimetilcellulosa 1% in PBS1X.

Procedura sperimentale per il modello cellulare di senescenza microgliale

Per l'ottenimento del modello cellulare in vitro di senescenza microgliale, sono state utilizzate cellule microgliali murine BV2. Le cellule sono state stimolate con LPS 500 ng/mL ogni 72h per 4 volte per un totale di 10 giorni. Dopo l'ultimo stimolo, le cellule sono state trattate con l'estratto di *Zingiber officinale* Roscoe (10 Qg/mL), o lo zingiberene (1 Qg/mL), concentrazione presente nella dose attiva dell'estratto

per 24h. Per valutare l'efficacia dell'estratto sono stati valutati i seguenti parametri caratterizzanti la microglia senescente quali: espressione e attività della β-galattosidasi, vitalità e morfologia cellulare, espressione di fattori legati al fenotipo infiammatorio acquisito (SASP) e sviluppo di foci di senescenza nucleare. L'attività della β-galattosidasi, valutata mediante un test colorimetrico, è aumentata nelle cellule senescenti rispetto alle cellule di controllo, non stimolate con LPS. L'estratto di zenzero e lo zingiberene sono stati in grado di ridurre significativamente l'attività dell'enzima, riportandolo a valori simili a quelli del controllo. Questi risultati sono stati poi confermati dalla valutazione dell'espressione proteica, mediante analisi western blot, che ha dato risultati analoghi a quelli ottenuti nella modulazione dell'attività enzimatica.

La vitalità cellulare, valutata mediante un test colorimetrico, ha evidenziato un effetto positivo di ZOE e ZNG nel ridurre l'apoptosi e aumentare la replicazione cellulare, rispetto alle cellule senescenti, stimolate con LPS. Un altro importante marker di senescenza cellulare consiste in un aumentato

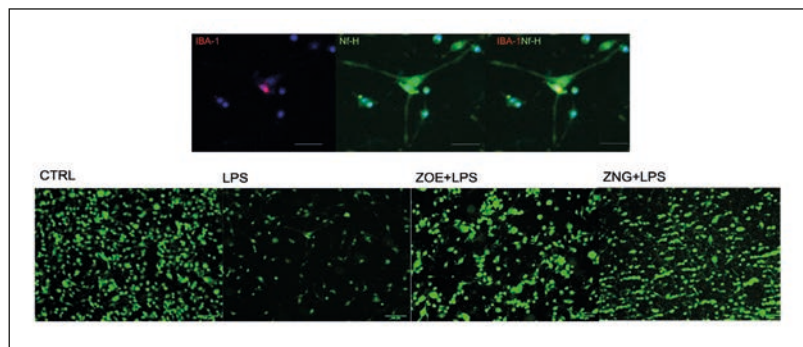


Fig. 2 - In questa immagine si può osservare la co-localizzazione tra cellula microgliale e cellula neuronale, in seguito a una doppia marcatura con IBA-1 (marker di microglia) e neurofilamento-H (marker di neurone). Nell'immagine successiva è possibile osservare la diversa intensità della marcatura in verde di NF-H. Una ridotta espressione del marker di rigenerazione neuronale si può osservare nelle cellule in seguito allo stimolo infiammatorio con LPS; ZOE e ZNG hanno mostrato un effetto neuroprotettivo, come si nota dalla maggiore intensità della marcatura in verde.

rilascio di fattori pro-infiammatori SASP. Il principale driver dell'attivazione microgliale è il fattore NF-kB, che trasloca nel nucleo dopo attivazione. Le cellule senescenti sono caratterizzate da un'aumentata espressione proteica del fattore NF-kB; invece i trattamenti con ZOE e ZNG mostrano un effetto antinfiammatorio, riducendone significativamente l'espressione proteica. Essendo stati visti un aumento di HDAC-1 in seguito a fenomeni di senescenza cellulare e una sua correlazione con NF-kB, è stato investigato il suo ruolo nella senescenza cellulare. Dall'analisi dell'espressione proteica si è osservato un aumento nelle cellule senescenti e una modulazione della sua espressione solamente da parte di ZNG. Il trattamento con ZOE non riduce in modo significativo HDAC-1. Infine sono stati valutati gli SAHF, agglomerati di eterocromatina a livello nucleare che vanno a ridurre la trascrizione di geni coinvolti nella replicazione cellulare, che aumentano in seguito a fenomeni di senescenza cellulare, come si è visto anche nei nostri esperimenti. ZOE e ZNG hanno mostrato invece un effetto protettivo, riducendo la presenza di foci e aumentando la densità nucleare.

Valutazione dell'effetto neuroprotettivo

Si è pensato poi fosse interessante valutare l'eventuale effetto neuroprotettivo in un modello in vitro di co-cultura microglia neurone, per valutare se la microglia attivata fosse in grado di alterare il normale processo di rigenerazione neuronale fino a determinarne la morte, poiché tale fenomeno è alla base dell'eziopatogenesi di molte patologie a carattere infiammatorio cronico. Per riprodurre tale modello, sono state messe a diretto contatto cellule mi-

crogliali BV2 e cellule neuronali SH-SY5Y, che poi sono state stimolate con LPS alla concentrazione di 250 ng/ml per 24 ore, per indurre uno stato di infiammazione cronica. Inizialmente è stata valutata la co-localizzazione tra le cellule microgliali e neuronali attraverso una doppia marcatura con IBA-1, marker di microglia, e Neurofilamento H, marker neuronale. Successivamente si è valutato se la microglia, in seguito a uno stimolo pro-infiammatorio, andasse ad alterare effettivamente la funzionalità neuronale, mediante il dosaggio dell'espressione di neurofilamento H, marker di

rigenerazione neuronale, con la tecnica dell'immunofluorescenza su cellula.

Dai risultati ottenuti si è osservata una riduzione dell'espressione di neurofilamento H nelle cellule in seguito a stimolo con LPS, e invece un effetto positivo dei trattamenti con ZOE 10 (Qg/mL) e ZNG (1 Qg/mL) nell'aumentare l'espressione del marker e dunque nel mostrare un effetto protettivo nei confronti dell'attività neuronale.

Procedura sperimentale per i test in vivo

Studi clinici condotti sulle popolazioni asiatiche, che fanno

iMMUNITY ASSIST 12



www.avdreform.it

La naturale protezione per il tuo bambino

INTEGRATORE ALIMENTARE a base di betaglucani estratti da Reishi e Shiitake, che favoriscono le naturali difese dell'organismo



Prodotto e distribuito da:
A.V.D. Reform Srl B.go S. Biagio 9 - PAFMA tel. 0521 628498





Foto di 阿橋 HQ

La composizione chimica dello zenzero è abbastanza complessa ed è caratterizzata da oltre 300 costituenti.



Foto di Jane Nielsen

Studi recenti hanno evidenziato il potenziale dello zenzero nelle patologie neurodegenerative.

un elevato consumo di zenzero e spezie di questo tipo, hanno evidenziato un'incidenza nello sviluppo di patologie legate al dolore cronico del SNC nettamente minore (Anh *et Al.*, 2020). Pensando quindi a una possibile applicazione terapeutica dell'estratto di zenzero e del suo principale componente terpenico, sono state testate le sostanze in un modello animale di dolore cronico. Il modello animale scelto è stato il modello EAE (Encefalomielite Autoimmune Sperimentale), modello di demielinizzazione cronica che porta allo sviluppo in modo affidabile sia di allodinia che iperalgesia in risposta a stimolazione meccanica o termica. I topi sono stati immunizzati con l'uso del peptide antigenico MOG35-55 in emulsione con l'adiuvante completo di Freund supplementato con 4 Qg/QI di *Mycobacterium Tu-*

bercolosis. Si fanno in seguito due iniezioni intraperitoneali di 500 ng di tossina della pertosse, che ha la funzione di andare a stimolare la risposta immunitaria. Le sostanze, ZOE 200 mg/Kg e ZNG 20 mg/Kg, sono state somministrate per gavaggio (via orale) a giorni alterni, a partire dal quattordicesimo giorno dopo la prima iniezione, quando i sintomi sono conclamati. Il modello EAE è un modello caratterizzato da un forte processo di demielinizzazione cronica, il quale comporta un'aumentata sensibilità neuronale che determina poi l'insorgenza di uno stato di ipersensibilità agli stimoli dolorosi. Per valutare la maggiore sensibilità al dolore, associata allo sviluppo della malattia, sono stati effettuati due tipi di test, al 28° giorno. Per valutare l'allodinia meccanica è stato utilizzato il Von

Frey test che permette di testare la soglia meccanica degli animali mediante uno stimolo sulla superficie plantare delle zampe posteriori provocato da più monofilamenti metallici, con grado di forza sempre maggiore. Da questo test è risultata una risposta significativamente più bassa negli animali EAE, rispetto agli animali di controllo sham. Per valutare invece l'iperalgesia termica è stato utilizzato l'Hot Plate test, calcolando il tempo di risposta del topo ad uno stimolo termico di 52°C. La maggiore sensibilità agli stimoli dolorosi è stata confermata anche da questo esperimento, in quanto la latenza dell'animale EAE sulla piastra è significativamente più bassa dell'animale sham. Questi risultati hanno confermato dunque l'ipersensibilità al dolore indotta dalla neuropatia.

Procedura sperimentale per i test in vitro

Essendo la microglia senescente altamente implicata nella sclerosi multipla e nel dolore cronico a essa associato, per prima cosa è stato visto se al 28° giorno dall'inizio del modello ci fosse la presenza di senescenza microgliale, neuroinfiammazione e neurodegenerazione. Nei campioni spinali degli animali EAE è stato osservato un incremento dell'espressione del marker di senescenza cellulare β -galattosidasi rispetto all'animale sham non immunizzato. Successivamente siamo andati a valutare l'espressione di HDAC-1, osservando anche in questo caso un aumento dell'espressione proteica nell'animale EAE rispetto allo sham. In modelli animali di dolore, a livello spinale, l'incremento dell'espressione di HDAC1 è selettivo per la microglia e sta a indicare la presenza di una forte attivazione microgliale pro-infiammatoria, oltre allo sviluppo di un processo di senescenza. La sua espressione risulta aumentata in modelli animali di dolore neuropatico, per cui attraverso la modulazione di tale enzima epigenetico si può ottenere una modulazione del dolore (Sanna et Al., 2017). Il modello EAE è un modello caratterizzato da un forte processo di demielinizzazione cronica. Ciò comporta una riduzione dell'espressione proteica di MBP, marker della proteina basica mielinica, negli animali EAE rispetto agli sham. La demielinizzazione cronica comporta un'aumentata sensibilità neuronale e una minore attività di tali cellule, fino a causare la morte neuronale, che determina poi l'insorgenza di uno stato di ipersensibilità agli stimoli dolorosi. Questo è stato confermato dalla ridotta espressione proteica di neurofilamento H, marker di

rigenerazione neuronale, negli animali EAE in confronto all'animale sham. Successivamente siamo andati a investigare l'efficacia di ZOE e ZNG nel modulare alcuni di questi parametri. Sono stati efficaci nel ridurre in modo significativo l'espressione di β -galattosidasi, rispetto all'animale EAE. Risultato analogo è stato ottenuto dalla valutazione dell'efficacia di ZOE e ZNG nel ridurre l'espressione di HDAC-1. Entrambi i trattamenti, dunque, sono stati in grado di modulare parametri di senescenza cellulare e neuroinfiammazione. Infine, per valutare il possibile potere

rimielinizzante dell'estratto di zenzero e dello zingiberene, è stata utilizzata la metodica del Luxol Fast Blue, colorante che va a marcare in blu la componente lipidica della mielina, su fettine di midollo spinale paraffinate. La marcatura in blu osservata nell'animale EAE è scarsa e disomogenea, a conferma di una perdita di mielina a livello spinale. La marcatura nel midollo spinale in seguito ai trattamenti con ZOE e ZNG invece risulta più omogenea e intensa. Ciò dimostra il potere protettivo sia dell'estratto di zenzero che dello zingiberene nei confronti della demielinizzazione.

TECNO-LIO
L'energia della Vita

LAVORAZIONI C/TERZI
Integratori alimentari
in capsule, liquidi e liofilizzati

Si eseguono produzioni di piccoli e medi lotti

- Integratori in capsule formato 0 in barattolo o in blister
- Integratori liquidi in monodose da 10 e 15 ml
 - Integratori con contagocce
 - Liquidi e soluzioni in flaconi fino a 1000 ml
- Liofilizzazione in monodose con sigillatura sottovuoto
 - Integratori di nostra produzione con possibilità di personalizzazione
 - Lavorazione materie prime fornite dal cliente
 - Confezionamento finale
 - Assistenza per formulazioni personalizzate

Tecno-lio S.r.l.
Via Riviera Berica, 260 - 36100 Vicenza
Tel. 0444530465 - fax. 0444532275
E-mail: info@tecno-lio.it
Website: www.tecno-lio.it

zazione associata allo sviluppo della malattia.

Conclusioni

In conclusione, in questo lavoro abbiamo definito un potenziale effetto terapeutico dell'estratto di *Zingiber officinale* Roscoe e del suo principale componente terpenico, lo zingiberene, per il trattamento del dolore cronico centrale associato allo sviluppo di malattie neurodegenerative come la sclerosi multipla, attraverso la modulazione della senescenza microgliale e della neuroinfiammazione a essa associata. Entrambi i trattamenti hanno mostrato anche una potenziale azione rimielinizzante nel modello EAE. Attualmente, nel laboratorio della Prof.ssa Galeotti sono in corso ulteriori studi per approfondire l'azione senoterapeutica sia dell'estratto di zenzero che dello zingiberene.

*** Dottoranda, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE**

Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NEUROFARBA) Sez. di Farmacologia e Tossicologia

Bibliografia

Anh, N. H., Kim, S. J., Long, N. P., Min, J. E., Yoon, Y. C., Lee, E. G., Kim, M., Kim, T. J., Yang, Y. Y., Son, E. Y., Yoon, S. J., Diem, N. C., Kim, H. M., & Kwon, S. W. (2020). Ginger on human health: A comprehensive systematic review of 109 randomized controlled trials. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12010157>

Antignano, I., Liu, Y., Offermann, N., & Capasso, M. (2023). Aging microglia. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 80, Issue 5). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04775-y>

Arcusa, R., Villaño, D., Marhuenda, J., Cano, M., Cerdà, B., & Zafrilla, P. (2022). Potential Role of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.809621>

Borgonetti, V., Governa, P., Biagi, M., Pelati, F., & Galeotti, N. (2020). Zingiber officinale Roscoe rhizome extract alleviates neuropathic pain by inhibiting neuroinflammation in mice. *Phyto-medicine*, 78. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153307>

Candlish, M., & Hefendehl, J. K. (2021). Microglia Phenotypes Converge in Aging and Neurodegenerative Disease. In *Frontiers in Neurology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.660720>

Cevenini, E., Monti, D., & Franceschi, C. (2013). Inflamm-aging. In *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* (Vol. 16, Issue 1, pp. 14-20). <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32835ada13>

Göschl, L., Preglej, T., Hamminger, P., Bonelli, M., Andersen, L., Boucheron, N., Gülich, A. F., Müller, L., Saferding, V., Mufazalov, I. A., Hirahara, K., Seiser, C., Matthias, P., Penz, T., Schuster, M., Bock, C., Waisman, A., Steiner, G., & Ellmeier, W. (2018). A T cell-specific deletion of HDAC1 protects against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Autoimmunity*, 86, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2017.09.008>

<https://www.ema.europa.eu/en>. (n.d.). EMA.

<https://www.who.int>. (n.d.). World Health Organization.

Kritsilis, M., Rizou, S. V., Koutsoudaki, P. N., Evangelou, K., Gorgoulis, V. G., & Papadopoulos, D. (2018). Ageing, cellular senescence and neurodegenerative disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms19102937>

Lete, I., & Allué, J. (2016). The effectiveness of ginger in the prevention of nausea and vomiting during pregnancy and chemotherapy. In *Integrative Medicine Insights* (Vol. 11, pp. 11-17). Libertas Academica Ltd. <https://doi.org/10.4137/IMI.S36273>

Liu, Y., Liu, J., & Zhang, Y. (2019). Research Progress on Chemical Constituents of Zingiber officinale Roscoe. In *BioMed Research International* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/5370823>

Lloyd, A. F., & Miron, V. E. (2019). The pro-remyelination properties of microglia in the central nervous system. In *Nature Reviews Neurology* (Vol. 15, Issue 8, pp. 447-458). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0184-2>

Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., Beta, T., & Li, H. Bin. (2019). Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*zingiber officinale* roscoe). In *Foods* (Vol. 8, Issue 6).

MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods8060185>

Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). Microglia development and function. In *Annual Review of Immunology* (Vol. 32, pp. 367-402). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240>

Palatty, P. L., Haniadka, R., Valder, B., Arora, R., & Baliga, M. S. (2013). Ginger in the Prevention of Nausea and Vomiting: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 659-669. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.553751>

Sanna, M. D., Guandalini, L., Romanelli, M. N., & Galeotti, N. (2017). The new HDAC1 inhibitor LG325 ameliorates neuropathic pain in a mouse model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 160, 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.08.006>

Subhramanyam, C. S., Wang, C., Hu, Q., & Dheen, S. T. (2019). Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 94, pp. 112-120). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>

Talebi, M., Igün, S., Ebrahimi, V., Talebi, M., Farkhondeh, T., Ebrahimi, H., & Samarghandian, S. (2021). Zingiber officinale ameliorates Alzheimer's disease and Cognitive Impairments: Lessons from preclinical studies. In *Bio-medicine and Pharmacotherapy* (Vol. 133). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111088>

von Bernhardt, R., Eugenín-von Bernhardt, L., & Eugenín, J. (2015). Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 7, Issue JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00124>

Willis-Martinez, D., Richards, H. W., Timchenko, N. A., & Medrano, E. E. (2010). Role of HDAC1 in senescence, aging, and cancer. In *Experimental Gerontology* (Vol. 45, Issue 4, pp. 279-285). <https://doi.org/10.1016/j.exger.2009.10.001>

Zrzavy, T., Hametner, S., Wimmer, I., Butovsky, O., Weiner, H. L., & Lassmann, H. (2017). Loss of "homeostatic" microglia and patterns of their activation in active multiple sclerosis. *Brain*, 140(7), 1900-1913. <https://doi.org/10.1093/brain/awx113>