تحقیقی

اثر عصاره الکلی گیاه سیاه دانه بر دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی

مژگان جلالی[۱]، دکتر مریم طهرانی پور*[۲]، دکتر ناصر مهدوی شهری[۳]

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست شناسی، مشهد. ۲- دانشیار، دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدمشهد، گروه زیست‌شناسی، مشهد. ۳- استاد، دکتری سیتولوژی- هیستولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی، مشهد.

چکیده

زمینه و هدف : *کمپرسیون یا قطع عصب سیاتیک سبب القای مرگ نورونی در آلفا موتونورون‌های نخاع می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه بر دانسیته نورون های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در چهار گروه کنترل (A)، کمپرسیون (B)، کمپرسیون+تیمار عصاره الکلی دانه سیاه‌دانه دوز ۷۵mg/kg (C) و کمپرسیون+تیمارعصاره الکلی دانه سیاه‌دانه دوز ۵۰mg/kg (D) قرار داده شدند. در گروه کنترل عضله در محل عصب سیاتیک بدون آسیب شکافته شد. در گروه‌های کمپرسیون و تیمار، عصب سیاتیک پای راست تحت کمپرسیون (۶۰ ثانیه) قرار گرفت. پس از ۲۸ روز با نمونه‌برداری از قطعات نخاعی L2-L4 و S1 ، S2 و S3 و برش‌های ۷میکرونی سریال و رنگ‌آمیزی با آبی تولوئیدین، نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع به روش دایسکتور شمارش شدند.*

یافته‌ها : *دانسیته نورونی در گروه کمپرسیون (۳۲±۶۵۰) نسبت به گروه کنترل (۲۴±۱۸۰۳) کاهش معنی‌داری داشت و در گروه‌های C (۴۷±۱۵۸۱) و D (۴۹±۱۵۴۳) دانسیته نورونی نسبت به گروه کمپرسیون افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۱).*

نتیجه‌گیری : *عصاره الکلی دانه سیاه دانه باعث افزایش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع موش صحرایی پس از کمپرسیون عصب سیاتیک گردید.*

کلید واژه‌ها : *سیاه دانه ، عصب سیاتیک ، دژنراسیون ، نورون‌های حرکتی آلفا ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر مریم طهرانی پور ، پست الکترونیکی maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir

نشانی : مشهد ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد ، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۵۱۱-۸۴۳۵۰۵۰

وصول مقاله : ۹۱/۵/۲۳ ، اصلاح نهایی : ۹۱/۸/۱۴ ، پذیرش مقاله : ۹۱/۱۲/۵

Archive of SID

مقدمه

کمپرسیون یا قطع عصب سیاتیک سبب القای مرگ نورونی در آلفا موتونورون‌های نخاع می‌شود (۱). اختلالات ژنتیکی، ویروس‌ها و یا باکتری‌ها می‌توانند موجب پاسخگویی سیستم ایمنی شوند (۲). جوانه‌زدن مجدد آکسون به کمک سلول‌های شوان و همچنین عوامل رشد در بخش انتهایی پروکسیمال آکسون قطع شده شروع می‌شود. در آکسون تازه شکل گرفته، مجدداً میلین نازک‌تر از حد طبیعی ایجاد می‌شود و گره‌های رانویه نیز کوتاه‌تر از گذشته دیده می‌شود. به تدریج ماکروفاژها محل را ترک می‌کنند و در طول ۴-۲ هفته گسترش آستروسیت‌ها و فرایندهای سنتز پروتئین (GFAP glial fibrillary acidic) توسط آستروسیت‌ها و تشکیل یک توده متراکم رشته‌های داخل سلولی گلیال متشکل از پلیمر GFAP در تمام فضاهای به‌جا مانده آکسون در ماده خاکستری صورت می‌گیرد. عدم بازسازی آکسون در دستگاه عصبی مرکزی به دلیل ناتوانی آکسون در جوانه زدن و رشد نیست؛ بلکه شواهد نشان می‌دهد که اسکار آستروسیتی مانع از فعال ماندن مسیر رشد آکسون و عوامل رشد می‌شود. Neuregulin1 و گیرنده عامل رشد اپیدرمال (ErbB) در مسیرهای سیگنالینگ کنترل سلول‌های شوان برای بازسازی آکسون در سیستم اعصاب محیطی آسیب‌دیده دخالت دارند که این امر موجب بهبود رشد عملکرد حسی و حرکتی خواهد شد. افزایش بیان neurofilament و GAP43 و S100 در محل جراحت آکسون برای درمان آسیب عصب محیطی مؤثر است (۳). سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) گیاهی دولپه‌ای و علفی یکساله است و از خانواده آلاله با برگ‌های منشعب و نخی‌شکل و گل‌های

www.SID.ir

منفرد بدون مهمیز با گلپوش دو ردیفی منظم است. درون میوه برگه بذرگیاه سیاه رنگ و دارای خاصیت دارویی و صنعتی است (۴). دانه آن توسط محققان مصر، سودان در آفریقا، عربستان صعودی، هند و پاکستان در آسیا اخیراً در ژاپن، فرانسه، انگلستان، کانادا و امریکا مورد توجه قرار گرفته است (۴). پتانسیل بالینی آن مربوط به فراکسیون پروتئینی و روغن فرار thymoquinone است. روغن آن سیتوتوکسیک است و عصاره آبی و الکلی آن H_2O_2 را غیرفعال می‌کند و می‌تواند مانع از متاستاز ناشی از کلاژناز و متالوپروتئاز شود. افزایش بیان P53 و مهار BCL2 و تحریک آپوپتوز در مرحله G1 چرخه سلولی نقش ضدتوموری داشته که اثر آن در سرطان پوست، معده و روده بزرگ مشاهده شده است. Nigellone موجود در آن برای درمان آسم، آلرژی و التهاب با ممانعت از آزادسازی هیستامین از ماست سل‌ها می‌شود (۵). از طرفی فلاونوئیدها و از جمله فراوان‌ترین آنها یعنی فلاونوئیدهای quercetin و kaempferol دارای اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدان هستند. ترکیبات فلاونوئیدی موجود درسیاه دانه در عصاره الکلی نیز وارد می‌شوند (۶و۷). سیاه دانه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (۸). اثر مواد سمی و استرس اکسیداتیو را در مناطق مختلف مغز موش مانند مخچه - قشر مغز و هیپوکامپ کاهش می‌دهد (۹). فعالیت نوروفارماکولوژیکال عصاره سیاه دانه اثبات شده است (۱۰). در دانه سیاه دانه ترکیبات تانن، فلاونوئید، آلکالوئید، α- توکوفرول (ویتامین E)، ترکیب p-cymene و روغن‌های فرار مانند thymol و Carvacrol و روغن‌هایی مانند تیموکینون دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند (۴).

با توجه به این که گیاه‌شناسان استفاده‌های سیاه دانه را در بیماری‌های مختلف، به خصوص در درمان بیماری‌های سیستم عصبی تأیید نموده‌اند (۱۰) و با توجه به این که تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثر عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه صورت نگرفته است؛ لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه بر دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم و سن تقریب ۱۲ هفته انجام شد. حیوانات از مؤسسه سرم‌سازی رازی تهیه شدند. موش‌ها در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. شرایط نگهداری با دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بود. به طوری که همگی امکان دسترسی به آب و غذای کافی داشتند. پروتکل اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات رعایت شد.

در ابتدا ۵۰گرم پودر دانه سیاه‌دانه را وزن کرده و آن را داخل کاغذ مخصوص کارتوش (cartush) ریخته و در دستگاه عصاره گیری قرار دادیم. دستگاه عصاره‌گیری شامل یک کیسه حرارتی (shofbalon) است. برای تهیه عصاره الکلی ۵۰گرم پودر دانه سیاه دانه را با اتانل (۱۰۰-۹۷درصد) به مقدار ۳۵۰ سی‌سی داخل بالن ریختیم و به تدریج الکل گرم شد و به آرامی عصاره سیاه‌دانه با آن مخلوط شد و به بالن برگشت. مبرد، کار سرد کردن بخارات اضافی را برعهده داشت. بدین ترتیب از حجم کل محلول کاسته نشد. عصاره‌گیری با حرارت شوف بالن انجام شد و مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. در پایان عصاره‌گیری از عصاره حذف حلال صورت گرفت (۱۱).

حیوانات به چهار گروه ۶ تایی کنترل (A)، کمپرسیون (B)، کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ mg/kg عصاره الکلی (C) و کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ mg/kg عصاره الکلی (D) تقسیم شدند. موش‌های هر گروه با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی رامپون و کتامین به نسبت ۶ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند (۱). پس از زدودن موهای زائد ناحیه خلف ران راست حیوان، پوست به اندازه ۳-۲ سانتی‌متر شکافته شد و با کنار زدن عضلات خلف ران، عمل کمپرسیون عصب سیاتیک با استفاده از قیچی قفل‌دار (قفل دوم) به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت (۱۲و۱۳). پس از کمپرسیون عصب، محل ضایعه ضدعفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در گروه‌های تیمار اولین مرحله تزریق عصاره با دوز ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی بلافاصله پس از عمل کمپرسیون انجام شد (۱۴). حیوانات پس از به‌هوش آمدن به قفس‌های جداگانه منتقل شده و در شرایط استاندارد حیوانخانه نگهداری شدند. دومین مرحله تزریق درون صفاقی عصاره در گروه‌های تیمار ۷ روز پس از اولین تزریق صورت گرفت. پس از ۲۸ روز از تاریخ کمپرسیون با استفاده از روش پرفیوژن ابتدا بافت‌های بدن حیوانات تا حدی فیکسه شد. سپس از نخاع ناحیه کمری آنها نمونه‌برداری به‌عمل آمد (۱).

برای یکسان بودن نمونه‌برداری، نخاع تا انتهای مخروط انتهایی از داخل ستون مهره‌ها خارج شد. سپس از انتهای مخروط انتهایی نخاع ۱۸ میلی‌متر بالا رفته و نمونه‌هایی به طول ۸ میلی‌متر تهیه شد. با توجه به این که عصب سیاتیک از پنج ریشه عصب شامل اعصاب چهارم و پنجم کمری (L4-L5) و اول تا سوم خاجی (S1-S3) در نخاع منشاء می‌گیرد؛ لذا نمونه‌های ۸ میلی‌متری تهیه شده، محدوده جسم سلولی نورون‌های تشکیل دهنده عصب سیاتیک بودند. سگمانت‌های ۲۸-۲۴ نخاعی (۱) نمونه‌های تهیه شده به مدت دو هفته درون فیکساتور قرار گرفت و پس از آن وارد مراحل پاساژ

Archive of SID
www.SID.ir

بافتی شد که شامل سه مرحله آبگیری از بافت با استفاده از الکل، شفاف‌سازی توسط زایلن و مرحله آغشتگی با پارافین بود. برش‌گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم انجام شد. به‌طوری که برش‌هایی با ضخامت ۷ میکرون ایجاد گردید. برش‌گیری به صورت سریال صورت گرفت و از هر ۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل گشت و در نهایت از هر نمونه ۳۰ لام تهیه شد. پس از آن نمونه‌ها با استفاده از رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند (۱). در مرحله بعدی با استفاده از دستگاه فتومیکروسکوپ از منطقه شاخ قدامی نخاع در سمت راست در لام‌های تهیه شده، از دو برش متوالی عکس‌هایی تهیه گردید. برای شمارش نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در سمت راست، از روش دایسکتور استفاده شد. در این روش در یک چهارچوب مرجع نورون‌ها شمارش شدند. اگر ذره‌ای در چهارچوب مرجع بود؛ ولی در چهارچوب بعدی (در برش متوالی بعدی) نبود؛ شمرده شد و اگر نورونی در هر دو چهارچوب بود؛ شمارش نگردید (۱۵). در مجموع ۱۴۴۰ برش شمارش شد. پس از شمارش نورون‌ها دانسیته نورونی توسط فرمول زیر محاسبه شد:

$ND=\Sigma Q/\Sigma frame \times V\ dissector$

ΣQ: مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه

Σframe: مجموع دفعات نمونه‌برداری شده در یک نمونه

V disecector: حجم چهارچوب نمونه‌برداری و برابر با $V\ dissector= A\ frame \times H$ می‌باشد.

A frame: مساحت چهارچوب نمونه‌برداری

H : فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab-14 و آزمون‌های آماری ANOVA و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌های کنترل و کمپرسیون به ترتیب ۲۴±۱۸۰۳ و ۳۲±۶۵۲ تعیین گردید (P<۰/۰۰۱) (جدول یک).

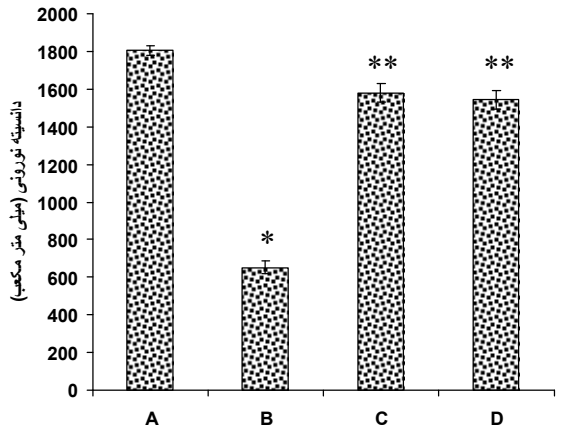
میانگین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌های C و D به ترتیب ۴۷±۱۵۸۱ و ۴۹±۱۵۴۳ تعیین شد (P<۰/۰۰۱) (جدول یک).

مقایسه بین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌های C و D در مقایسه با گروه کمپرسیون (گروه B) افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار یک).

نتایج هیستولوژیک برش‌های بافتی نخاع برای بررسی آلفا موتونورون‌های نخاع در نیمه راست شاخ قدامی در شکل یک نشان داده شده است. در گروه کنترل نورون‌ها کروی یا دوکی و هسته در وسط سلول قرار گرفته است. شکل نورون‌ها در گروه کمپرسیون به صورت چندوجهی در آمده و هسته به کنار سلول مهاجرت کرده است. در گروه‌های C و D پس از تیمار با عصاره‌های الکلی، سلول‌ها حالت حدواسط گروه‌های قبل را به دست آورده و هسته‌ها مجدداً به طرف مرکز مهاجرت کرده‌اند.

جدول ۱ : دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع در نیمه راست گروه‌های کنترل (A) ، کمپرسیون (B) ، کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه (C) و کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی دانه گیاه سیاه‌دانه (D)

شماره موش	گروه‌ها			
	A	B	C	D
۱	۱۷۳۵	۷۸۹	۱۷۷۷	۱۵۴۰
۲	۱۸۹۵	۶۳۱	۱۶۶۹	۱۴۶۳
۳	۱۸۲۲	۶۷۷	۱۴۹۶	۱۴۶۹
۴	۱۷۳۷	۵۵۲	۱۵۴۰	۱۷۷۷
۵	۱۸۳۱	۶۱۲	۱۴۸۱	۱۵۴۹
۶	۱۷۹۹	۶۵۳	۱۵۲۳	۱۴۶۱



نمودار ۱ : مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع بین گروه‌های کنترل (A) ، کمپرسیون (B) (*P<۰/۰۰۱) و گروه‌های کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه (C) و کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره الکلی دانه گیاه سیاه دانه (D) (**P<۰/۰۰۱).

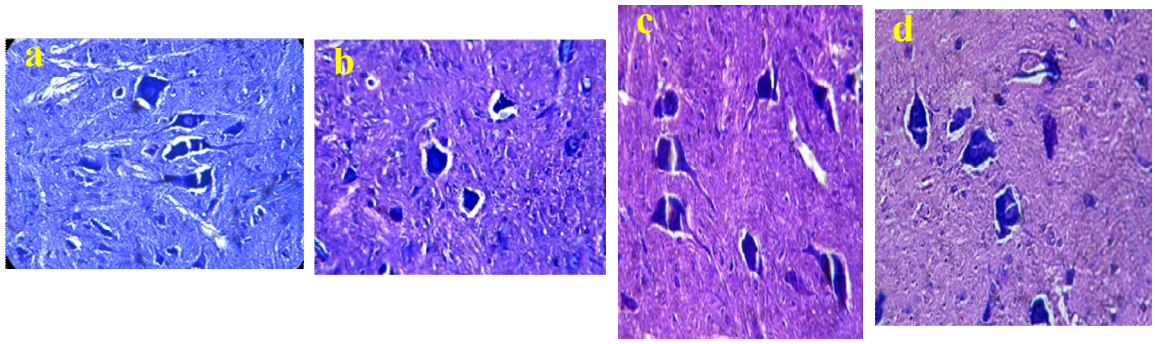
بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که کمپرسیون ایجاد شده در عصب سیاتیک طبق انتظار دانسیته نورونی شاخ قدامی را کاهش داده است. محققان نیز معتقدند این عمل موجب آپوپتوزیس می‌شود و افزایش بیان ژن‌های پیش‌آپوپتوتیک Bax ،Apaf-1 و کاسپاز۳ و ۹ بعد از آسیب دیده می‌شود (۱۶و۱۷).

در آسیب حاد، آپوپتوزیس موجب دژنره شدن ثانویه در محل آسیب و دمیلینه شدن راه‌های عصبی می‌شود (۱).

عصاره الکلی دانه سیاه‌دانه در موش های صحرایی با کمپرسیون عصب سیاتیک، باعث افزایش معنی‌دار دانسیته نورون‌های حرکتی

www.SID.ir



شکل ۱ : برش عرضی نیمه راست شاخ قدامی نخاع (رنگ‌آمیزی آبی تولوئیدین). a : گروه کنترل، b : گروه کمپرسیون، c : گروه تیمار الکلی با دوز ۷۵ میلی‌گرم برکیلوگرم، d : گروه تیمار الکلی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (درشت‌نمایی×۱۶۰۰)

آلفا شاخ قدامی نخاع می‌گردد. عصاره الکلی سیاه دانه بر روی کشت سلول‌های عصبی قشری موجب افزایش ترشح انتقال‌دهنده عصبی و تحریک گلوتامات و آسپارتات و مهارکننده اسیدهای آمینه GABA، aminobutyric و گلیسین می‌شود (۱۸).

چهار ترکیب t-anethole، 4-terpineo، Thymoquinone و carvacol در سیاه‌دانه به عنوان عوامل آنتی اکسیدان مؤثرند (۱۹). اثر Thymoquinone در کاهش ایسکمی در بافت‌هایی مانند مخاط معده و مغز مشاهده می‌شود و می‌تواند موجب برقراری مجدد جریان خون در ماهیچه اسکلتی شود (۲۰). با توجه به شواهد حاصله و دامنه وسیع استفاده از سیاه‌دانه به عنوان ترکیب دارویی در طب سنتی در کشورهای شرق دور، آسیا و خاورمیانه که به واسطه دامنه عملکرد گسترده این ترکیب است؛ می‌توان انتظار داشت که عصاره آبی یا الکلی این گیاه در جهت کاهش صدمات وارده به سیستم عصبی مرکزی مؤثر باشد که در این میان دوز مورد استفاده این عصاره در اثرات نوروپروتکتیوی آن مؤثر است (۲۳-۲۱).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات سلول‌های عصبی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند. استرس اکسیداتیو منجر به افزایش محصولات پراکسیداسیون لیپیدها مانند مالوندی‌آلدئید شده و به دنبال آن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز با رادیکال‌های آزاد مانند ROS که به‌طور طبیعی توسط متابولیسم بدن تولید می‌شود؛ مقابله صورت می‌گیرد. فلاونوئیدها نیز به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان که به همراه ویتامین E و ویتامین C در عصاره سیاه‌دانه یافت می‌شوند؛ موجب جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها شده و اثر محافظتی برای سیستم عصبی دارند (۲۴). عصاره سیاه دانه اثر مهاری بر تولید نیتریک اکساید دارد. این ماده یک واسطه التهابی است و توسط ماکروفاژها تولید می‌شود. با توجه به این نقش ضدالتهابی در درمان رماتیسم از آن استفاده می‌شود (۲۵). با توجه به این که ترکیب بیوشیمیایی سیاه‌دانه دارای اسیدآمینه‌های اسیدگلوتامیک (L-گلوتامات) و آسپارژین (L-آسپارتات) است و این اسیدآمینه بعد از تزریق عصاره آن وارد خون شده و احتمالاً به نسبت‌های متفاوت جذب مغز می‌شود؛ به دنبال این عمل، گلوتامات و آسپارتات تمامی نورون‌های مرکزی را از طریق افزایش هدایت سدیم از غشاء سلولی تحریک می‌کنند و همچنین اسیدلینولئیک آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و موجب کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود (۲۶). اثر ضدالتهابی مواد موجود در سیاه‌دانه مانند فلاونوئیدها و ساپونین بررسی شده است (۲۷). اثر ضدالتهابی سیاه دانه را می‌توان به وجود کارواکرول نسبت داد (۲۸). تأثیر TQ مشتق شده از عصاره سیاه دانه در کاهش دژنره شدن نورون‌ها اثبات شده است (۲۹).

بنابراین تحقیقات و همچنین نتایج کمی و هیستولوژیک مطالعه حاضر، می‌توان گفت که دانه سیاه دانه با استفاده از ترکیبات موجود درآن که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است؛ به لحاظ بالینی در محافظت نورون مؤثر است. به همین دلیل است که دانسیته نورونی در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی دانه سیاه‌دانه در مقایسه با گروه کمپرسیون افزایش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره الکلی بذر گیاه سیاه‌دانه باعث افزایش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع در موش صحرایی پس از کمپرسیون عصب سیاتیک می‌گردد. ممکن است اثر حفاظتی عصاره الکلی دانه سیاه‌دانه به دلیل وجود ترکیباتی مانند تانن، فلاونوئید، آلکالوئید، نیژلون، α- توکوفرول (ویتامین E)، ترکیب p-cymene و روغن‌های فرار مانند Carvacrol ، thymol و روغن‌هایی مانند تیموکینون و تیموهیدروکینون باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه مژگان جلالی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم جانوری از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بود. بدین‌وسیله از همه همکاران گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد و مدیریت محترم گروه سرکار خانم دکتر جینا خیاط‌زاده تشکر و قدردانی می‌نماییم.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Behnam Rasouli M, Nikravesh MR, Mahdavi Shahri N, Tehranipour M. Post-operative time effects after sciatic nervecrush on the nunmer of alpha motoneurons, using a stereological counting method (disector). Iran Biomed J. 2000 Jan; 4(1): 45-9.

2. Frank-Cannon TC, Alto LT, McAlpine FE, Tansey MG. Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? Mol Neurodegener. 2009; 4(47):1-13.

3. Joung I, Yoo M, Woo JH, Chang CY, Heo H, Kwon YK. Secretion of EGF-like domain of heregulinβ promotes axonal growth and functional recovery of injured sciatic nerve. Mol Cells. 2010 Nov;30(5):477-84.

4. Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. Phytochemistry. 1997; 46(2): 359-63.

5. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. Int Immunopharmacol. 2005 Dec; 5(13-14):1749-70.

6. Nair MP, Mahajan S, Reynolds JL, Aalinkeel R, Nair H, Schwartz SA, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF-kappa beta system. Clin Vaccine Immunol. 2006 Mar;13(3):319-28.

7. Ahmed MS, El Tanbouly ND, Islam WT, Sleem AA, El Senousy AS. Antiinflammatory flavonoids from Opuntia dillenii (Ker-Gawl) Haw. flowers growing in Egypt. Phytother Res. 2005 Sep; 19(9):807-9.

8. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA. Chemical composition of the fixed and volatile oils of Nigella sativa L. from Iran. Z Naturforsch C. 2003 Sep-Oct;58(9-10):629-31.

9. Mohamadin AM, Sheikh B, Abd EI-AaI AA, Elberry AA, Al-Abbasi FA. Protective effects of Nigella sativa oil on propoxur-induced toxicity and oxidative stress in rat brain regions. Pest Bioch Physiol. 2010; 98(1):128-34.

10. Al-Naggar TB, Gómez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM. Neuropharmacological activity of Nigella sativa L. extracts. J Ethnopharmacol. 2003 Sep;88(1):63-8.

11. Cicchetti E, Chaintreau A. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. J Sep Sci. 2009 Jun; 32(11):1957-64.

12. Gholizadeh Nasri F, Behnam Rasoli M, Nikravesh MR, Moghimi A, Behnam Rasoli F. Neuroprotective effects of sodium meta silicate on motoneurons of spinal cord ventral horn in rats underwent to compressived injury of sciatic nerve. J Iranian Anatomical Sci. 2007;5(1):9-16.

13. Tehranipour M, Javadmoosavi BZ, Kehtarpour M, Khayyatzade J. [Effect of aquatic extract of Cannabis sativa leaves on degeneration of alpha motoneurons in spinal cord after sciatic nerve compression in Rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2011;13(1): 16-22. [Article in Persian]

14. Tehranipour M, Ghadamyari T. The effects of root aquatic extract of Salvia staminea on neuronal density of alpha motoneurons in spinal cord anterior horn after sciatic nerve compression in rats. J Biol Sci. 2010;10(1): 48-52.

15. Tehranipour M., Kabiri M. The effect of exogenous testosterone administration on peripheral nerves regeneration after sciatic nerve compression in rat. J Biol Sci. 2009; 9(7): 692-6.

16. Li SX, Cui N, Zhang CL, Zhao XL, Yu SF, Xie KQ. Effect of subchronic exposure to acrylamide induced on the expression of bcl-2, bax and caspase-3 in the rat nervous system. Toxicology. 2006 Jan;217(1):46-53.

17. Nesic O, Xu GY, McAdoo D, High KW, Hulsebosch C, Perez-polo R. IL-1 receptor antagonist prevents apoptosis and caspase-3 activation after spinal cord injury. J Neurotrauma. 2001 Sep; 18(9):947-56.

18. El-Naggar T, Gomez-Serranillos MP, Palomino OM, Arce C, Carretero ME. *Nigella sativa* L. Seed extract modulates the neurotransmitter amino acids release in cultured neurons in vitro. J Biomed Biotechnol. 2010; Article ID 398312.

19. Vanamala J, Kester AC, Heuberger AL, Reddivari L. Mitigation of obesity-promoted diseases by Nigella sativa and thymoquinone. Plant Foods Hum Nutr. 2012 Jun;67(2):111-9.

20. Hosseinzadeh H, Taiari S, Nassiri-Asl M. Effect of thymoquinone, a constituent of Nigella sativa L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2012 May;385(5):503-8.

21. Fattahi Bafghi A, Vahidi AR, Anvari MH, Barzegar K, Ghafourzadeh M. The in vivo antileishmanial activity of alcoholic extract from *Nigella sativa* seeds. Afr J Microbiol Res. 2011 Jun; 5(12): 1504-10.

22. Babazadeh B, Sadehnia HR, Safarpour Kapurchal E, Parsaee H, Nasri S, et al. Protective effect of Nigella sativa and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced DNA damage in PC12 cells. Avicenna Journal of Phytomedicine (AJP). 2012; 2(3):125-32.

23. El-Tahir KH, Bakeet DM. The Black Seed Nigella sativa Linnaeus - A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil. Journal of Taibah University Medical Sciences. 2006;1(1):1-19.

24. Bastianetto S, Quirion R. Natural antioxidants and neurodegenerative disease. Frot Biosci. 2004 Sep; 9:3447-52.

25. Mahmood MS, Gilani AH, Khwaja A, Rashid A, Ashfaq MK. The in vitro effect of aqueous extract of Nigella sativa seeds on nitric oxide production. Phytother Res. 2003 Sep;17(8):921-4.

26. Singh G, Marimuthu P, de Heluani CS, Catalan C. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of Nigella sativa seeds. J Sci Food Agr. 2005 Oct; 85(13): 2297-306.

27. Yuan G, Wahlqvist ML, He G, Yang M, Li D. Natural products and anti-inflammatory activity. Asia Pac J Clin Nutr. 2006;15(2):143-52.

28. Landa P, Kokoska L, Pribylova M, Vanek T, Marsik P. In vitro anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E(2) biosynthesis. Arch Pharm Res. 2009 Jan;32(1):75-8.

29. Kanter M. Protective effects of Nigella sativa on the neuronal injury in frontal cortex and brain stem after chronic toluene exposure. Neurochem Res. 2008 Nov;33(11):2241-9.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Paper

Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* seed on alpha motor neurons density of spinal cord following sciatic nerve compression in rats

Jalali M (MSc)[1], Tehranipour M (PhD)*[2], Mahdavi Shahri N (PhD)[3]

[1]MSc in Animal Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.
[3]Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

Abstract

Background and Objective: Compression or sciatic axotomy induces neuronal death in spinal cord alpha motor neuron. This study was carried out to determine the effect of *Nigella sativa* seed alcoholic extract on spinal motor neuron density in anterior horn after sciatic nerve compression in rat.

Materials and Methods: In this experimental study 24 wistar rats were divided into four groups A: control, B: compression, C: compression+treatment with 75 mg/kg alcoholic extract, D: compression+treatment with 50 mg/kg alcoholic extract. In control group muscle was exposed without any injury to sciatic nerve. In compression and treatment group, the right leg sciatic nerve compressed for 60 sec. After four weeks of post operation, L2-L4 and S1, S2 and S3 segments of spinal cord were sampled, processed, serially sectioned and stained with toluidine blue. The number of alpha motor neurons was counted using dissector method.

Results: Neuronal density in compression group (650±32) significantly decreased in comparison with control group (1803±24). Neuronal density in C treated group (1581±47) and D treated group (1543±49) significantly increased compare to compression group ($P<0.001$).

Conclusion: Alcoholic extract of *Nigella sativa* seed increased the density of alpha motor neurons in spinal cord after sciatic nerve compression in rats.

Keywords: *Nigella sativa*, Sciatic nerve, Density, Neurons, Rat

*** Corresponding Author: Tehranipour M (PhD), E-mail: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir**

Received 13 August 2012 **Revised** 4 November 2012 **Accepted** 23 February 2013

This paper should be cited as: Jalali M, Tehranipour M, Mahdavi Shahri N. [Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* seed on alpha motor neurons density of spinal cord following sciatic nerve compression in rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 15(4): 29-34. [Article in Persian]

Archive of SID
www.SID.ir