Archive of SID

The Effects of *Nigella Sativa* Hydro-Alcoholic Extract on Spatial Memory Impairment Induced by Seizures in Rats

Zahra Hassanzadeh[1], Mohammad Amin Edalatmanesh[1], Masoumeh Seghatoleslam[2], Mahmoud Hosseini[3*]

[1] Department of Physiology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
[2] Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
[3] Neurocognitive Research Center, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Article Info:

Received: **23 Jul 2014** *Accepted* **: 7 Aug 2014**

ABSTRACT

Introduction: It is suggested that repetitive seizure attacks lead to the hippocampal neuronal damage and memory impairments. Some therapeutic effects, including analgesic, neuroprotective, antioxidant and anticonvulsant properties, of Nigella sativa (NS) have been reported. In the present study, the effects of hydro-alcoholic extract of NS were investigated on spatial memory damage in penthylenetetrazole (PTZ)-induced seizures in rats. ***Materials and Methods:*** Male Wistar rats were divided into five groups: group 1 (control group) received saline. The animals in group 2 (PTZ group) were treated by saline and were injected by PTZ (50 mg/kg, ip). Groups 3 (PTZ+NS 100), 4 (PTZ+NS 200) and 5 (PTZ+NS 400) were treated by 100, 200, and 400 mg/kg of NS extract (ip), respectively, 30 min prior to each PTZ injection for 5 consecutive days. Finally, the animals were examined by Morris water maze test. ***Results:*** The animals of PTZ+NS 100, PTZ+NS 200, and PTZ+NS 400 had significant lower seizure scores compared to PTZ group. The latency to the onset of seizures were also significantly higher in these groups than that of PTZ group. In Morris water maze test, the time spent and traveled distance in target quadrant by the animals of PTZ group was lower than that of control group. Pretreatment by all doses of the extract increased the time spent and traveled distance in target quadrant compared to PTZ group. ***Conclusion:*** The present data suggest that the hydro-alcoholic extract of NS possesses beneficial effects on spatial memory impairments in PTZ seizures model.

Key words:

1. *Nigella sativa*
2. Pentylenetetrazole
3. Seizures
4. Rats
5. Memory Disorders

**** Corresponding Author:*** Mahmoud Hosseini

E-mail: *hosseinim@mums.ac.ir*

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی اثر عصارهٔ هیدروالکلی سیاهدانه بر اختلال حافظهٔ فضایی القاء شده به وسیلهٔ تشنج در موش صحرایی

زهرا حسن‌زاده[۱]، محمد امین عدالت منش[۱]، معصومه ثقة الاسلام[۲]، سید محمود حسینی[۳*]

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم ، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
[۲] گروه علوم تشریحی و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
[۳] مرکز تحقیقات علوم شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱ مرداد ۱۳۹۳
تاریخ پذیرش: ۱۶ مرداد ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: پیشنهاد شده است که حملات تشنجی مکرر منجر به تخریب نورون‌های هیپوکامپ و اختلال حافظه می‌شود. برخی اثرات درمانی از قبیل ضد دردی، حفاظت نورونی، آنتی اکسیدانی و ضد تشنجی برای سیاهدانه گزارش شده است. در مطالعهٔ حاضر، اثرات عصارهٔ هیدروالکلی سیاهدانه بر اختلال حافظهٔ فضایی ناشی از تشنج‌های ایجاد شده توسط پنتیلن تترازول (PTZ) در موش صحرایی بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند: گروه ۱ (گروه کنترل) سالین دریافت کردند. حیوانات در گروه ۲ (گروه PTZ)، سالین دریافت کردند و PTZ تزریق شد (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی). گروه‌های ۳ (PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۱۰۰)، ۴ (PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۲۰۰) و ۵ (PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۴۰۰) به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از عصارهٔ سیاهدانه (به صورت داخل صفاقی)، ۳۰ دقیقه قبل از هر تزریق PTZ به مدت ۵ روز متوالی درمان شدند. در نهایت حیوانات با استفاده از تست ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** حیوانات گروه‌های PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۱۰۰، PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۲۰۰ و PTZ + عصارهٔ سیاهدانه ۴۰۰ به طور معنی‌داری نمرهٔ تشنج کمتری نسبت به گروه PTZ داشتند. تأخیر در شروع تشنج‌ها نیز به طور قابل ملاحظه‌ای در این گروه‌ها بیشتر از گروه PTZ بود. در تست ماز آبی موریس، مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف توسط حیوانات گروه PTZ نسبت به گروه کنترل کمتر بود. پیش درمانی با همهٔ دوزهای عصاره، زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف را نسبت به گروه PTZ افزایش داد. **نتیجه‌گیری:** مطالعهٔ حاضر پیشنهاد می‌کند که عصارهٔ هیدروالکلی سیاهدانه دارای اثرات مفیدی بر اختلالات حافظهٔ فضایی در تشنج‌های مدل PTZ می‌باشد.

کلید واژه‌ها:
۱. سیاهدانه
۲. پنتیلن تترازول
۳. تشنج
۴. موش‌های صحرایی
۵. اختلالات حافظه

* **نویسنده مسئول:** سید محمود حسینی
آدرس الکترونیکی: *hosseinim@mums.ac.ir*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

صرع دومین اختلال عصبی بعد از سکتهٔ مغزی است (۱) که امروزه ۱ - ۰/۵ درصد از جمعیت جهان به آن مبتلا هستند. این بیماری به اشکال مختلف در انسان ظاهر می‌گردد. در این بیماری عملکرد مغز دچار اختلال می‌شود و با تشنجات ناگهانی، زودگذر و عودکننده همراه است که معمولاً سطح هوشیاری انسان دچار اختلال می‌گردد (۲).

اصطلاح صرع به گروهی از اختلالات مزمن اطلاق می‌گردد که وجه مشخصهٔ تمامی آن‌ها بروز تشنجات راجعهٔ خود به خودی، ناگهانی و غیر برانگیخته می‌باشد، در حالی که تشنج به تغییرات گذرا در رفتار به علت تخلیهٔ غیرطبیعی، ریتمیک و همزمان جمعیتی از نورون‌های سیستم عصبی مرکزی اطلاق می‌گردد. تشنجات به دو نوع غیرصرعی و صرعی تقسیم می‌شوند. متداول‌ترین نوع تشنجات، تشنجات تونیک -کلونیک ژنرالیزه است که عموماً تشنجات بزرگ نیز خوانده می‌شوند. تشنجات تونیک -کلونیک ژنرالیزه به صورت چندین فعالیت حرکتی ظاهر می‌شود که شامل کشیدگی تونیک عضلات انتهایی به مدت تقریبی ۲۰ تا ۴۰ ثانیه بوده و به دنبال آن فاز کلونیک آغاز می‌گردد که شامل انقباض و شل شدن متناوب و ریتمیک عضلات انتهایی می‌باشد که تقریباً ۳۰ تا ۵۰ ثانیه طول می‌کشد. از متداول‌ترین مدل‌های حیوانی تشنجات تونیک -کلونیک ژنرالیزه می‌توان به مدل الکتروشوک و مدل پنتیلن تترازول [1] اشاره کرد (۳).

پنتیلن تترازول بلوک کنندهٔ کانال کلریدی وابسته به گیرندهٔ GABA بوده و متداول‌ترین ترکیب شیمیایی تشنج زا می‌باشد که جهت ارزیابی داروهای ضدصرع مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴، ۵). دوزهای پایین PTZ (۳۰-۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) موجب ایجاد تشنجات غیابی می‌گردد، در حالی‌که دوزهای بالای آن (۱۱۰-۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) طیفی از فعالیت‌های تشنجی شامل پرش‌های میوکلونیک خفیف تا تشنجات کلونیک عضلات صورت و اندام‌های جلویی، بدون از دست دادن رفلکس را ایجاد می‌نماید که به عنوان تشنجات میوکلونیک نیز شناخته می‌شود. بعد از این مرحله تشنج اندام‌ها همزمان با از دست دادن رفلکس و سرانجام تا کشیدگی تونیک عضلات اندام‌های جلویی و عقبی حیوان که تشنجات تونیک -کلونیک ژنرالیزه نامیده می‌شود، پیشرفت می‌کند (۵، ۶).

در سال‌های اخیر نقاط مختلف مغزی به عنوان مناطق مستعد در القاء حملات، شناخته و معرفی شده‌اند که در این خصوص ساختارهای لوب گیجگاهی را می‌توان به عنوان قدیمی‌ترین و مهم‌ترین نواحی در بین سایر نواحی مغزی معرفی کرد (۷). با توجه به ارتباطات آناتومیکی وسیع ساختارهای لوب گیجگاهی و سیستم لیمبیک از جمله هیپوکامپ و مجموعهٔ آمیگدالوئید مطالعات گذشته نشان داده که القاء حمله‌های تشنجی سبب تغییرات نکروتیک و آپوپتوتیک نه تنها در کانون تشنج بلکه در نورون‌های خارج ولی مجاور با آن می‌گردد.

سیاهدانه گیاهی یک ساله از خانوادهٔ آلاله، بوته‌ای، خودرو و با گل‌های آبی تیره، بیرنگ یا سفید است.گیاه سیاهدانه پس از بارور شدن دارای کپسول‌هایی حاوی دانه‌های سفید می‌گردد، زمانی که کپسول‌ها کاملاً می‌رسند باز شده و دانه‌ها در معرض هوا قرار گرفته و سیاه می‌شوند (۸). این گیاه سال‌هاست در مناطق آفریقای شمالی، هندوستان و مناطق آسیایی جهت درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود (۱۱-۸). سیاهدانه دارای اثراتی از جمله موارد زیر می‌باشد: پایین آورندهٔ قند خون (۱۲)، ضد باکتریایی (۸)، ضد ویروسی (۱۳)، ضد التهابی (۱۴، ۱۱)، کاهش دهندهٔ فشار خون (۱۵) و حتی اثرات ضد توموری (۱۲، ۸). همچنین نشان داده شده که سیاهدانه دارای اثرات ضد درد قوی است که این اثرات احتمالاً از طریق سیستم اوپیوئیدی بوده و توسط نالوکسان مهار می‌گردد (۹). اثرات آنتی اکسیدانی قابل توجهی نیز برای سیاهدانه گزارش شده است (۸).

در این مطالعه اثر عصارهٔ هیدروالکلی سیاهدانه بر آسیب حافظهٔ فضایی به دنبال تشنج القاء شده به وسیله پنتیلن تترازول در موش صحرایی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

روش عصاره‌گیری

در این آزمایش از عصارهٔ هیدروالکلی سیاهدانه استفاده شده است. ۶۰ گرم از پودر تهیه شدهٔ سیاهدانه را در داخل کیسهٔ کاغذ صافی قرار داده و در دستگاه سوکسله عمل عصاره‌گیری به مدت ۱۲ ساعت با حلال شامل اتانول (۵۰٪) و آب (۵۰٪) انجام گردید. محلول به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلاء، حذف حلال خواهد شد. عصارهٔ غلیظ روی بن ماری با حرارت ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد حذف کامل حلال خواهد گردید. جهت تهیهٔ غلظت‌های مورد نظر، عصارهٔ الکلی با نرمال سالین رقیق می‌گردد.

حیوانات و گروه‌های مورد آزمایش

در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر با نژاد ویستار و با محدودهٔ وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم که در مرکز نگهداری حیوانات دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد پرورش یافته بودند، استفاده گردید. کلیهٔ موش‌های صحرایی با دسترسی آزاد به آب و غذا، در درجهٔ حرارت ۲ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و در سیکل روشنایی: تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. موش‌های صحرایی به صورت پنج گروه ۷ تایی تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل: در این گروه موش‌های صحرایی به مدت ۵ روز سالین (داخل صفاقی) دریافت کردند. ۲. گروه پنتیلن تترازول(PTZ): در این گروه موش‌های صحرایی به مدت ۵ روز ابتدا سالین و سپس پنتیلن تترازول دریافت کردند (۵). ۳. گروه‌های پنتیلن تترازول درمان شده با غلظت‌های مختلف سیاهدانه (۱۰۰ PTZ+Ns، ۲۰۰ PTZ+Ns و ۴۰۰ PTZ+Ns): در این گروه‌ها ابتدا موش‌های صحرایی عصارهٔ سیاهدانه با یکی از دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ یا ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (داخل صفاقی) دریافت کردند.

[1] Pentylenetetrazole (PTZ)

www.SID.ir

Archive of SID

القاء تشنج و ثبت

القاء تشنج به مدت ۵ روز انجام شد. برای ایجاد تشنج از تزریق داخل صفاقی PTZ با دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (داخل صفاقی) استفاده گردید. به منظور بررسی رفتاری فعالیت تشنجی، موش‌های صحرایی در روز آزمایش در داخل یک محفظهٔ پلکسی گلاس به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر قرار داده شدند. رفتار موش‌های صحرایی به وسیلهٔ دوربین ثبت و با مشاهدهٔ آن بر اساس معیارهای زیر درجه‌بندی شد؛ نمرهٔ صفر: عدم پاسخ، نمرهٔ ۱: انقباض عضلات گوش‌ها و صورت، نمرهٔ ۲: موج انقباضی بدن، نمرهٔ ۳: پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دو پا، نمرهٔ ۴: افتادن به پهلو، نمرهٔ ۵: افتادن به پشت و حمله‌های عمومی تونیک وکلونیک همین‌طور زمان تأخیر تا شروع اولین تشنج نیز ثبت گردید.

بررسی حافظه توسط ماز آبی موریس

ماز آبی موریس که به منظور ارزیابی حافظهٔ فضایی مورد استفاده قرار گرفت، شامل یک حوضچه با قطر یک و نیم متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر و همچنین دارای یک سکو با قطر ۱۰ سانتی‌متر از جنس پلکسی گلاس بود. این سکو ۱/۵ سانتی‌متر در زیر سطح آب قرار داشت. آب داخل حوضچه دارای دمای حدود ۲۴ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بود. حوضچه به طور فرضی به چهار جهت شمال، جنوب، شرق و غرب تقسیم شده بود. فیلم برداری از رفتار موش‌ها در داخل حوضچه به وسیلهٔ یک دوربین نصب شده در ارتفاع ۳ متری از بالای حوضچه انجام می‌گرفت. بر روی چهار طرف دیوار علامت‌های متفاوتی با نمودارهای متفاوت و اندازه‌های مختلف جهت راهنمایی و استفادهٔ موش‌ها در یافتن سکو وجود داشت.

در مطالعهٔ حاضر یادگیری شامل ۳ بلاک[2] آزمایش بود که در یک روز انجام شد. هر موش در هر بلاک چهار بار متوالی از یکی از چهار جهت مختلف داخل حوضچه قرار داده می‌شد. در این تحقیق عملکرد یادگیری فضایی موش‌ها از طریق ثبت و اندازه‌گیری دو شاخص طول مسافت[3] و مدت زمان تأخیر[4] در یافتن سکو مورد ارزیابی قرار گرفت. در روز بعد از یادگیری، مرحلهٔ به خاطرآوری[5] انجام شد. در این آزمون سکویی که طی ۳ بلاک آزمون یادگیری به طور ثابت در یکی از ربع‌های حوضچه قرار داشت از داخل حوضچه برداشته شد و مدت زمان شنا و مسافت پیموده شده در ربع هدف (Q1) به عنوان شاخص به خاطرآوری در نظر گرفته شد.

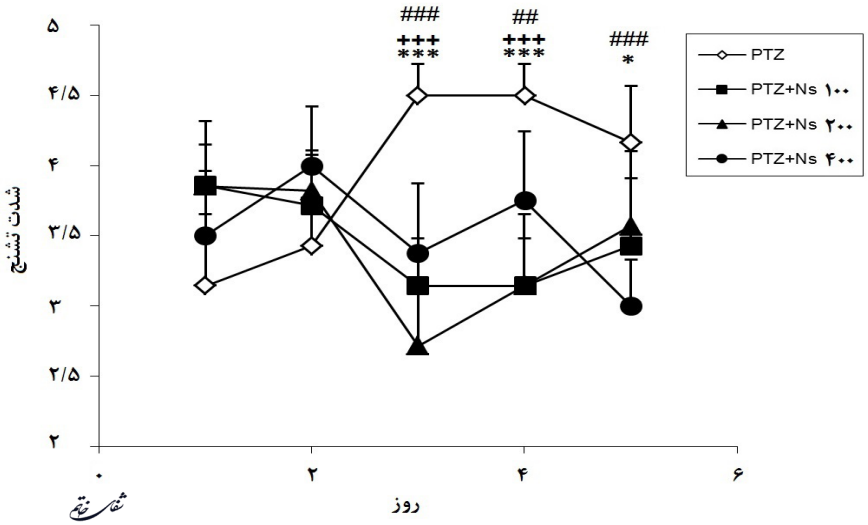
آنالیز آماری

تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار[6] بیان شدند. نتایج مربوط به نمرهٔ تشنج و زمان تأخیر برای شروع اولین تشنج در هر روز به وسیلهٔ آنالیز واریانس یکطرفه[7] و تست تعقیبی توکی بین گروه‌های مختلف مقایسه شدند. نتایج مربوط به ۳ بلاک مربوط به یادگیری در ماز آبی موریس بر اساس آزمون‌های Repeated measures ANOVA آنالیز شدند. نتایج مرحلهٔ به خاطرآوری در ماز آبی موریس به وسیلهٔ آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. نرم‌افزارهای مورد استفاده، نرم‌افزارهای آماری SPSS و Instat بودند.

یافته‌ها

اثر سیاهدانه بر تشنج

نتایج نشان داد که نمرهٔ تشنج در گروه درمان شده با ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه در روزهای ۳، ۴ و ۵ از

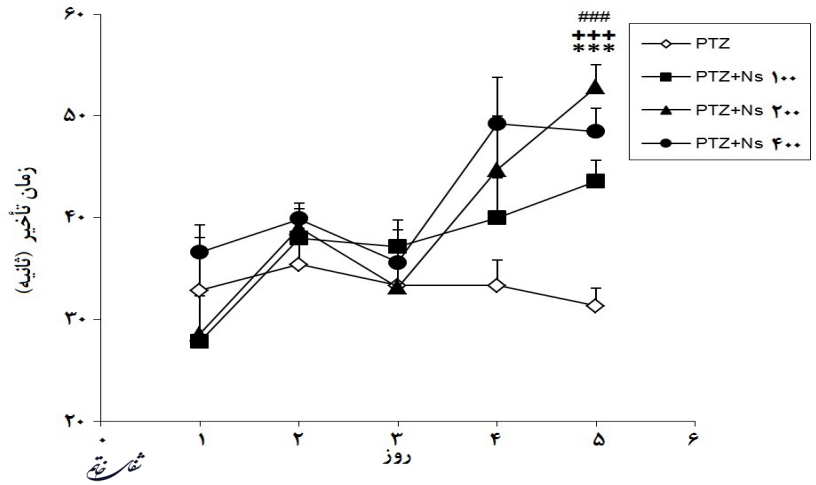


نمودار ۱- مقادیر مربوط به میانگین ± انحراف معیار در نمرهٔ تشنج القاء شده با پنتیلن تترازول در ۵ روز. در همهٔ گروه‌ها با تزریق ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم پنتیلن تترازول به مدت ۵ روز تشنج القاء شد. گروه‌های درمان با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه ۶۰ دقیقه قبل از تشنج با پنتیلن تترازول، عصارهٔ سیاهدانه با دوزهای ذکر شده دریافت کردند. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۷ سر بوده است. $P<0/001$*** و $P<0/05$* مقایسهٔ گروه دریافت‌کنندهٔ ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه با گروه پنتیلن تترازول در همان روز. $P<0/001$+++ مقایسهٔ گروه دریافت‌کنندهٔ ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه با گروه PTZ در همان روز. $P<0/001$### و $P<0/01$## مقایسهٔ گروه دریافت‌کنندهٔ ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه با گروه PTZ در همان روز.

[2] Block
[3] Distance
[4] Latency
[5] Probe Test
[6] Mean ± SEM
[7] One-way Analysis of Variance

www.SID.ir

Archive of SID



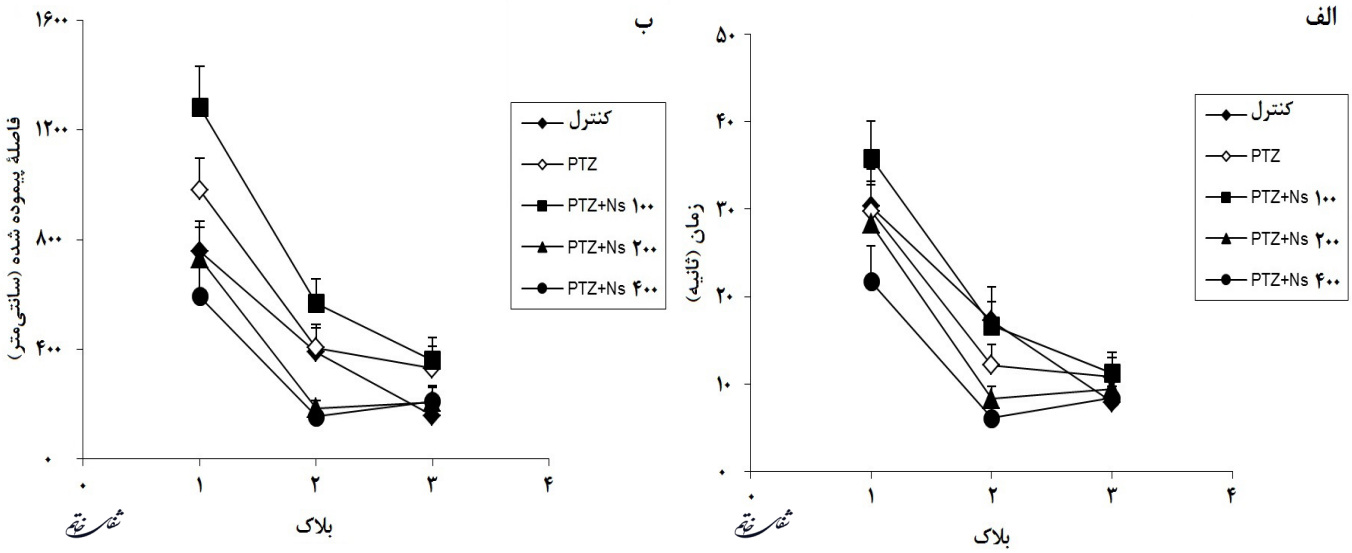
نمـودار۲- مقادیـر مربـوط بـه میانگیـن ± انحـراف معیـار در زمـان تأخیـر تشـنج بـا پنتیلـن تتـرازول در ۵ روز. در همـهٔ گروه‌هـا بـا تزریـق ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم پنتیلـن تتـرازول بـه مـدت ۵ روز تشـنج القـاء شـد. گروه‌هـای درمـان بـا دوزهـای ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم عصـارهٔ سـیاهدانه، ۶۰ دقیقـه قبـل از تشـنج بـا پنتیلـن تتـرازول، عصـارهٔ سـیاهدانه بـا دوزهـای ذکـر شـده دریافـت کردنـد. تعـداد موش‌هـای صحرایـی در هـر گـروه ۷ سـر بـوده اسـت. $P<۰/۰۰۱$*** مقایسـهٔ گـروه دریافت‌کننـدهٔ ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم عصـارهٔ سـیاهدانه بـا گـروه پنتیلـن تتـرازول در همـان روز. $P<۰/۰۰۱$+++ مقایسـهٔ گـروه دریافت‌کننـدهٔ ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم عصـارهٔ سـیاهدانه بـا گـروه پنتیلـن تتـرازول در همـان روز. $P<۰/۰۰۱$### مقایسـهٔ گـروه دریافت‌کننـدهٔ ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم عصـارهٔ سـیاهدانه بـا گـروه پنتیلـن تتـرازول در همـان روز.

گروه پنتیلن تترازول کمتر بود (به ترتیب $P<۰/۰۵$، $P<۰/۰۰۱$، $P<۰/۰۰۱$). در گروه PTZ+Ns ۲۰۰ نیز نمرهٔ تشنج در روزهای ۳ و ۴ کمتر از گروه PTZ بود (به ترتیب $P<۰/۰۰۱$ و $P<۰/۰۰۱$). تجویز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیز نمرهٔ تشنج را در روزهای ۳، ۴ و ۵ به میزان معنی‌داری کاهش داد (به ترتیب $P<۰/۰۰۱$، $P<۰/۰۱$، $P<۰/۰۰۱$)-(نمودار ۱).

همان‌طور که نمودار ۲ نشان می‌دهد زمان تأخیر تشنج در هر سه گروه درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه بیشتر از گروه درمان نشده بود که این تفاوت در روز ۵ معنی‌دار بود ($P<۰/۰۰۱$###) در همهٔ گروه‌ها)-(نمودار ۲).

اثر سیاهدانه بر تغییر حافظه و یادگیری ناشی از تشنج

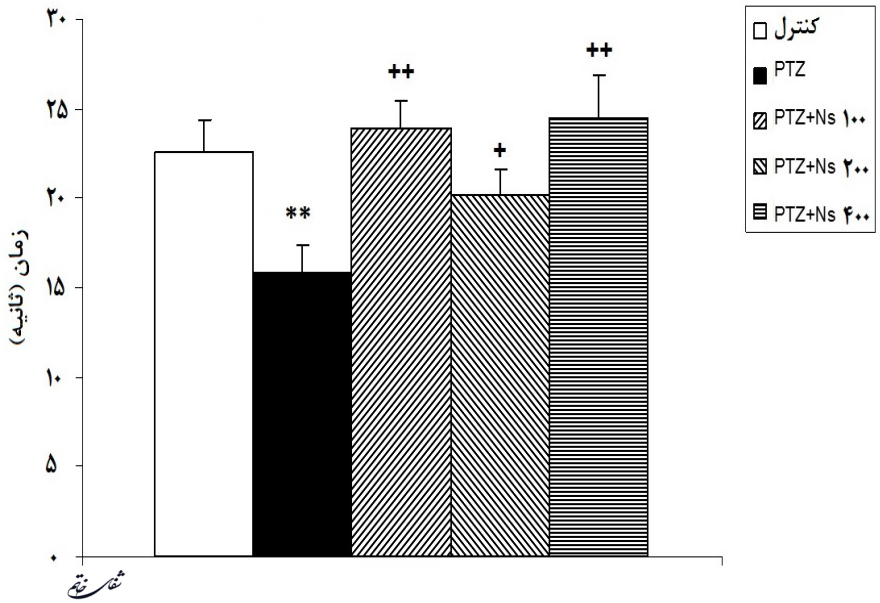
نتایج آزمون یادگیری در طی ۳ بلاک آزمایش، کاهش پیشرونده در زمان تأخیر و مسافت پیموده شده برای رسیدن به سکو را در همهٔ گروه‌ها نشان داد ($f=۸۵/۲۵$ و $P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون یادگیری در طی ۳ بلاک آزمایش نشان داد که زمان سپری شده و فاصلهٔ پیموده شده برای رسیدن به سکوی پنهان در گروه پنتیلن تترازول تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. همین‌طور مقایسهٔ این ۲ شاخص بین گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه در مقایسه با گروه پنتیلن تترازول نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۳).



نمـودار۳- مقادیـر مربـوط بـه میانگیـن ± انحـراف معیـار تأخیـر زمانـی (الـف) و فاصلـهٔ پیمـوده شـده (ب) تـا پیـدا کـردن سـکو در طـول ۳ بـلاک یادگیـری در گروه‌هـای کنتـرل و پنتیلـن تتـرازول و گروه‌هـای درمان‌شـده بـا دوزهـای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم عصـارهٔ سـیاهدانه. موش‌هـای صحرایـی همـهٔ گروه‌هـا بجـز گـروه کنتـرل قبـل از آزمـون مـاز آبـی موریـس ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم پنتیلـن تتـرازول دریافـت کردنـد. گروه‌هـای PTZ+Ns ۱۰۰، PTZ+Ns ۲۰۰ و PTZ+Ns ۴۰۰ قبـل از پنتیلـن تتـرازول، عصـارهٔ سـیاهدانه بـا دوزهـای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگـرم وزن بـدن دریافـت کردنـد. تعـداد موش‌هـای صحرایـی در هـر گـروه ۷ سـر بـوده اسـت.

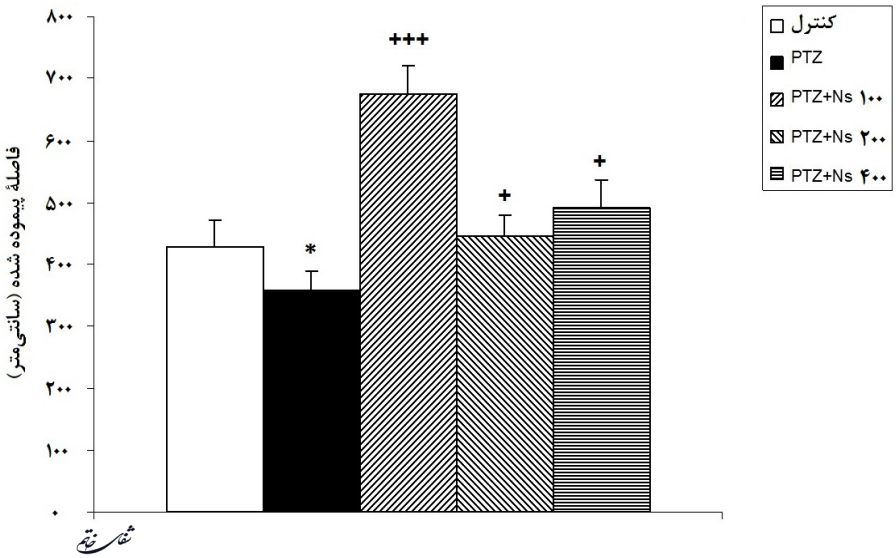
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۴- مقادیر مربوط به میانگین ± انحراف معیار زمان سپری شده در ربع هدف در گروه‌های کنترل و پنتیلن تترازول و گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه در آزمون به خاطرآوری. موش‌های صحرایی همهٔ گروه‌ها بجز گروه کنترل قبل از آزمون ماز آبی موریس ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم پنتیلن تترازول دریافت کردند. گروه‌های PTZ+Ns ۱۰۰ ، PTZ+Ns ۲۰۰ و PTZ+Ns ۴۰۰ قبل از پنتیلن تترازول، عصارهٔ سیاهدانه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۷ سر بوده است. $^{**}P<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل. $^{+}P<۰/۰۵$ و $^{++}P<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه پنتیلن تترازول.

نتایج مربوط به آزمون به خاطرآوری نشان داد که زمان سپری شده در ربع هدف به طور معنی‌داری در گروه پنتیلن تترازول در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود ($P<۰/۰۱$). از طرف دیگر زمان سپری شده در ربع هدف در گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه از گروه پنتیلن تترازول بیشتر بود ($P<۰/۰۱$، $P<۰/۰۵$، $P<۰/۰۱$) اگرچه تفاوت معنی‌داری بین دوزهای مختلف عصاره وجود نداشت (نمودار ۴). نتایج همین‌طور نشان داد که مسافت پیموده شده در ربع هدف به وسیلهٔ موش‌های صحرایی گروه پنتیلن تترازول از گروه کنترل کمتر بود ($P<۰/۰۱$). در گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه، مسافت پیموده شده در ربع هدف به طور معنی‌داری بیشتر از گروه پنتیلن تترازول بود (به ترتیب $P<۰/۰۱$، $P<۰/۰۵$، $P<۰/۰۱$)-(نمودار ۵).



نمودار۵- مقادیر مربوط به میانگین ± انحراف معیار مسافت پیموده شده در ربع هدف در گروه‌های کنترل و پنتیلن تترازول و گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه در آزمون به خاطرآوری. موش‌های صحرایی همهٔ گروه‌ها بجز گروه کنترل قبل از آزمون ماز آبی موریس ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم پنتیلن تترازول دریافت کردند. گروه‌های PTZ+Ns ۱۰۰، PTZ+Ns ۲۰۰ و PTZ+Ns ۴۰۰ قبل از پنتیلن تترازول، عصارهٔ سیاهدانه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کردند. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۷ سر بوده است. $^{*}P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل. $^{+}P<۰/۰۵$ و $^{+++}P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه پنتیلن تترازول.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

صرع یک بیماری نورولوژیک مزمن همراه با تشنجات عودکننده است. صرع عوارض ناتوان کننده‌ای چون اختلالات هوشیاری و آسیب‌های مغزی را به دنبال دارد. تحقیقات اخیر نشان داده است که صرع در بعضی از انواع مقاوم به درمان آن با کاهش حافظه همراه است و در نوع وخیم‌تر گاهی منجر به مرگ می‌گردد (۲). در استفاده از مدل‌های حیوانی نیز گزارش شده است که حمله‌های مکرر و طولانی باعث اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود (۱۸-۱۶). نتایج مطالعهٔ حاضر نیز نشان داد که القاء تشنج‌های مکرر با دوز متوسط پنتیلن تترازول سبب اختلال حافظه می‌گردد، چرا که زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف در آزمون ماز آبی موریس به طور معنی‌داری در گروه پنتیلن تترازول در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود. مکانیسم ایجاد اختلال حافظهٔ ناشی از تشنجات مکرر و حمله‌های صرعی به طور کامل شناخته نشده است.

آسیب اکسیداتیو یک اساس برای بسیاری از اختلالات نورولوژیک و نورودژنراتیو است. آسیب اکسیداتیو در ایجاد صرع و عوارض آن نقش دارد (۱۹). وجود مقادیر بالای گونه‌های اکسیژن فعال[8]، از جمله آنیون‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید در مغز بعد از حمله، تأییدکنندهٔ این مطلب است (۲۰). همچنین بیان شده است که آسیب اکسیداتیو مغز در ایجاد پیامدهای بعد از صرع نقش دارد (۲۲، ۲۱). با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر، شاید بتوان از آسیب اکسیداتیو بافت مغز به عنوان ارتباط دهندهٔ بین تشنج و اختلال حافظه نام برد. عصارهٔ سیاهدانه به خاطر خواص دارویی از جمله تحریک کنندگی سیستم ایمنی و سیستم تنفسی و خاصیت‌های ضدتوموری و ضد التهابی، سال‌ها به عنوان درمان طبیعی برای برخی از بیماری‌ها استفاده شده است (۲۴، ۲۳، ۱۴، ۹). روغنی فرار از دانهٔ این گیاه استخراج می‌شود و مادهٔ اصلی آن تیموکینون در برخی بیماری‌ها از جمله آسم دارای خاصیت ضد التهابی می‌باشد (۲۷-۲۵، ۱۴). همچنین بیان شده است که روغن سیاهدانه و تیموکینون از طریق رها سازی پپتیدهای اپیوئیدی داخلی در سیستم اعصاب مرکزی تولید اثرات ضد درد می‌کند و باعث مقاومت ضد درد به دنبال مصرف مکرر می‌شود (۲۸). در مطالعه‌ای نیز نشان داده شده که اثرات ضد دردی مورفین در موش‌های پیش درمان شده با روغن سیاهدانه و تیموکینون کاهش یافته است (۲۸).

سالم نشان داد که درمان موش‌های صحرایی با تیموکینون باعث پیشگیری از بیماری خود ایمنی آنسفالومیلیت تجربی می‌شود که احتمالاً به خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن بوده است (۸). نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که پیش درمانی با سیاهدانه مانع ایجاد اختلال حافظه، به دنبال تشنج گردید. در مطالعهٔ حاضر زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف در آزمون ماز آبی موریس در گروه‌های درمان شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ سیاهدانه از گروه پنتیلن تترازول بیشتر بود. اثرات ضد صرع سیاهدانه و توانایی آن در مهار تشکیل بیش از حد گونه‌های واکنشگر اکسیژن در تشنج ایجاد شده توسط پنتیلن تترازول گزارش شده است (۲۹). اثرات محافظت عصبی[9] سیاهدانه در مدل تجربی آسیب نخاعی در موش صحرایی نیز به خاصیت آنتی اکسیدانی آن نسبت داده شده است (۳۰). در مطالعهٔ حاضر نیز سیاهدانه از ایجاد اختلال حافظه جلوگیری کرد که شاید تأییدی بر توانایی حفاظت نورونی آن باشد.

علاوه بر تیموکینون، که مادهٔ اصلی سیاهدانه است و نقش مهمی در ایجاد اثرات دارویی آن دارد، ترکیبات دیگری نیز ممکن است در نتایج مطالعهٔ حاضر دخیل باشند. اخیراً نشان داده شده است که ملانین به وفور در پوستهٔ دانهٔ سیاهدانه یافت می‌شود (۳۱). از طرف دیگر با توجه به تعدادی از منابع گیاهی، ملانین به عنوان یک عامل تأثیر گذارنده بر سیستم ایمنی شناخته شده است (۳۳، ۳۲) بنابراین مشارکت این جزء سیاهدانه نیز به عنوان یک ترکیب که در نتایج مطالعهٔ حاضر نقش دارد، می‌تواند پیشنهاد شود. نتیجه‌گیری کلی اینکه تشنج باعث آسیب حافظهٔ فضایی و احتمالاً آسیب هیپوکامپ می‌گردد و سیاهدانه علاوه بر اثرات ضد تشنجی می‌تواند اثرات محافظت عصبی داشته باشد و از آسیب حافظهٔ فضایی جلوگیری نماید.

منابع

1. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. Planta Med. 1995; 61(1): 33-6.

2. Mumenthaler M, Mattle H. Fundamentals of neurology: an illustrated guide.1st ed. Thieme. 2006.

3. Panayiotopoulos CP. Idiopathic generalised epilepsies. Panayiotopoulos CP. A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment. Springer London. 2010; p. 377-421.

4. Porter RJ, Cereghino JJ, Gladding GD, jean Hessie B, Kupferberg HJ, Scoville B, et al. Antiepileptic drug development program. Cleveland Clin Q. 1984; 51(2): 293-305.

5. Löscher W. New visions in the pharmacology of anti-convulsion. Eur J Pharmacol. 1998; 342(1): 1-13.

6. Löscher W, Fassbender CP, Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models. Epilepsy Res. 1991; 8(2): 79-94.

7. Sloviter RS. The neurobiology of temporal lobe epilepsy: too much information, not enough knowledge. C R Biol. 2005; 328(2): 143-53.

[8] Reactive oxygen species
[9] Neuroprotective

www.SID.ir

Archive of SID

8. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol. 2005; 5(13): 1749-70.

9. Ali B, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. Phytother Res. 2003; 17(4): 299-305.

10. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res. 2000; 14(5): 323-8.

11. Zedlitz S, Kaufmann R, Boehncke WH. Allergic contact dermatitis from black cumin (Nigella sativa) oil-containing ointment. Contact Dermatitis. 2002; 46(3): 188.

12. Musa D, Dilsiz N, Gumushan H, Ulakoglu G, Bitiren M. Antitumor activity of an ethanol extract of Nigella sativa seeds. Biol Brat. 2004; 59(6): 735-40.

13. Salem ML, Hossain MS. Protective effect of black seed oil from Nigella sativa against murine cytomegalovirus infection. Int J Immunopharmacol. 2000; 22(9): 729-40.

14. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult J. Fixed Oil of Em Emtype. Planta Med. 1995; 61(01): 33-6.

15. Gilani AH. Trends in ethnopharmacology. J Ethnopharmacol. 2005; 100(1): 43-9.

16. Gilbert TH, Hannesson DK, Corcoran ME. Hippocampal kindled seizures impair spatial cognition in the Morris water maze. Epilepsy Res. 2000; 38(2): 115-25.

17. Hannesson DK, Howland J, Pollock M, Mohapel P, Wallace AE, Corcoran ME. Dorsal hippocampal kindling produces a selective and enduring disruption of hippocampally mediated behavior. J Neurosci. 2001; 21(12): 4443-50.

18. Szyndler J, Rok P, Maciejak P, Walkowiak J, Członkowska AI, Sienkiewicz-Jarosz H, et al. Effects of pentylenetetrazol-induced kindling of seizures on rat emotional behavior and brain monoaminergic systems. Pharmacol Biochem Behav. 2002; 73(4): 851-61.

19. Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. Free Radic Biol Med. 2004; 37(12): 1951-62.

20. Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. Clin Chim Acta. 2001; 303(1): 19-24.

21. Kudin AP, Kudina TA, Seyfried J, Vielhaber S, Beck H, Elger CE, et al. Seizure-dependent modulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in rat hippocampus. Eur J Neurosci. 2002; 15(7): 1105-14.

22. Gupta YK, Briyal S. Protective effect of vineatrol against kainic acid induced seizures, oxidative stress and on the expression of heat shock proteins in rats. Eur Neuropsychopharmacol. 2006; 16(2): 85-91.

23. Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks P. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, Nigella sativa L. Anticancer Res. 1997; 18(3A): 1527-32.

24. El Tahir KE, Ashour M, Al-Harbi MM. The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (Nigella sativa) in guinea-pigs: Elucidation of the mechanism (s) of action. Gen Pharmacol. 1993; 24(5): 1115-22.

25. Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, et al. Effect of Nigella sativa (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. Phytother Res. 2003; 17(10): 1209-14.

26. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. Toxicol Lett. 2003; 143(2): 133-43.

27. El Gazzar M, El Mezayen R, Nicolls MR, Marecki JC, Dreskin SC. Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. Biochim Biophys Acta. 2006; 1760(7): 1088-95.

28. Abdel-Fattah A-FM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of Nigella sativa oil and its major component, thymoquinone, in mice. Eur J Pharmacol. 2000; 400(1): 89-97.

29. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of Nigella sativa oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacology. 2005; 49(4): 456-64.

30. Kanter M, Coskun O, Kalayc M, Buyukbas S, Cagavi F. Neuroprotective effects of Nigella sativa on experimental spinal cord injury in rats. Hum Exp Toxicol. 2006; 25(3): 127-33.

31. El-Obeid A, Al-Harbi S, Al-Jomah N, Hassib A. Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. Phytomedicine. 2006; 13(5): 324-33.

32. Avramidis N, Kourounakis A, Hadjipetrou L, Senchuk V. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of grape melanin. Inhibitory effects on paw edema and adjuvant induced disease. Arzneimittelforschung. 1998; 48(7): 764-71.

33. Mohagheghpour N, Waleh N, Garger SJ, Dousman L, Grill LK, Tusé D. Synthetic melanin suppresses production of proinflammatory cytokines. Cell Immunol. 2000; 199(1): 25-36.

www.SID.ir