Journal of Aquaculture Development
Vol. 20, No. 3, 2026, Pages: 35-54
DOI: 10.71901/jad-2026-1-904

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Evaluation of the toxicity of *Zingiber officinale* plant extract on the development of the nervous system of zebrafish embryos on *NeuroD*, *Ngn1*, and *Shh* genes using Real-time PCR method

Farnaz Vosough[1], Tahereh Naji[1*], Saeid Mohammadi Motamed[2], Nikoo Nasoohi[1]

1- Department of Basic Sciences, TeMS.C. Islamic Azad University, Tehran, Iran
2-Department of Pharmacognosy, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 7 July 2025 **Accepted: 20 August 2025**

Extended Abstract:

Introduction: Medicinal plants have long been an integral part of human therapies and, even today, they remain an essential source of modern pharmaceutical agents. A considerable number of contemporary drugs are either derived from natural products or designed to mimic their structures (Mustafa *et al*., 2017). Although modern synthetic chemistry has enabled the development of novel and exclusive formulations that could not have been achieved solely through natural compounds, it still provides only limited access to the vast chemical and structural diversity found in plant-derived metabolites (Bode and Dong, 2011). Ginger (*Zingiber officinale*) a plant from the ginger family, is widely used as a medicinal herb due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. Ginger is one of the most widely used medicinal plants worldwide. Its rhizome is commonly employed both as a culinary spice and as a principal herbal medicine, due to its abundant bioactive compounds—particularly pungent phenols such as [6]-gingerol and [6]-shogaol—and its numerous therapeutic properties. Notably, ginger exhibits anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, and other pharmacological activities (Bischoff-Kont and Fürst, 2021, Zhang *et al*., 2021). It has been used to treat a variety of conditions, ranging from digestive disorders to arthritis. In particular, ginger is well recognized for alleviating nausea and vomiting, making it popular among pregnant women and chemotherapy patients. These medicinal properties contribute to ginger's reputation as a natural remedy and help explain the growing scientific interest in its potential health benefits. Nevertheless, these bioactivities also raise important questions regarding its mechanisms of action and the boundaries of safe consumption (Belgacem et al., 2016). This study aimed to evaluate the effects of ginger extract on the expression of neurogenic genes—*NeuroD*, *Ngn1*, and *Shh*—in zebrafish (*Danio rerio*) embryos.

Materials and Methods: A sample of ginger was purchased from Barij Essence Company (Tehran, Iran). After authentication and registration in the herbarium of the Faculty of Pharmacy, Islamic Azad University, Tehran (voucher code: 621-PMP/A), the plant material was prepared for extraction (Ferri-Lagneau et al., 2012). Adult zebrafish were obtained from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, and maintained under standard laboratory conditions at 28.5 °C with a 14 h light/10 h dark photoperiod. Natural spawning was allowed, and embryos were cultured in embryo (Modarresi Chahardehi *et al*., 2020). For histological analysis, embryos treated with different concentrations were fixed in 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin, sectioned at 5 µm, and stained with H&E. Sections were examined under a light microscope (Fan *et al*., 2010). Brains of embryos treated with LC50 and a lower concentration were dissected, and RNA was extracted. cDNA synthesis was performed using the Pars Tous cDNA synthesis kit (Mashhad, Iran). cDNA quality was verified by conventional PCR amplification of the GAPDH reference gene, and products were visualized on agarose gel. Expression levels of *NeuroD*, *Ngn1*, and *Shh* were analyzed by quantitative Real-Time PCR using SYBR Green chemistry on a Rotor-Gene Q system in a final reaction volume of 20 µL (Fan *et al*., 2010). Primers were designed using Primer3Plus software. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software (version 7.0). One-way ANOVA, Dunnett's test, and independent t-tests were applied, and $p < 0.05$ was considered statistically significant (Fan et al., 2010).

Results: The results showed that ginger extract induced a significant, dose- and time-dependent increase in zebrafish embryo mortality ($p<0.05$). Notably, substantial mortality was observed even at concentrations below the LC50 (1.6

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

μg/mL), with the highest mortality occurring at the LC50 itself (p<0.01). These findings indicate cumulative and delayed effects of the extract on embryonic development. Also, the results indicated ginger extract exhibited altered expression of key neurodevelopmental genes, particularly the transcription factors *NeuroD* and *Neurogenin1* (Ngn1), which regulate neuronal differentiation, as well as the morphogen *Sonic hedgehog* (Shh), which is essential for neural patterning. These gene expression changes occurred in embryos that were morphologically normal, indicating that only subtle modifications in neurogenesis, rather than overt teratogenesis, had taken place. While no gross malformations were observed at moderate concentrations of ginger extract, the altered expression of *NeuroD/Ngn1* and *Shh* cannot be conclusively interpreted from zebrafish embryonic morphology alone. Nonetheless, the findings suggest the possibility of slight delays or shifts in neural specification. Exposure to higher concentrations around the LC50 (~1.6 μg/mL) caused a significant decrease in *NeuroD*, *Ngn1*, and *Shh* expression (p<0.05), demonstrating a dose-dependent inhibitory effect on neurodevelopment. Histological analysis of zebrafish embryonic brains revealed that the telencephalon, cerebellum, eyes, and gills in the control group appeared normal and free of malformations, indicating healthy development and providing a baseline for comparison with treated groups. The telencephalon in control embryos exhibited regularly arranged neurons and normal morphology, with no signs of tissue damage or degeneration, reflecting intact neural tissue suitable for comparison with embryos treated with ginger extract. Exposure of embryonic zebrafish brains to the LC50 dose of ginger extract induced histopathological alterations in the cerebellum, eyes, and gills. These changes included reduced cell density, disorganized layering, and disrupted tissue architecture. Severe neural damage in the telencephalon, including neuronal cell death and extensive vacuolization, was observed at the LC50 dose, indicating cellular destruction and high-dose neurotoxicity, which negatively affected neuronal differentiation and underscore the need for caution when using high doses. In contrast, treatment with a sub-LC50 concentration of ginger extract did not adversely affect critical structures such as the telencephalon, cerebellum, eyes, or gills. Tissue integrity was preserved, with no signs of extensive cell death or severe vacuolization, suggesting relative safety at lower doses. Mild tissue death and vacuolization in the telencephalon were noted at sub-LC50 doses; these changes appeared subtle and reversible, indicating limited cellular effects without widespread tissue damage below the toxicity threshold.

Conclusion: Ginger extract appears safe at therapeutic doses but induces neurodevelopmental alterations at higher concentrations. Considering potential side effects, maintaining appropriate dosing of herbal extracts during early developmental stages is critical for medicinal purposes. The present study demonstrated that acute exposure to concentrations ranging from low to high induced changes in gene expression, yet no embryonic malformations or losses were observed. Furthermore, there were no indications of severe developmental damage at these exposure levels, consistent with previous studies. This study provides new evidence that ginger extract can modulate neurodevelopmental gene networks in vivo and calls for a more balanced perspective. The traditional and medical applications of ginger are relatively well supported, and its impact on developmental biology deserves further investigation. Such systematic inquiry will help ensure that recommendations for ginger use, particularly during pregnancy and in relation to the brain and nervous system, are informed by both mechanistic data and clinical experience.

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflicts of interest related to this study.

Acknowledgement: The authors gratefully acknowledge the support and assistance of all individuals who contributed to this study.

Keywords: *Zingiber officinale*, Zebrafish embryo, *NeuroD*, *Ngn1*, *Shh*

* *Corresponding Author: dr_naji@iau.ir*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال بیستم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۵، صفحه های ۵۴-۳۵
DOI:10.71901/jad-2026-1-904

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی سمیت عصاره گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale*) در تکامل سیستم عصبی جنین گورخر ماهی (*Danio rerio*) بر ژن‌های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* با استفاده از روش Real-time PCR

فرناز وثوق[۱]، طاهره ناجی[۱*]، سعید محمدی معتمد[۲]، نیکو نصوحی[۱]

۱-گروه علوم پایه، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲-گروه فارماکوگنوزی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۲۹

چکیده

زنجبیل (*Zingiber officinale*) گیاهی از تیره زنجبیل است که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی به عنوان یک گیاه دارویی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات عصاره زنجبیل بر بیان ژن‌های نوروژنیک *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* در جنین‌های گورخر ماهی (*Danio rerio*) انجام شد. عصاره زنجبیل با استفاده از روش خیساندن در اتانول تهیه شد. جنین‌های گورخر ماهی به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از لقاح در معرض مجموعه‌ای از غلظت‌ها (۰/۷۶ تا ۲/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر) قرارگرفتند. جنین‌ها از نظر ریخت شناسی، مرگ و میر و ویژگی های بافت شناسی ارزیابی شدند. از PCR در زمان واقعی برای اندازه‌گیری رونویسی ژن استفاده شد. نتایج نشان داد غلظت‌های کم تا متوسط هیچ سمیت رشدی قابل توجهی ایجاد نکردند. تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی شواهدی از ساختارهای سالم مغز، مانند تکتوم بینایی و مخچه ارائه داد. قرار گرفتن در معرض غلظت های بالاتر LC_{50} ≈ 1.6 (میکروگرم در میلی‌لیتر) باعث کاهش قابل توجهی در بیان *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* ضریب تعیین ($p<0.05$) شد و همچنین به عنوان یک اثر مهاری "وابسته به دوز" با اهمیت فراوان در رشد عصبی نشان داده شد. بطورکلی می‌توان گفت عصاره زنجبیل در دوزهای درمانی بی‌خطر به نظر می‌رسد، اما در دوزهای بالاتر، عصاره زنجبیل باعث تغییرات عصبی-رشدی شد. با توجه به عوارض جانبی نهفته، حفظ دوزهای مناسب عصاره‌های گیاهی برای اهداف دارویی در دوره رشد اولیه بسیار مهم است.

کلمات کلیدی: زنجبیل، جنین ماهی گور خری، *NeuroD*، *Ngn1*، *Shh*

* عهده‌دار مکاتبات: dr_naji@iau.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

مقدمه

از آغاز تاریخ ثبت شده بشر، گیاهان با خواص دارویی یا «گیاهان دارویی» بخش جدایی‌ناپذیری از درمان‌های انسانی بوده‌اند و حتی امروزه نیز گیاهان دارویی منبع ضروری عوامل دارویی معاصر هستند. اکثر داروهای موجود امروزی از محصولات طبیعی یا مشابه آنها ساخته می‌شوند: اگرچه شیمی سنتزی مدرن امکان تولید فرمولاسیون‌های انحصاری جدیدی را فراهم کرده که با استفاده از ترکیبات طبیعی امکان‌پذیر نبوده‌اند، اما این روش‌ها همچنان دسترسی محدودی به تنوع شیمیایی و ساختاری موجود در ترکیبات گیاهی دارند. با توجه به این تنوع و دانش تجربی، به نظر می‌رسد علاقه به دارودرمانی مبتنی بر گیاهان در چند دهه اخیر به طور تصاعدی افزایش یافته و جستجو برای داروهای جدید از منابع گیاهی سنتی آغاز شده است (Mustafa *et al*., 2017). در این زمینه، زنجبیل (*Zingiber officinale*) یکی از رایج‌ترین گیاهان دارویی مورد استفاده در سراسر جهان است. در واقع، ریزوم زنجبیل به عنوان یک ادویه غذایی رایج و یک داروی گیاهی اصلی، هم به دلیل ترکیبات زیست فعال فراوان آن (اغلب فنول های تند، مانند [۶]-جینجرول و [۶]-شوگاول) و هم به دلیل خواص درمانی فراوان آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد. جالب توجه است که زنجبیل دارای فعالیت‌های ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، مسکن و غیره است (Bode and Dong, 2011). زنجبیل برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از مشکلات گوارشی گرفته تا آرتروز مورد استفاده قرار گرفته است. با این حال، به دلیل کاهش حالت تهوع و استفراغ در مشکلات گوارشی، زنان باردار و بیماران شیمی‌درمانی شناخته شده‌است (Bischoff-Kont and Fürst, 2021; Zhang *et al*., 2021). این ویژگی‌های دارویی به زنجبیل شهرت آن را به عنوان یک درمان طبیعی می‌دهد و به توضیح این موضوع کمک می‌کند که چرا دانشمندان بیشتر به فواید قابل تحقق آن برای سلامتی علاقه‌مند شده‌اند. با این حال، این ویژگی‌ها نگرانی‌هایی را در مورد مکانیسم‌های عمل و مرزهای مصرف ایمن نیز ایجاد می‌کنند.

مشخصات فیتوشیمیایی متنوع زنجبیل تا حد زیادی مسئول فواید نهفته درمانی آن است. تصور می‌شود که جزء اصلی تند، [۶]-جینجرول، نقش مهمی در فعالیت های دارویی اولئورزین زنجبیل دارد که حاوی انواع ترکیبات فعال زیستی است (Ghafoor *et al*., 2020). در تحقیقات پیش‌بالینی، عصاره‌های زنجبیل و اجزای جدا شده از آنها، اثرات ضد نئوپلاستیک، متابولیک و محافظت عصبی را از طریق مسیرهای مولکولی مختلف نشان داده‌اند (Bischoff-Kont and Fürst, 2021; Bode and Dong, 2011; Ghafoor *et al*., 2020; Srinivasan, 2017; Zhang *et al*., 2021). برای مثال، زنجبیل در کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو مرتبط با بیماری‌های مزمن نویدبخش بوده است، و در یک نمونه صرع در گورخر ماهی، نشان داده شد که ترکیب ۶-جینجرول دارای خواص ضد تشنجی است (Moussavi *et al*., 2024). زنجبیل برای دوزهای آشپزی یا مکمل بی‌خطر در نظرگرفته می‌شود و سابقه طولانی در استفاده انسانی بدون عوارض جانبی جدی دارد (Kaul and Joshi, 2001; Wilkinson, 2000). با این حال، هنگام استفاده دارویی از آن باید احتیاط کرد زیرا فارماکودینامیک و سمیت آن به طور کامل شناخته نشده است (Bode and Dong, 2011).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

مصرف بیش از حد یا طولانی مدت زنجبیل ممکن است عواقب ناخواسته‌ای برای سیستم‌های مختلف اندام‌ها داشته باشد. در واقع، داده‌های اولیه نشان می‌دهد که دوزهای مزمن زنجبیل ممکن است سمیت خفیفی را در داخل بدن نشان دهند: به عنوان مثال، دوزهای متوسط و فوق درمانی عصاره زنجبیل به طور موقت آنزیم‌های کبدی (ALT، AST) را افزایش می‌دهند که نشان‌دهنده استرس سلولی کبدی و همچنین افزایش سطح نیتروژن اوره خون و کراتین است که نشان‌دهنده بار عملکردی کلیه ها برای دفع است (Elshater *et al*., 2009; Hamza *et al*., 2021). زنجبیل وقتی در مقادیر کم تا متوسط مصرف شود، به هضم غذا در دستگاه گوارش کمک می‌کند، اما مصرف بیش از حد آن می‌تواند معده را ناراحت کند یا باعث رفلاکس و اسهال شود (Gaeddert, 2018). اثرات زنجبیل بر سیستم عصبی به طورخاص به کار فعلی این تحقیق مربوط می‌شود. هم جینجرول‌ها و هم شوگاول‌ها می‌توانند فعالیت عصبی را تغییر دهند و به راحتی از غشاهای بیولوژیکی عبور کنند (Ozkur *et al*., 2022; Shanmugam *et al*., 2011). این مواد شیمیایی گیاهی ممکن است در غلظت‌های پایین‌تر اثرات محافظت عصبی داشته باشند، مانند از بین بردن رادیکال‌های آزاد در بافت عصبی یا کاهش التهاب عصبی. اما در سطوح بالا، ممکن است در تعادل ردوکس و سیگنالینگ مغز اختلال ایجاد کنند، که می‌تواند نحوه بیان ژن‌هایی را که رشد و تمایز عصبی را کنترل می‌کنند، تغییر دهد (Ahmad *et al*., 2006; Ahmad *et al*., 2015; Ghafoor *et al*., 2020). طبق برخی گزارش‌ها، مصرف بیش از حد زنجبیل حتی ممکن است سطح انتقال دهنده‌های عصبی را تغییر داده و بر عملکرد رفتاری یا شناختی تأثیر بگذارد (Gawel *et al*., 2021). از آنجایی که زنجبیل اغلب توسط زنان برای حالت تهوع در اوایل بارداری استفاده می‌شود، با توجه به اینکه به طور کلی استفاده از آن بی‌خطر است زیرا هیچ مطالعه‌ای اثرات تراتوژنیک را نشان نمی‌دهد، ارزیابی دقیق اینکه قرارگرفتن در معرض سیستمیک بیشتر مواد فعال زنجبیل می‌تواند تأثیری بر رشد جنین، به ویژه در سیستم‌های عصبی در حال توسعه داشته باشد، مهم است (Haniadka *et al*., 2013).

برخی موجودات زنده شاخص، روشی مناسب برای بررسی سمیت رشدی در داخل بدن (*in vivo*) ارائه می‌دهند. گورخر ماهی (*Danio rerio*) به عنوان یک نمونه قدرتمند و سازگار برای مطالعه رشد مهره‌داران و سمیت عصبی شناخته شده است. گورخر ماهی دارای چندین مزیت عملی و بیولوژیکی در سم شناسی است. اول، جنین‌های آنها در خارج از رحم رشد می‌کنند و جنین‌های آنها از نظر نوری شفاف هستند و به محقق این امکان را می‌دهند که رشد ریخت شناسی و اندام‌زایی را در زمان واقعی مشاهده کند (Chávez *et al*., 2016; Modarresi Chahardehi *et al*., 2020; Pham *et al*., 2016). غربالگری با توان بالا از اثرات سمی در مراحل رشد، به دلیل تولید مثل فراوان آنها، که صدها جنین را از یک جفت‌گیری واحد تولید می‌کند، آسان تر شده است (Modarresi Chahardehi *et al*., 2020). گورخر ماهی از نظر ژنتیکی و فیزیولوژیکی شباهت زیادی به انسان دارد، تقریباً ۷۰ درصد از ژن‌های مرتبط با بیماری‌های انسانی، ارتولوگ‌های گورخر ماهی را دارند و سیستم عصبی مرکزی ساده‌تری دارند، اما از بسیاری جهات اساسی، رشد عصبی مهره‌داران را منعکس می‌کنند (Sanes *et al*.,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

2011). مسیرهای سیگنالینگ مرتبط و شبکه‌های ژنی مهم برای رشد عصبی انسان (مانند *Notch*، *Wnt*، *Sonic hedgehog*، فاکتورهای رونویسی مارپیچ-حلقه-مارپیچ پایه) در گورخر ماهی حفظ شده‌اند و آنها را به نمونه‌ای مناسب برای مطالعه سمیت عصبی رشدی در انسان تبدیل می‌کنند. جنین های گورخر ماهی اکنون به طور گسترده در مطالعات سمیت به عنوان یک نمونه واسطه بین کشت سلولی و مطالعات پستانداران به کار می‌روند: آنها امکان شناسایی زودهنگام خطر و مکانیسم مطالعات عمل را فراهم می‌کنند، در حالی که با اصول 3Rs (جایگزینی، کاهش، اصلاح) تحقیقات حیوانی همسو هستند (Modarresi Chahardehi *et al*., 2020). در واقع، آزمایش‌های سمیت جنینی گورخر ماهی در سم‌شناسی در قرن بیست و یکم قراردارند و توسط سازمان‌هایی مانند FDA و NIH ایالات متحده برای ارزیابی ایمنی دارو تأیید شده‌اند (Caballero and Candiracci, 2018, Kozioł *et al*., 2019). این نمونه برای غربالگری موفقیت‌آمیز سمیت چندین عصاره گیاه دارویی در داخل بدن (*in vivo*) مورد استفاده قرار گرفته است، در حالی که اثرات تراتوژنیک یا نوروتوکسیک ممکن است در شرایط آزمایشگاهی مشاهده نشده باشد. بنابراین، گورخر ماهی یک نمونه تجربی عالی برای بررسی اثرات عصاره زنجبیل بر رشد سیستم عصبی است، زیرا ترکیبی از ارتباط ژنتیکی، قابلیت ردیابی تجربی و پیچیدگی کل ارگانیسم را فراهم می‌کند (Modarresi Chahardehi *et al*., 2020). سیستم عصبی در حال رشد در سطح مولکولی توسط مجموعه‌ای از ژن‌ها هدایت می‌شود که تکثیر پیش سازها، تعیین سرنوشت سلولی و تمایز را تنظیم می‌کنند. این عوامل شامل فاکتورهای رونویسی مارپیچ-حلقه-مارپیچ پایه نوروژنیک (bHLH) و مورفوژن‌های سیگنالینگ اصلی هستند. دو فاکتور رونویسی bHLH که به عنوان نوروژنین-۱ (*Ngn1*) و *NeuroD* (فاکتور تمایز نوروژنیک) شناخته می‌شوند، یکی پس از دیگری در فرآیند سلسله مراتبی رشد عصبی عمل میکنند. *Ngn1* به عنوان یک ژن پیش عصبی عمل می‌کند که سلول‌های پیش ساز را به دودمان‌های عصبی تبدیل می‌کند. این ژن در مناطق نوروژنیک فعال است و برای تولید جمعیت های عصبی متعدد مورد نیاز است. به عنوان مثال، در گورخر ماهی، ژن واحد neurog1 برای رشد همه گانگلیون‌های حسی جمجمه مورد نیاز است و از دست دادن عملکرد *Ngn1* مانع از تمایز کل این جمعیت نورونی می شود. به دلیل عملکرد بالادستی آن در آبشار ژنتیکی نوروژنز، بیان *Ngn1* گذرا است و اغلب قبل از *NeuroD* رخ می‌دهد (Andermann *et al*., 2002). *NeuroD1* (که به اختصار *NeuroD* نامیده می‌شود) ژنی است که کمی دیرتر در نورون‌های در حال بلوغ بیان می‌شود و نقش کلیدی در تمایز نهایی و بقای نورون‌ها دارد. فقدان *NeuroD1* منجر به نقص‌های شدید عصبی-رشدی می‌شود: موش‌های فاقد *NeuroD1*، ناهنجاری‌های شدیدی در سیستم عصبی، از جمله سیستم عصبی مرکزی و محیطی، نشان می‌دهند که نقش اساسی *NeuroD* را در بلوغ عصبی برجسته می‌کند. *Ngn1* و *NeuroD* ژن‌هایی هستند که پیشرفت از پیش سازهای عصبی به نورون‌های تمایز یافته را تنظیم می‌کنند، بنابراین نشانگرهای حساسی برای هرگونه تغییر در برنامه عصبی-رشدی هستند (Aran *et al*., 2025; Li *et al*., 2010). برخلاف این فاکتورهای رونویسی،

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

سونیک هج هاگ (Sonic hedgehog) (*Shh*) یک مورفوژن ترشحی است که برای الگودهی و رشد سیستم عصبی جنینی ضروری است. *Shh* توسط ساختارهای خط میانی تولید می‌شود و هویت‌های شکمی را در لوله عصبی از طریق سیگنالینگ گرادیان مشخص می‌کند. همچنین تکثیر پیش سازهای عصبی را افزایش می‌دهد در حالی که تمایز آنها را خیلی زود مهار می‌کند (Belgacem *et al*., 2016). سیگنالینگ صحیح *Shh* برای سازماندهی ساختار مغز و نخاع مورد نیاز است، اختلال در سیگنالینگ *Shh* می‌تواند منجر به ناهنجاری‌های ویرانگر شود. جهش‌های هتروزیگوت در *SHH* از علل شناخته شده هولوپروزنسفالی در انسان هستند، یک اختلال رشدی که با عدم تقسیم مغز پیشین به دو نیمه مشخص می‌شود و نقش مهم *Shh* را در الگوسازی اولیه سیستم عصبی مرکزی (CNS) نشان می‌دهد (Gupta *et al*., 2022; Odent *et al*., 1999). حتی تعدیل اندک سطح *Shh* نیز می‌تواند نسبت تولید نورون و گلیال را در طول سیناپتوژنز تغییر دهد. بنابراین، *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* سه جنبه اصلی رشد عصبی را نشان می‌دهند: تمایز عصبی، تعیین سرنوشت عصبی و الگوسازی مبتنی بر توالی. تغییر در هر یک از این عوامل ممکن است نشان دهنده اختلال در سیستم به طور کامل تنظیم شده رشد عصبی باشد (Belgacem *et al*., 2016).

از آنجایی که زنجبیل به طور گسترده مصرف می‌شود و اثر زیست فعالی بر مسیرهای سلولی دارد، مطالعه علمی و بالینی این موضوع که آیا قرار گرفتن در معرض زنجبیل در طول رشد می‌تواند بر رشد عصبی تأثیر بگذارد یا خیر، مرتبط است. با تأکید بیشتر بر این شکاف دانش، داده‌های کمی در مورد اثرات زنجبیل با استفاده از نمونه‌های جنینی وجود دارد، به ویژه در مورد هرگونه نقطه پایانی مولکولی رشد عصبی. این مطالعه برای پرکردن این شکاف طراحی شده است و با استفاده از نمونه تجربی گورخر ماهی، با بررسی پروفایل‌های بیان ژن *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* مشخص می‌کند که آیا عصاره زنجبیل برای سیستم عصبی در حال رشد سمی است یا خیر؟ با استفاده از PCR کمی در زمان واقعی (qRT-PCR) در جنین‌های گورخر ماهی که در معرض عصاره زنجبیل قرارگرفته‌اند، در نقاط زمانی رشدی انتخاب شده، سطح تغییر رونوشت‌های خاص (ژن‌ها) را به صورت کمی ارزیابی شد. این رویکرد، معیار حساسی از اختلال رشد عصبی را در سطح مولکولی ارائه می‌دهد. با مرتبط کردن تغییرات بیان ژن با تغییرات فنوتیپی (از جمله بقای جنین، ریخت‌شناسی و ساختار مغز)، انتظار می‌رود نشان داده شود که آیا اثرات دارویی زنجبیل به سمیت عصبی در حال رشد نیز تبدیل می‌شود ویا دوز ایمنی وجود دارد یا خیر؟ دلیل انتخاب *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* این است که آنها رویدادهای نوروژنیک اولیه مربوط به مکانیسم‌های الگوسازی را نشان می‌دهند و هرگونه اختلال هماهنگ در بیان آنها می‌تواند نشان دهنده پتانسیل ناسازگاری‌های رشدی در آینده باشد. این مطالعه نه تنها شواهدی برای ایمنی زنجبیل در زمینه رشد عصبی جنینی ارائه می‌دهد، بلکه به درک انسان از روابط گیاهان یا ترکیبات مشتق شده از گیاهان با اجزای مشترک برنامه های ژنتیکی رشدی کمک می‌کند. این اطلاعات به فارماکولوژی و سم شناسی معاصر ارائه خواهد شد، زیرا مطالعات معاصر، اجزای ضروری غیر فیتوشیمیایی مانند زنجبیل را با تغییرات ظریف یا طولانی مدت در سلامت انسان متعادل می‌کنند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

مواد و روش‌ها

این تحقیق در فروردین ۱۴۰۳ در آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده داروسازی تهران انجام گرفت. در این مطالعه، نمونه‌ای از گیاه زنجبیل، از شرکت باریج اسانس (ایران، تهران) تهیه گردید و پس از تأیید و ثبت در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی تهران با کد 621-PMP/A، برای عصاره‌گیری آماده شد. به منظور تهیه عصاره، مقدار ۲۰ گرم از ریزوم خشک گیاه در هاون استریل آسیاب شد و با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط گردید. این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت تحت هم‌زدن مداوم با همزن مغناطیسی (IKA C-MAG HS 7) قرار گرفت (Ferri-Lagneau *et al*., 2012). سپس محلول حاصل توسط دکانتور (SCHOTT DURAN Separatory Funnel 500 mL) دارای کاغذ صافی و پمپ خلأ فیلتر شد. فرآیند عصاره‌گیری به منظور افزایش بازده، سه بار تکرار گردید. عصاره نهایی با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد روی همزن مغناطیسی قرار داده شد تا اتانول به طور کامل تبخیر شود و حجم محلول به مقدار ثابتی برسد (Ferri-Lagneau *et al*., 2012). به منظور بررسی اثر عصاره بر رشد و تکامل سیستم عصبی، از گورخر ماهی به عنوان نمونه آزمایشگاهی استفاده شد. تمامی مراحل مطالعه مطابق با اصول اخلاق در پژوهش و با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران و کد اخلاق R.IAU.PS.REC.1402.583 انجام‌گرفت. گورخرماهیان بالغ از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند و در شرایط استاندارد شامل دمای ۲۸/۵ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تخم‌ریزی طبیعی انجام گرفت و جنین ها در آب جنین با ترکیب HEPES، NaCl، KCl، $MgSO_4$ و $Ca(NO_3)_2$ و pH معادل ۷/۶ در دمای ۲۸/۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تعیین حداکثر غلظت قابل تحمل عصاره، جنین‌ها در پلیت‌های ۶ چاهکی (هر چاهک حاوی ۱۰ جنین در ۱۰ میلی لیتر آب استریل) قرارگرفتند و محلول عصاره در غلظت‌های ۰/۷۶، ۱/۱۴، ۱/۵۲، ۱/۹۰و ۲/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر به محیط کشت اضافه گردید. پس از دوره انکوباسیون، جنین‌ها روی لام شیشه‌ای منتقل و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند (Modarresi Chahardehi *et al*., 2020). برای مطالعات بافت‌شناسی، جنین‌های تیمار شده با محلول عصاره در غلظت‌های مختلف پس از انکوباسیون جمع‌آوری و با محلول ۴ درصد پارافرمالدئید فیکس شدند. نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده، برش‌های ۵ میکرومتری تهیه گردید و سپس با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. برش‌ها با میکروسکوپ نوری (Olympus CX23) بررسی و تغییرات هیستولوژیکی شامل ناهنجاری‌ها و آسیب‌های سلولی مستندسازی شد (Fan *et al*., 2010). در ادامه، مغز جنین‌های تیمار شده با غلظت LC_{50} و یک غلظت پایین تراز LC_{50} جداسازی شد. سپس RNA از آن‌ها استخراج گردید. استخراج RNA با روش مایع-مایع فنل/کلروفرم انجام شد. نمونه‌ها پس از هموژن سازی در نیتروژن مایع، با فنل و کلروفرم ترکیب شدند و پس از سانتریفیوژ (Eppendorf 5425 R)، فاز آبی حاوی RNA جدا گردید. RNA با ایزوپروپانول رسوب داده شد، با اتانول شسته شد و در آب بدون RNase حل گردید. خلوص و غلظت RNA با دستگاه نانودرآپ از

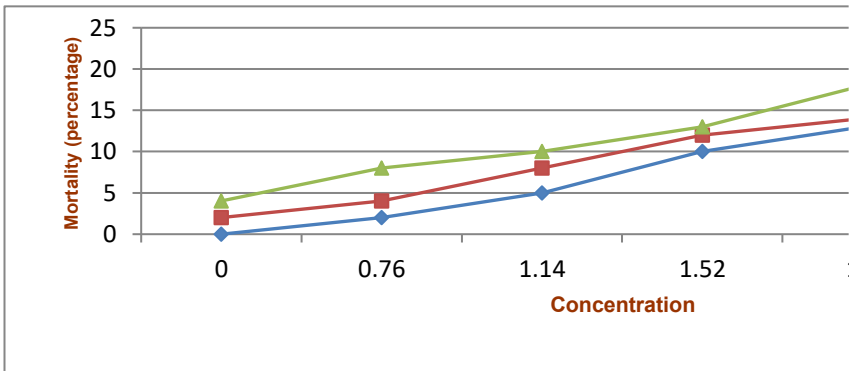
[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

طریق جذب در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی شد و کیفیت آن با الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تأیید شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت پارس طوس زیست فناور (مشهد، ایران) انجام گرفت. واکنش شامل RT Master Mix، الیگو dT، RNA و آب بدون RNase بود و در دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad T100 Thermal Cycler) با سه مرحله دمایی ۲۵ درجه (۱۰ دقیقه)، ۴۷ درجه (۶۰ دقیقه) و ۸۵ درجه (۵ دقیقه) اجرا شد. کیفیت cDNA با انجام PCR معمولی با پرایمر ژن GAPDH بررسی شد و محصول بر روی ژل آگارز مشاهده گردید. برای بررسی بیان ژن های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh*، واکنش Real-Time PCR با رنگ SYBR Green و دستگاه Rotor-Gene Q در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد (Fan *et al*., 2010). پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Primer3Plus طراحی شدند. داده‌های حاصل به صورت مقادیر Ct استخراج و روش ΔΔCt برای تحلیل میزان بیان استفاده گردید. در این روش، اختلاف Ct ژن هدف و ژن مرجع محاسبه و تفاوت آن در گروه تیمار و کنترل بررسی شد. میزان بیان نسبی ژن‌ها با فرمول $(\Delta\Delta Ct)^{-2}$ محاسبه شد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۷/۰۵ و آزمون های آماری ANOVA یک طرفه، آزمون دانت و t-test مستقل انجام شد و سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (Fan *et al*., 2010).

نتایج

سمیت زنجبیل در جنین گورخر ماهی

نتایج نشان داد که عصاره زنجبیل باعث افزایش معنی‌دار مرگ‌ومیر جنین گورخر ماهی به صورت وابسته به دوز و زمان شد ($P<0.05$). حتی در غلظت‌های کمتر از LC_{50} (۱.۶ µg/mL) نیز مرگ‌ومیر قابل توجه بود و در خود LC_{50} به اوج رسید ($P<0.01$). این نتایج نشان‌دهنده اثرات تجمعی و تأخیری عصاره بر تکوین جنینی هستند (شکل ۱).



شکل ۱: میزان مرگ و میر در جنین گورخر ماهی پس از تیمار در غلظت های مختلف

Figure 1: Mortality rate in zebrafish embryos after treatment at different concentrations

اثرات سمی زنجبیل بر رشد و ریخت شناسی جنین گورخر ماهی

طبق شکل ۲، در ۲۴ ساعت اول، عصاره زنجبیل هیچ اثر ریخت‌شناسی نداشت و تخم گشایی مشاهده نشد. در ۴۸ و ۷۲ ساعت، تخم گشایی آغاز شد و در غلظت ۱.۶ میکروگرم بر میلی لیتر، ناهنجاری قابل توجهی دیده نشد، که بیانگر ایمنی نسبی عصاره در این غلظت است شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]



شکل ۲: فنوتیپ‌های ریخت شناسی جنین گورخر ماهی، A: ۲۴ ساعت، B: ۴۸ ساعت و C: ۷۲ ساعت پس از لقاح

Figure 2: Morphological phenotypes of zebrafish embryos, A: 24 hours, B: 48 hours and C: 72 hours after fertilization.

مطابق شکل ۳، پس از تیمار در غلظت LC50، (۱.۶ میکروگرم درمیلی لیتر) پس از ۷۲ ساعت مرگ و عدم تکامل جنین ها مشاهده شد.



شکل ۳: فنوتیپ های ریخت شناسی جنین گورخر ماهی بعد از تیماربا زنجبیل در غلظت LC_{50} پس از ۷۲ ساعت

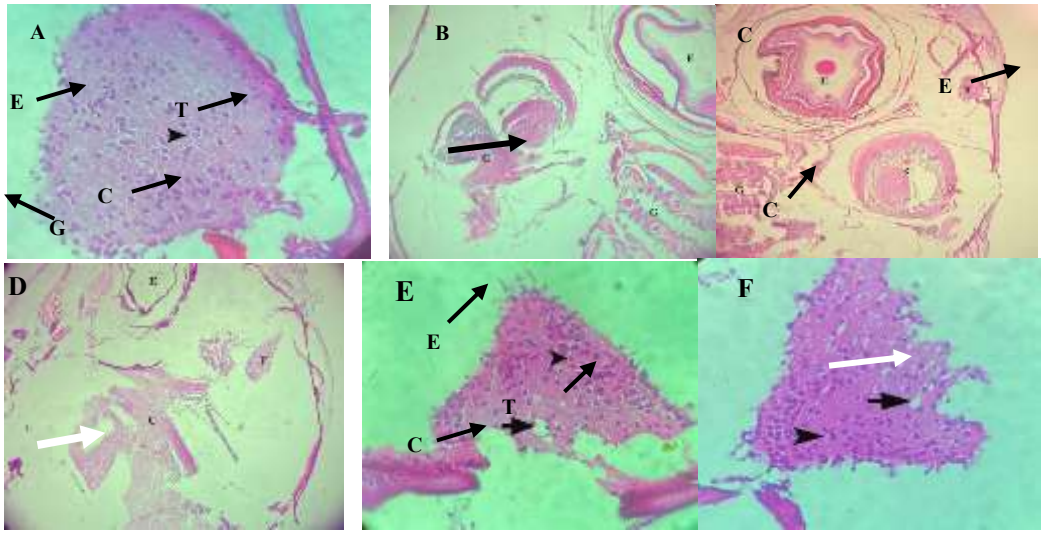
Figure 3: Morphological phenotypes of zebrafish embryos after treatment with ginger at LC50 concentration after 72 hours.

بررسی هیستولوژی مغز جنین گورخر ماهی پس از تیمار زنجبیل

در شکل 4A، ساختارهای تلنسفال، مخچه، چشم و آبشش در جنین گورخر ماهی در گروه کنترل به صورت طبیعی و بدون ناهنجاری دیده می‌شوند که نشان دهنده رشد سالم و پایه‌ای برای مقایسه با گروه‌های تیمار شده است. در شکل 4B، تلنسفال جنین گورخر ماهی در گروه کنترل با نورون‌های منظم و ریخت‌شناسی طبیعی دیده می‌شود. نبود علائم آسیب مانند مرگ بافتی یا تحلیل رفتگی، نشان دهنده سلامت بافت عصبی و پایه‌ای مناسب برای مقایسه با گروه‌های تیمار شده با عصاره زنجبیل است. شکل 4C نشان می‌دهد که تیمار جنین گورخر ماهی با دوز LC_{50} عصاره زنجبیل موجب تغییرات آسیب شناختی در مخچه، چشم و آبشش ها شده است. این تغییرات شامل کاهش تراکم سلولی، بی‌نظمی لایه بندی و اختلال در ساختارهای بافتی است که بیانگر تأثیر منفی دوز سمی عصاره بر رشد عصبی و تنفسی جنین می‌باشد. شکل 4D بیانگر آسیب‌های شدید عصبی در تلنسفال جنین گورخر ماهی پس از تیمار با دوز LC_{50} عصاره زنجبیل است. مرگ بافتی نورونی و واکوئولاسیون گسترده نشان دهنده تخریب سلولی و سمیت عصاره در دوز بالا هستند که بر تمایز نورونی تأثیر منفی می‌گذارند و بر لزوم احتیاط در مصرف دوزهای بالا تأکید دارند. شکل 4E نشان می‌دهد که تیمار با دوزی کمتر از LC_{50} عصاره زنجبیل تأثیر مخربی بر ساختارهای حیاتی مانند تلنسفال، مخچه، چشم و آبشش جنین گورخر ماهی نداشته است. انسجام بافتی حفظ شده و نشانه‌ای از مرگ بافتی یا واکوئولاسیون شدید دیده نمی‌شود، که بیانگر ایمنی نسبی در دوزهای پایین‌تر است؛ هرچند بررسی‌های دقیق‌تر برای تأیید نهایی لازم است. شکل 4F نشان دهنده مرگ بافتی و واکوئولاسیون خفیف در تلنسفال جنین گورخر ماهی پس از تیمار با دوزی کمتر از LC_{50} عصاره زنجبیل است. این تغییرات خفیف و برگشت‌پذیر به نظر می‌رسند و بیانگر اثرات سلولی محدود بدون آسیب گسترده بافتی در دوزهای زیر آستانه سمیت هستند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

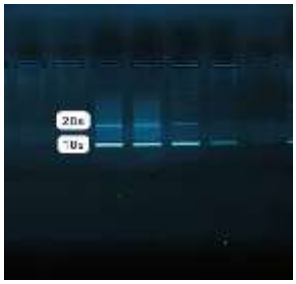


شکل ۴: A) مقطع سرجنین گورخر ماهی در گروه کنترل که تلنسفال مغز (T) و مخچه(C) و چشم(E)، ابشش(G). B) مقطع تلنسفال مغز در گروه کنترل که نورون ها (نوک پیکان) بصورت نرمال. C) مقطع گورخر ماهی در گروه LC_{50} که مخچه(C) و چشم (E)، آبشش(G). D) مقطع تلنسفال مغز در گروه LC_{50} که مرگ بافتی نورون‌ها (پیکان سفید) و واکوئولاسیون شدید (پیکان مشکی). E) مقطع سرجنین گورخر ماهی در گروه کمتر از LC_{50} که تلنسفال مغز (T) مخچه (C) چشم (E) و آبشش(G). F) مقطع تلنسفال مغز در گروه کمتر از LC_{50} که مرگ بافتی خفیف نورون‌ها (نوک پیکان سفید) و واکوئولاسیون خفیف (پیکان مشکی)

Figure 4: A) Head section of zebrafish embryo in the control group showing the telencephalon of the brain (T) and cerebellum (C) and eye (E), gills (G). B) Head section of the telencephalon of the brain in the control group showing normal neurons (arrowheads). C) Head section of zebrafish in the LC50 group showing cerebellum (C) and eye (E), gills (G). D) Head section of the telencephalon of the brain in the LC50 group showing neuronal tissue death (white arrow) and severe vacuolation (black arrow). E) Head section of zebrafish embryo in the less than LC50 group showing telencephalon of the brain (T), cerebellum (C), eye (E), and gills (G). F) Head section of the telencephalon of the brain in the less than LC50 group showing mild neuronal tissue death (white arrowhead) and mild vacuolation (black arrow).

استخراج RNA از بافت مغز جنین گورخر ماهی قبل و بعد از تیمار با زنجبیل

برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از بافت مغز جنین گورخر ماهی پیش و پس از تیمار با زنجبیل، ابتدا نمونه ها جمع آوری و سپس با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه نانودراپ از نظر کیفیت و کمیت ارزیابی شدند. وجود باندهای واضح ۱۸ S و ۲۸ S در ژل نشان دهنده عدم تجزیه و صحت RNA استخراج شده است (شکل ۵). برای ارزیابی کمیت و خلوص RNA استخراج شده، نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. این نسبت شاخص خلوص اسیدهای نوکلئیک است و برای RNA خالص، مقدار آن باید در بازه ۱/۸ تا ۲/۰ قرارگیرد (جدول ۱).



شکل ۵. باندهای حاصل از RNA استخراج شده از تعدادی از نمونه های مورد پژوهش

Figure 5. Bands from RNA extracted from a number of the samples studied.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

جدول ۱: تعیین مقدار RNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ.

Table 1: Quantification of RNA extracted using NanoDrop.

Row	Sample	Concentration (µg/ml)	Optical density (۲۶۰/۲۸۰)
1	A	178.253	2.173
2	B	165.293	2.207
3	C	156.01	2.619
4	D	124.01	2.466

Blast پرایمرهای طراحی شده جهت بررسی صحت طراحی پرایمر ها

جهت اطمینان از توالی پرایمر *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* برای کاربرد خاص PCR ، تمامی پرایمرها در سایت BLAST،NCBI شد.

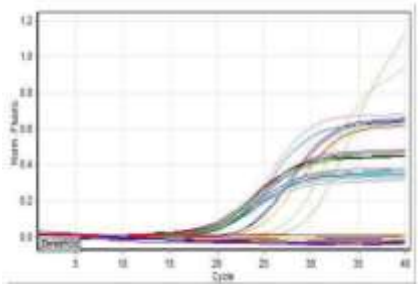


شکل ۶: نتایج BLAST پرایمر های طراحی شده

Figure 6: BLAST results of designed primers

منحنی های ذوب وتکثیر ژن های *NeuroD, Ngn1, Shh*

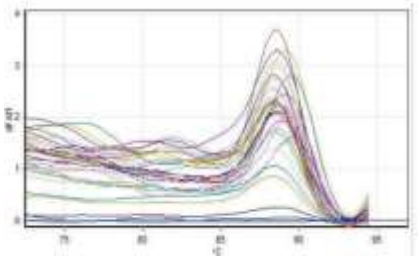
برای اطمینان از اختصاصی‌بودن واکنش PCR و صحت پرایم‌گذاری، منحنی های ذوب مورد بررسی قرارگرفتند. همچنین، منحنی های تکثیر جهت ارزیابی کیفیت و کارایی سنجش ژن‌های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* تحلیل شدند، که نقش مهمی در تأیید دقت نتایج بیان ژن‌ها دارند.



شکل ۷: منحنی تکثیر ژن های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* در واکنش qPCR

Figure 7: Amplification curve of NeuroD, Ngn1, and Shh genes in qPCR reaction

شکل ۷ نشان دهنده آغاز تکثیر اختصاصی ژن‌ها از طریق مقادیر Ct و هم پوشانی منحنی هاست که دقت پرایمرها و یکنواختی واکنش PCR را تأیید می‌کند.



شکل ۸: منحنی ذوب ژن‌های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* پس از انجام واکنش qPCR

Figure 8: Melting curve of NeuroD, Ngn1, and Shh genes after qPCR reaction

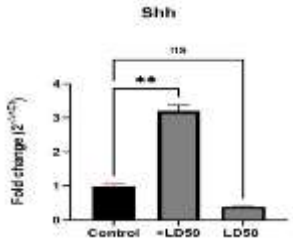
شکل ۸ با نمایش قله تیز و یکتا در dF/dT، اختصاصی بودن تکثیر و نبود محصولات غیراختصاصی را نشان داد. یکنواختی دمای ذوب بین تکرارها نیز دقت و تکرارپذیری واکنش را تأیید می‌کند.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

بررسی میزان بیان ژن های *NeuroD, Ngn1, Shh* در غلظت های مختلف LC_{50}

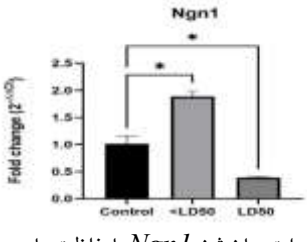
شکل ۹ نشان داد که بیان ژن Shh در گروه تیماری کمتر از LC_{50} به طور معناداری افزایش یافت ($p<0.01$)، در حالی‌که در گروه LC_{50} کاهش یافت اما از نظر آماری معنادار نبود ($p>0.01$). این نتایج بیانگر اثر تحریکی دوز پایین و اثر مهاری احتمالی دوز بالا بر بیان ژن *Shh* هستند.



شکل ۹: تغییرات بیان ژن *Shh* تحت تأثیر تیمار با غلظت‌های مختلف در گروه های کنترل،کمتر از LC_{50} و LC_{50}

Figure 9: Changes in Shh gene expression under the influence of treatment with different concentrations in the control, less than LC50 and LC50 groups

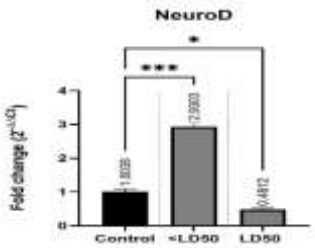
شکل ۱۰ نشان می دهد که بیان ژن *Ngn1* در دوز پایین‌تر از LC_{50} به طور معناداری افزایش و در دوز به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p<0.05$). این LC_{50} نتایج بیانگر اثر تحریک‌کننده دوز پایین و اثر مهاری دوز بالا بر بیان *Ngn1* هستند.



شکل ۱۰: تغییرات بیان ژن *Ngn1* با غلظت‌های مختلف در روه‌های کنترل، کمتر از LC_{50} و LC_{50}

Figure 10: Changes in Ngn1 gene expression with different concentrations in control, less than LC50 and LC50 treatments

شکل ۱۱ نشان می دهد که بیان ژن *NeuroD* در دوز کمتر از LC_{50} به طور معنادار و چشمگیری افزایش یافته (۲/۹۳ برابر، $p<0.0001$)، در حالی‌که در دوز LC_{50} کاهش معنی داری مشاهده شده است ($p<0.05$). این نتایج نشان دهنده اثر تحریک‌کننده دوز پایین و اثر مهاری دوز بالا بر بیان ژن *NeuroD* هستند.



شکل۱۱: تغییرات بیان ژن *NeuroD* در غلظت های مختلف در گروه‌های کنترل، کمتر از LC_{50} و LC_{50}

Figure 11: Changes in NeuroD gene expression at different concentrations in control, below LC50 and LC50 groups

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

بحث

در این مطالعه، جنین‌های گورخر ماهی که با عصاره زنجبیل تیمار شده بودند، بیان ژن‌های حیاتی رشد عصبی، به ویژه فاکتورهای رونویسی برای تمایز عصبی *NeuroD* و (*Ngn1*) *Neurogenin1* و مورفوژن *Sonic hedgehog* (*Shh*) را که برای الگوسازی عصبی حیاتی است، تغییر دادند. این تغییرات بیان ژن در جنین‌هایی رخ داد که از نظر ریخت‌شناسی طبیعی بودند و نشان داد که فقط تغییرات ظریفی در نوروژنز رخ می‌دهد نه تراتوژنز ناخالص. در حالی که هیچ ناهنجاری ناخالصی در غلظت‌های متوسط مشاهده نشد، هیچ ناهنجاری ناخالصی در دوزهای متوسط عصاره زنجبیل مشاهده نشد. درحالی‌که تغییرات بیان ژن در رونویسی *NeuroD/Ngn1* و *Shh* را نمی‌توان به طور قطعی براساس مشاهدات ریخت‌شناسی جنین‌های گورخر ماهی بیان کرد، اما می‌تواند نشان دهد که مقداری تأخیر/ تغییر در مشخصات عصبی وجود داشته است. این موضوع همچنین با مطالعاتی که نشان می‌دهند تغییر بیان *Ngn1* یا *NeuroD* تأثیر زیادی بر رشد نورون‌های اولیه دارد و تغییر سیگنالینگ *Shh* می‌تواند الگوسازی لوله عصبی را مختل کند، تأیید می‌شود (Mueller and Wullimann, 2002; Yang *et al.*, 2021).

- نشانگرهای نوروژنز، اختلال قابل توجه در تنظیم رونوشت های *Ngn1* و *NeuroD* نشان دهنده تغییر در زمان تمایز عصبی است.
- سیگنال الگوسازی، تغییر در الگوی عصبی شکمی با تفاوت قابل توجه در بیان *Shh* سازگار است.
- در غلظت‌هایی که آزمایش شد، عصاره به احتمال زیاد تأثیر کمی بر ریخت‌شناسی ناخالص یا زنده ماندن جنین داشت، حتی اگر این ژن‌ها تغییر کرده باشند.

یافته‌ها با کاربرد گورخر ماهی به عنوان نمونه‌ای برای سمیت عصبی رشدی همسو است: جنین‌ها از نظر ژنتیکی قابل ردیابی هستند و به صورت خارجی رشد می‌کنند، که امکان ارزیابی سریع نشانگرهای زیستی نوروژنز را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، Fan و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که *Ngn1* و *Shh* اغلب در گورخر ماهی در طول رشد عصبی بیان می‌شوند و توسط نوروتوکسین‌های شناخته شده (به عنوان مثال، اتانول) مختل می‌شوند. به طور مشابه، جنین‌های تحت درمان با زنجبیل پروفایل های *Ngn1/NeuroD* و *Shh* تغییر یافته‌ای را نشان دادند. بنابراین، *Ngn1/NeuroD* و *Shh* ممکن است به عنوان نقاط پایانی حساس برای اختلال عصبی در گورخر ماهی عمل کنند.

یک بررسی سیستماتیک در توسط Williams و همکاران در سال ۲۰۲۵ نتیجه گرفت که دوزهای کم تا متوسط زنجبیل اغلب برای جنین (تقویت رشد، کاهش آسیب اکسیداتیو) و محافظت در برابر آسیب‌های سمی مفید است، در حالی که دوزهای بالا پتانسیل سمیت تولید مثلی را دارند. همچنین، آنها گزارش دادند که زنجبیل با دوز متوسط (تا حدود ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثرات منفی سایر سموم را کاهش می‌دهد، در حالی که مقادیر بیش از حد (≤۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) منجر به سمیت مادر و افزایش سقط جنین می‌شود. مطالعات حیوانی نیز نشان داده‌اند که مصرف ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم زنجبیل بر کیلوگرم، لانه گزینی (Implantation)، یا به عبارتی فرآیند چسبیدن و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

نفوذ بلاستوسیست به دیواره داخلی رحم (اندومتر) برای شروع بارداری، را کاهش و مرگ جنین را افزایش می‌دهد . در مطالعاتی که از دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شده است، هیچ تأثیری بر ناهنجاری‌های جنینی مشاهده نشده است (ElMazoudy and Attia, 2018; Williams *et al*., 2025). Wilkinson و همکاران (۲۰۰۰) افزایش تحلیل جنینی (مرگ) را بدون ایجاد نقص ساختاری هنگام مصرف چای زنجبیل در دوزهای بالا گزارش کردند. نتایج با مشاهدات پژوهش حاضر در نمونه گورخر ماهی سازگار است که در آن قرار گرفتن در معرض متوسط بر بیان ژن عصبی بدون ناهنجاری‌های آشکار تأثیر گذاشت، با این حال قرار گرفتن در معرض طولانی مدت به احتمال زیاد بقای جنین را تهدید می‌کند.

مطالعات اخیر روی گورخر ماهی بر فعالیت عصبی زنجبیل تأکید دارند. به عنوان مثال، Czernicka و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که ۶-جینجرول (یک جینجرول) به راحتی وارد بافت لارو می‌شود و دارای خواص نورواکتیو است: این ماده آزادسازی GABA را افزایش، سطح گلوتامات را کاهش و ژن gabrb2 را که یک زیر واحد از گیرنده GABAA را رمزگذاری می‌کند، افزایش می‌دهد. این فعالیت ضد تشنجی، شواهدی را تأیید می‌کند که ترکیبات زنجبیل می‌توانند انتقال عصبی را در گورخر ماهی تنظیم کنند. در حالی که پژوهش حاضر اثر زنجبیل بر جنبه رشد جنین گورخر ماهی تأکید شد، یافته‌های Czernicka و همکاران (۲۰۲۱) نیز به این مفهوم اعتبار می‌بخشد که ترکیبات فعال زیستی زنجبیل به بافت‌های عصبی راه پیدا می‌کنند و بر مسیرهای ژنی تأثیر می‌گذارند. این با یافته پژوهش حاضر در مورد تغییر *Ngn1/NeuroD* و *Shh* مطابقت دارد.

در نتیجه، تحقیقات کنونی با ارائه شواهدی مبنی بر اینکه ژن‌های نوروژنیک اولیه به طور خاص به زنجبیل حساس هستند، براساس مقالات علمی بنا شده است. این با گزارش‌های قبلی در مورد اثرات بیولوژیکی عمومی‌تر زنجبیل سازگار است: اینکه زنجبیل می‌تواند اثرات سیگنالینگ BMP را در طول رشد خون فعال کند و اینکه زنجبیل اثرات ضد التهابی/آنتی‌اکسیدانی عمومی در زمینه‌های عصبی دارد. در مجموع، این مطالعات نشان می‌دهند که تأثیر زنجبیل بر رشد جنین وابسته به دوز و مختص مسیر است (Ferri-Lagneau *et al*., 2012).

مطالعه Monteiro و همکاران (۲۰۲۴) بر روی عصاره *Norantea guianensis* در نمونه گورخر ماهی نشان داد که ترکیباتی مانند آلکالوئیدها و کومارین‌ها باعث ناهنجاری‌های رشدی و مهار فعالیت آنزیم AChE می‌شوند، به ویژه در دوزهای بالا (LC_{50} برگ = ۷/۱۶ میلی گرم/لیتر). در پژوهش حاضر نیز عصاره زنجبیل در دوز بالا موجب مرگ بافتی نورونی و کاهش بیان ژن‌های *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* شد، در حالی که دوزهای پایین اثرات تحریک‌کننده داشتند. علی رغم تفاوت در نوع گیاه و مسیرهای زیستی، هر دو مطالعه اثرات دوز–وابسته مشابهی را بر سلامت جنینی در گور خر ماهی گزارش کرده‌اند.

مطالعه Licitra و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که ترکیب فعال 6-gingerol در نمونه گورخر ماهی مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن (DMD) موجب افزایش تحرک و بیان ژن *Hmox1* شد، هرچند تغییر ساختاری در عضله ایجاد نکرد. این اثر محافظتی به مسیر *Hmox1*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

نسبت داده شد. پژوهش حاضر نیز با استفاده از نمونه گورخر ماهی، نشان داد که دوز پایین عصاره زنجبیل موجب افزایش بیان ژن های عصبی *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* و دوز بالا باعث مرگ بافتی نورونی می‌شود. هر دو مطالعه بر اثر مفید دوز پایین زنجبیل و خطرات دوز بالا تأکید دارند، اما تمرکز مقاله بر بیماری عضلانی و مسیر *Hmox1* است، در حالی‌که تمرکز مطالعه حاضر بر رشد مغز جنینی و مسیرهای نوروتکوینی میباشد.

بیان متفاوت *NeuroD*، *Ngn1* و *Shh* ممکن است پیامدهای رشدی معنی‌داری داشته باشد. نوروژنین۱ یک ژن "پیش عصبی" است که پیش سازها را به سمت سرنوشت عصبی سوق می‌دهد و *NeuroD* بلافاصله در پایین دست عمل می‌کند تا تمایز نورون تازه متولد شده را ارتقا دهد (Mueller and Wullimann, 2002). بنابراین، سرکوب *Ngn1/NeuroD* می‌تواند تشکیل نورون‌های حسی و شبکیه را مختل یا کاهش دهد. *Sonic hedgehog* تنظیم‌کننده اصلی الگو دهی لوله عصبی شکمی و رشد مغز است (Yang *et al*., 2021)؛ اختلال در تنظیم *Shh* می‌تواند ساختارهای خط میانی را تغییر دهد یا بر رشد دستگاه عصبی تأثیر بگذارد. در حالی که جنین ها ناهنجاری‌های فاحشی نشان ندادند، این تغییرات در بیان ژن به‌احتمال زیاد نشان دهنده نقص‌های ظریف‌تری در بستر عصبی مانند مناطق کوچکتر مغز یا تأخیر در رشد مدار است که شایسته بررسی بیشتر است.

نتایج نشان داد که حتی مواد غذایی طبیعی (زنجبیل) ممکن است برخی از مسیرهای حساس رشدی را در یک نمونه مهره داران از زاویه سم شناسی مختل کنند. برنامه رشد عصبی گورخر ماهی در بین مهره داران حفظ شده است، بنابراین هرگونه تغییر در این ژن‌ها پیامدهای عملکردی دارد. نکته مهم این است که هیچ تراتوژنیسیته آشکاری (به عنوان مثال اندام‌های ناقص) در سطوح مواجهه مربوطه نشان داده نشد، که با داده‌های انسانی سازگار است. تجزیه و تحلیل‌های بالینی گسترده هیچ افزایش خطر ناهنجاری‌های مادرزادی بزرگتر یا مرده زایی را با تقویت زنجبیل در طول دوره بارداری انسان نشان نمی‌دهد (Lindblad and Koppula, 2016; Maitre *et al*., 2011). با این حال، مطالعه حاضر پتانسیل وقوع اختلالات مولکولی بدون نقص های قابل مشاهده را برجسته می‌کند. همانطور که برای سایر سموم عصبی جنینی گزارش شده است، اثرات تحت بالینی قابل توجهی وجود دارد که ممکن است به آسیب‌پذیری‌های عصبی (مانند نقص یادگیری، اثرات رفتاری) در آینده منجر شود. پیام اصلی این مطالعه، لزوم در نظر گرفتن تغییرات رونویسی به عنوان پیش سازهای احتمالی سمیت و پیامدهای عصبی بود، حتی اگر به نظر برسد که نقاط پایانی سمیت مرسوم تحت تأثیر قرار نگرفته‌اند.

زنجبیل اغلب برای کاهش حالت تهوع در دوران بارداری استفاده می‌شود و دستور العمل‌های بالینی اغلب مصرف متوسط (≈۱ گرم در روز) را بی‌خطر می‌دانند (Maitre *et al*., 2011). این موضوع توسط داده‌های پژوهش حاضر در دوزهای معمول اثبات می‌شود. مواجهه‌های حاد با دوز پایین تا بالای مورد ارزیابی منجر به تغییر بیان ژن شد، اما هیچ ناهنجاری یا از دست دادن جنینی مشاهده نشد. علاوه بر این، هیچ نشانه‌ای از آسیب شدید رشدی در این سطوح وجود نداشت، که با نکات قبلی مطابقت دارد (Maitre *et al*., 2011). با این وجود، باید در مصرف بیشتر آن در دوران بارداری احتیاط کرد. تحقیقات قابل توجه روی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

حیوانات و تحقیقات فعلی نشان داد که دوزهای بسیار بالای زنجبیل (بسیار بیشتر از آنچه در آشپزی یا مکمل ها نشان داده می‌شود) می‌تواند اثرات مضری داشته باشد: مانند افزایش مرگ و میر جنین که در موش‌ها مشاهده شده است (Williams *et al*., 2025). بنابراین، دوز مصرفی باید توسط بیماران باردار و متخصصان مراقبت‌های بهداشتی در نظر گرفته شود و تحقیقات بیشتری برای تعیین حاشیه ایمنی مشخص مورد نیاز است.

از دیدگاه عصبی، فعالیت‌های زیستی زنجبیل را می‌توان به چندین روش تفسیر کرد. از یک سو، زنجبیل دارای ترکیباتی است که نه تنها به دلیل خواص ضد التهابی و اثرات وابسته به گابا، دارای خواص محافظت‌کننده عصبی و تعدیل‌کننده عصبی هستند (و به طور فعال برای درمان آلزایمر، پارکینسون و اختلالات تشنجی مورد تحقیق قرار می‌گیرند) (Arcusa *et a.l*, 2022; Gawel *et al*., 2021). این امر احتمال نقش مفید زنجبیل در مغز بزرگسالان یا افراد مسن را افزایش می‌دهد. با این حال، نتایج نشان داد که همین ترکیبات می‌توانند سیگنال‌های رشدی را هنگامی که جنین‌ها در رحم قرار می‌گیرند، شکل دهند. بنابراین، مکمل‌های زنجبیل که نزدیک به زمان لقاح یا اوایل بارداری داده می‌شوند، باید از نظر هرگونه تأثیر بر رشد مغز جنین مورد مطالعه قرارگیرند. در عین حال، پزشکان می‌توانند به بیماران اطلاع دهند که زنجبیل به طور کلی خطر کمی برای حالت تهوع دارد، اما دوزهای بسیار بالا یا استفاده بدون نظارت پزشک هنوز از منظر رشد عصبی جنین تا حد زیادی ناشناخته است.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، این مطالعه شواهد جدیدی ارائه می‌دهد که عصاره زنجبیل می‌تواند شبکه‌های ژنی عصبی-رشدی را در داخل بدن تعدیل کند و خواستار دیدگاه متعادل‌تری است. کاربردهای سنتی و پزشکی زنجبیل به طور نسبی به خوبی پشتیبانی می شوند و تأثیر زنجبیل بر زیست‌شناسی رشد شایسته بررسی است. این پیگیری سیستماتیک به اطمینان از این امر کمک می‌کند که توصیه‌ها برای استفاده از زنجبیل، در دوران بارداری و در مغز و اعصاب، هم از داده های مکانیسمی و هم از تجربیات بالینی حاصل شوند.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مقاله از کلیه کسانی که در انجام این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Ahmad, N., Sulaiman, S., Mukti, N.A., Murad, N.A., Hamid, N. and Yusef, Y.A.M., 2006. Effects of ginger extract (*Zingiber officinale* Roscoe) on antioxidant status of hepatocarcinoma induced rats. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 14*, pp.7–12.
2. Ahmad, B., Rehman, M.U., Amin, I., Arif, A., Rasool, S., Bhat, S.A., Afzal, I., Hussain, I., BilalI, S. and Mir, M.U. R., 2015. A review on pharmacological properties of zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-but anone). *The Scientific World Journal, 6*, 1-6. DOI: 10.1155/2015/816364
3. Andermann, P., Ungos, J. and Raible, D. W., 2002. Neurogenin1 defines zebrafish cranial sensory ganglia precursors. *Developmental Biology, 251*(1), 45–58. DOI:

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

10.1006/dbio.2002.0820
4. Aran, S., Golmohammadi, M.G., Sagha, M. and Ghaedi, K., 2025. Aging restricts the initial neural patterning potential of developing neural stem and progenitor cells in the adult brain. *Frontiers in Aging Neuroscience, 16*, 1498308. DOI:10.3389/fnagi.2024.1498308
5. Arcusa, R., Villano, D., Marhuenda, J., Cano, M., Cerda, B. and Zafrill, P., 2022. Potential Role of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. *Frontiers Nutrition,* 9, 809621. DOI: 10.3389/fnut.2022.809621
6. Belgacem, Y.H., Hamilton, A.M., Shim, S., Spencer, K.A. and Borodinsky, L.N., 2016. The Many Hats of Sonic Hedgehog Signaling in Nervous System Development and Disease. *Journal of Developmental Biology, 4*(4), 35. DOI: 10.3390/jdb4040035
7. BischoffI-Kont, I. and Furst, R., 2021. Benefits of ginger and its constituent 6-shogaol in inhibiting inflammatory processes. *Pharmaceuticals, 14*(5), 571. DOI:10.3389/fphar.2022.844767
8. Bode, A.M. and Dong, Z., 2011. The amazing and mighty ginger. Herbal medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*,* 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2011. Chapter 7. PMID: 22593941. DOI: 10.1201/b10787-8
9. Caballero, M.V. and Candiracci, M., 2018. Zebrafish as screening model for detecting toxicity and drugs efficacy. *Journal of Unexplored Medical Data, 3*(4). DOI: 10.20517/2572-8180.2017.15
10. Chávez, M.N., Aedo, G., Fierro, F.A., Allende, M.L. and Egana, J.T., 2016. Zebrafish as an emerging model organism to study angiogenesis in development and regeneration. *Frontiers in physiology, 7*, 56. DOI: 10.3389/fphys.2016.00056
11. Elmazoudy, R.H. and Attia, A.A., 2018. Ginger causes subfertility and abortifacient in mice by targeting both estrous cycle and blastocyst implantation without teratogenesis. *Phytomedicine, 50*, pp.300–308. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.01.021
12. Elshater, A.E. A., Salman, M. and Moussa, M., 2009. Effect of ginger extract consumption on levels of blood glucose, lipid profile and kidney functions in alloxan induced-diabetic rats. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology, 2*(1), pp.153–162. DOI: DOI: 10.21608/eajbsa.2009.15515
13. Fan, C.Y., Cowden, J., Simmons, S.O., Padilla, S. and Ramabhadran, R., 2010. Gene expression changes in developing zebrafish as potential markers for rapid developmental neurotoxicity screening. *Neurotoxicology Teratology, 32*(1), pp.91–98. DOI: 10.1016/j.ntt.2009.04.065
14. Ferri-lagneau, K.F., Moshal, K.S., Grimes, M., Zahora, B., Lv, l., Sang, S. and Leung, T., 2012. Ginger Stimulates Hematopoiesis via Bmp Pathway in Zebrafish. *PLOS ONE, 7*(6), e39327. DOI:10.1371/journal.pone.0039327
15. Gaeddert, A., 2018. Healing digestive disorders: natural treatments for gastrointestinal conditions. 314 P. People's Medical Publishing House
16. Gawel, K., Kukula-Koch, W., Banono, N.S., Nieoczym, D., Targowska-Duda, K. M., Czernicka, L., Parada-Turska, J. and Esguerra, C.V., 2021. 6-Gingerol, a major constituent of *Zingiber officinale* rhizoma, exerts anticonvulsant activity in the pentylenetetrazole-induced seizure model in larval zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences,* 22(14), 7745. DOI:10.3390/ijms22147745
17. Ghafoor, K., Al juhaimi, F., Özcan, M. M., Uslu, N., Babiker, E.E. and Ahmed, I.A.M., 2020. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

DOI: 10.1167/iovs.09-3822
24. Licitra, R., Marchese, M., Brogi, L., Fronte, B., Pitto, L. and Santorelli, F. M., 2021. Nutraceutical Screening in a Zebrafish Model of Muscular Dystrophy: Gingerol as a Possible Food Aid. *Nutrients, 13*(3), 998. DOI: 10.3390/nu13030998
25. Lindblad, A.J. and Koppula, S., 2016. Ginger for nausea and vomiting of pregnancy. *Can Fam Physician, 62*(2), 145.
26. Maitre, S., Neher, J.O. and Safranek, S., 2011. FPIN's clinical inquiries: Ginger for the Treatment of Nausea and Vomiting in Pregnancy. *American Family Physician 84*(10), pp.1-2.
27. Modarresi Chahardehi, A., Arsad, H. and Lim, V., 2020. Zebrafish as a Successful Animal Model for Screening Toxicity of Medicinal Plants. *Plants, 9*(10), 1345. DOI: 10.3390/plants9101345
28. Monteiro, L.S.N., Matias, R., Fernandes, C.E., Otsubo Jaques, J.A., Brito, I.L., Morbeck de Oliveira, A.K., Facco, G.G., Gediel Rivero-Wendt, C.L., 2024. Evaluation of chemical constituents in Norantea guianensis aubl. Extracts, embryotoxicity, and acetylcholinesterase inhibitory potential in *Danio rerio*. Toxicon., *251,* 108132. DOI: 10.1016/j.toxicon.2024.108132
29. Moussavi, N., Vanderent, W., Diallo, D., Sanogo, R., Malterud, K.E., Esguerra, C.V. and Wangensteen, H., 2024. Inhibition of Seizure-Like Paroxysms and Toxicity Effects of Securidaca longepedunculata Extracts and Constituents in Zebrafish *Danio rerio*. *ACS Chemical Neuroscience, 7*(15), pp.617–628. DOI: 10.1021/acschemneuro.3c00642
30. Mueller, T. and Wullimann, M.F., 2002. Expression domains of neuroD (nrd) in the early postembryonic zebrafish brain. *Brain Res Bull, 57*(3-4), pp.377-379. DOI:10.1016/S0361-9230(01)00694-3
31. Mustafa, G., Arif, R., Atta, A., Sharif, S. and Jamil, A., 2017. Bioactive *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 126*(4), 109354. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109354
18. Gupta, R., Mehan, S., Chhabra, S., Giri, A. and Sherawat, K., 2022. Role of Sonic Hedgehog Signaling Activation in the Prevention of Neurological Abnormalities Associated with Obsessive–Compulsive Disorder. *Neurotoxicity Research, 40*(2), pp.1718–1738. DOI:10.1007/s12640-022-00586-4
19. Hamza, A.A., Heeba, G.H., Hamza, S., Abdalla, A. and Amin, A., 2021. Standardized extract of ginger ameliorates liver cancer by reducing proliferation and inducing apoptosis through inhibition oxidative stress/inflammation pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy, 134*, 111102. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111102
20. Haniadka, R., Saldanha, E., Sunita, V., Palatty, P.L., Fayad, R. and Baliga, M.S., 2013. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Food and function, 4*(6), pp.845–855. DOI:10.1039/c3fo30337c
21. Kaul, P.N. and Joshi, B.S., 2001. Alternative medicine: herbal drugs and their critical appraisal--part II. *Progressive Drug Research, 57*, 1–75. DOI: 10.1007/978-3-0348-8308-5_1
22. Kozioł, E., Deniz, F.S.S., Orhan, I.E., Marcourt, L., Budzyńska, B., Wolfender, J.L., Crawford, A.D. and Skalicka-Woźniak, K., 2019. High-performance counter-current chromatography isolation and initial neuroactivity characterization of furanocoumarin derivatives from Peucedanum alsaticum L (Apiaceae). *Phytomedicine, 54,* 259,264. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.10.030
23. Li, X., Ma, W., Zhuo, Y., Yan, R.T. and Wang, S.Z., 2010. Using neurogenin to reprogram chick RPE to produce photoreceptor-like neurons. *Investigative ophthalmology and visual science, 51*(1), pp.516–525.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]

compounds from medicinal plants and their importance in drug discovery in Pakistan. *Matrix Science. Pharmacology, 1*(1), pp.17–26. DOI: 10.26480/msp.01.2017.17.26

32. Odent, S., Atti-bitach, T., Blayau, M., Mathieu, M., Aug, J., Delezo DE, A.L., Gall, J.Y., Lemarec, B., Munnich, A., David, V. and Vekemans, M., 1999. Expression of the Sonic hedgehog (SHH) gene during early human development and phenotypic expression of new mutations causing holoprosencephaly. *Human Molecular Genetics, 8*(9), pp.1683–1689. DOI: 10.1093/hmg/8.9.1683
33. Ozkur, M., Benlier, N., Takan, I., vasileiou, C., Georgakilas, A. G., Pavlopoulou, A., Cetin, Z. and Saygili, E.I., 2022. Ginger for healthy ageing: a systematic review on current evidence of its antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer properties. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 2022, 4748447. DOI:10.1155/2022/4748447
34. Pham, D.H., De Roo, B., Nguyen, X. B., Vervaele, M., Kecskes, A., Ny, A., Copmans, D., Vriens, H., Locquet, J. P., Hoet, P. and De Witte, P.A. 2016. Use of Zebrafish Larvae as a Multi-Endpoint Platform to Characterize the Toxicity Profile of Silica Nanoparticles. *Science Reproduction, 6*(1), pp.37-145. DOI:10.1038/srep37145
35. Sanes, D.H., Reh, T.A. and Harris, W. A., 2011. Development of the nervous system, Academic press. 392 P.
36. Shanmugam, K. R., Mallikarjuna, K., Nishanth, K., Kuo, C. H. and Reddy, K.S., 2011. Protective effect of dietary ginger on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues. *Food Chemistry, 4*(124), pp.1436–1442.
37. Srinivasan, K., 2017. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition, 5*(1), pp.18–28. DOI:10.1016/j.phanu.2017.01.001
38. Wilkinson, J.M., 2000. Effect of ginger tea on the fetal development of Sprague-Dawley rats. *Reprod Toxicol, 14*(6), pp.507–12. DOI:10.1016/S0890-6238(00)00106-4
39. Williams, J.T., Tiani, K.A., Foster, M.J., Macfarlane, A.J., Bailey, R.L., Stover, P.J. and Field, M.S., 2025. Systematic review of the impact of ginger extract and alpinetin on pregnancy outcomes in animal models. *BMC Complementary Medicine and Therapies, 25*(1), 179. doi: 10.1186/s12906-025-04904-z
40. Yang, C., Qi, Y, and Sun, Z. 2021. The Role of Sonic Hedgehog Pathway in the Development of the Central Nervous System and Aging-Related Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences, 8*, 711710. DOI: 10.3389/fmolb.2021.711710
41. Zhang, M., Zhao, R., Wang, D., Wang, L., Zhang, Q., Wei ,S., Lu, F., Peng, W. and Wu, C. 2021. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytotherapy Research, 35*(2), pp.711–742. DOI:10.1002/ptr.6858

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-904]