فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۲۱، جلد ۶، شماره ۲، بهار ۹۲، صفحه ۲۷ تا ۳۶

بررسی اثرعصاره آبی دانه‌ی گیاه سیاه دانه بردژنراسیون نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع پس ازکمپرسیون عصب سیاتیک درموشصحرایی

مژگان جلالی[۱]، مریم طهرانی پور[۲]، ناصرمهدوی شهری[۳]
۱– دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، کارشناسی ارشدگروه زیست شناسی علوم جانوری، مشهد. ایران.
۲–دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، استادیار فیزیولوژی جانوری گروه زیست شناسی، مشهد. ایران.maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir
۳–دانشگاه آزاد اسلامی،واحد مشهد، استاد سیتولوژی– هیستولوژی گروه زیست شناسی، مشهد. ایران.
تاریخ دریافت:۹۱/۱۱/۳ تاریخ پذیرش:۹۱/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف:ضایعات اعصاب محیطی به صورت رتروگراد به جسم سلولی نورون‌های آلفا رسیده و سبب دژنراسیون مرکزی در نخاع می‌شود. این احتمال وجود دارد که سیاه دانه از خانواده آلاله به علت داشتن مواد آنتی‌اکسیدانت از این ضایعات ممانعت کند. هدف از این تحقیق بررسی اثر نوروپروتکتیوی عصاره آبی گیاه *Nigella sativa*(سیاه دانه) بر دژنراسیون آلفا موتونورون‌های نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم به‌طور تصادفی در چهار گروه شش تایی:کنترل(A)، کمپرسیون(B)، کمپرسیون+ تیماربا عصاره آبی دانه ی گیاه با دوز ۷۵mg/kg (C)، کمپرسیون+تیمار با عصاره ی آبی دانه ی گیاه با دوز ۵۰ mg/kg (D) تقسیم شدند. درگروه کنترل عضله در محل عصب سیاتیک بدون آسیب شکافته و در گروه‌های کمپرسیون و تیمار با عصاره، عصب سیاتیک پای راست تحت کمپرسیون (۶۰ ثانیه) قرار گرفت. در گروه‌های تیمار عصاره با دوزهای ۷۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش در دو نوبت به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از ۲۸ روز رت‌ها با روش پرفیوژن تثبیت و پس از نمونه برداری از قطعات کمری L2-L4 نخاع و پاساژ بافتی از آن‌ها برش‌های ۷ میکرونی سریال تهیه گردید. در برش‌ها پس از رنگ آمیزی با آبی تولوئیدین شمارش نورون‌های حرکتی شاخ قدامی نخاع به روش دایسکتور انجام شده و داده‌هابااستفاده ازنرم افزار Minitab 14 و آزمون‌های آماری T-test و ANOVA تجزیه وتحلیل شدند.

یافته‌ها: دانسیته نورونی درگروه کمپرسیون (۳۲±۶۵۰) نسبت به گروه کنترل (۲۴±۱۸۰۳)کاهش معنی داری داشت و دانسیته‌ی گروه C (۶۶±۱۳۵۰) و گروه D(۱۲۶±۱۲۸۷) نسبت به‌گروه‌کمپرسیون افزایش معنی‌داری نشان‌داد(P<۰/۰۰۱)

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان دادکه عصاره آبی دانه‌ی گیاه سیاه دانه باعث افزایش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع رت‌ها باکمپرسیون عصب سیاتیک می‌گردد واین افزایش دانسیته نورونی با میزان عصاره دریافتی ارتباط دارد.

واژه‌های کلیدی: سیاه دانه، عصب سیاتیک، دژنراسیون، نورون‌های حرکتی آلفا، رت.

مقدمه

به هنگام آسیب یا قطع یک عصب، مجموعه فرآیندهاو واکنش‌هایی دربخش دیستال آن ایجاد می‌شود و آکسون آن ناحیه (جزء پایین) به تدریج ازبین رفته و دژنراسیون تا اولین گره رانویه به سمت پروگزیمال ادامه می‌یابد که این فرآیند را دژنراسیون والرین می‌گویند. این فرآیند هم در اعصاب محیطی وهم در بخش مرکزی روی می‌دهد ولی روند ترمیم پس از آن متفاوت است(۱۸، ۱۰). دژنراسیون والرین (WD) مرتبط با آپوپتوز سلولی و همراه با دژنراسیون آکسون است که نه تنها پس از حادثه بلکه در بسیاری از اختلاف نورو دژنراتیو مانند پارکینسون و آلزایمر و بیمارهای دمیلینه مانند مولتیپل‌اسکلروزیس مشاهده می‌شود. در تخریب والرین، پروتئین اسکلت سلولی، (میکروتوبول‌هاو نوروفیلامنت‌ها) به دلیل فعال شدن ubiquitin-

proteasome(ups) و کلسیم وابسته به پروتئاز تخریب می‌شوند هم‌چنین تخریب اندامک‌ها همراه با انحلال عناصر آکسوپلاسمیک صورت می‌گیرد. واکنش‌های التهابی توسط سلول‌های ایمنی(مونوسیت /ماکروفاژ، لنفوسیت‌هایTوB، سلول‌های اندریتیک و نوتروفیل‌ها) و سلول‌های غیرعصبی (میکروگلیا وآستروسیت درCNS و سلول‌های شوان در PNS فعال می‌شوند. فعال سازی این سلول‌ها باعث آزاد شدن مولکول‌های التهابی می‌شود. در WD عملکرد پمپ$Na-Ca_2$ و در نتیجه عملکرد K-Naنیز دچار اختلال می‌شوند و افزایش کلسیم داخل سلولی موجب فعال شدن پروتئاز مؤثر در تجزیه اسکلت سلولی و تخریب پروتئینمیلینخواهدبود(۱). دراعصاب آسیب دیده افزایش بیان GALT-I-(4)و(Galactosyltrans feraseI-4) صورت گرفته که یک ژن غیر معمول است و دو پروتئین ایزوفرم راکد می‌کند. علاوه بر ژن نام برده ترجمه Ricinus commmunis(RCA-1) agglutinin 1 در سلول‌های شوان صورت می‌گیرد(۲). به دنبال ضایعات اعصاب محیط، تغییراتی در جهت فعال‌شدن میسر رژنراسیون صورت می‌گیرد. عامل نوروتروفیک مشتق ازمغز (BDNF) و فاکتور رشد عصب(NGF) و ازسوی دیگر فعال شدن رونویسی(STAT3) از ژن‌های مهم برای بازسازی آکسون و میکروتوبول‌ها و نوروفیلامنت‌ها و حمل رتروگراد است. NGFمانع از بین رفتن کامل نورون گانگلیون ریشه پشتی، پس از قطع عصب سیاتیک می‌شود BDNF،نیز موجب جلوگیری از نابودی نورون حرکتی پس از آکسوتومی می‌شود(۱). سیاه دانه گیاهی دولپه‌ای و علفی یکساله ازخانواده‌آلاله، با برگ های منشعب و نخی شکلو گل های منفرد بدون مهمیز با گلپوش دوردیفی منظم است.درون میوه برگه بذر گیاه سیاه رنگ و دارای خاصیت دارویی و صنعتی است(۱۷). دانه این گیاه حاوی ۴۰-۳۰ درصد ماده روغنی است. Thymoquinoneاصلی‌ترین و فراوان‌ترین ماده‌ی تشکیل دهنده‌ی روغن سیاه دانه است(۱۷، ۱۳). چهار ترکیب terpineo، carvacol، t-anethole و Thymoquinone در سیاه دانه به عنوان عوامل آنتی اکسیدان (AO) مؤثر هستند(۲۳). عصاره‌ی سیاه دانه می-تواند دارای اثرات ضد درد و ایسکمی در مغز بوده و موجب کاهش افسردگی و فعالیت حرکتی شود(۳،۴،۵،۲۱).ترکیب مونوترپن P-cymene موجود در آن دارای اثرات ضد میکروبی است و در برابر باسیلوس، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس مؤثر است (۱۴). روغن سیاه دانه روی مهار پارازیت‌ها ازطریق تحریک سیستم ایمنی و افزایش تعدادی از آنزیم‌های سرمی و کبدی وهم‌چنین افزایش Hb، RBC،WBC و پلاکت‌ها نقش دارد(۱۲). مصرف آن سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز سرم را کاهش می‌دهد. از طرفی آنزیم‌های کلیوی و کبدی پایدار می‌مانند(۸). با توجه به این که گیاه‌شناسان استفاده‌های سیاه دانه را در بیماری-های مختلف تأیید نموده‌اند(۱۷)، به‌خصوص استفاده آن برای درمان بیماری‌های سیستم عصبی (۲۰) و با توجه به این که تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثرعصاره آبی دانه گیاه مذکور صورت نگرفته است، لذا این مطالعه به منظور تعیین اثرعصاره آبی دانه‌ی گیاه سیاه دانه(*Nigella sativa*) بر دژنراسیون نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی ۲۴ سرت نرنژاد ویستار با سن تقریبی ۱۲ هفته و وزن۳۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه سرم سازی رازی خریداری شد. موش‌ها در حیوان‌خانه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه

آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان آزمایش نگه‌داری شدند. شرایط نگه‌داری با دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰درصد و سیکل نوری۱۲ ساعت نور و۱۲ ساعت تاریکی بود. به طوری که همگی امکان دسترسی به آب و غذای کافی داشتند. در این روش را ابتدا ۵۰گرم پودر دانه سیاه دانه داخل کاغذ مخصوص کارتوش (cartush) ریخته ودر دستگاه قرار می‌دهیم. دستگاه عصاره‌گیری شامل یک کیسه حرارتی یا (shofbalon) است. برای تهیه عصاره آبی، ۵۰ گرم پودر را با حلال آب مقطر به مقدار ۳۵۰سی‌سی در دستگاه قرار می‌دهیم و در مورد عصاره الکلی نیز با اتانل (۱۰۰-۹۷٪) به مقدار ۳۵۰ سی‌سی داخل بالن می‌ریزیم. در هر دو حالت الکل و آب مقطر کم کم گرم شده و به آرامی عصاره سیاه‌دانه با هر یک مخلوط شده و به بالن برمی‌گردد. مبرد، کار سرد کردن بخارات اضافی را برعهده دارد. بدین ترتیب از حجم کل محلول کاسته نمی‌شود. عصاره‌گیری با حرارت شوف بالن انجام می‌شود تا مایع نسبتاً غلیظی درته بالن جمعشود. درپایان عصاره گیری از عصاره آبی حذف حلال صورت گرفت. حیوانات به چهار گروه شش تایی کنترل(A)، کمپرسیون(B)،کمپرسیون + تیماربادوز۷۵میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره آبی (C) وکمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره آبی(D) تقسیم شدند. رت‌های هر گروه با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی رامپونوکتامین به نسبت ۶ و۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند(۵). پس از زدودن موهای زائد ناحیه خلف ران راست حیوان، پوست به اندازه۳ -۲سانتی‌متر شکافته شد و با کنار زدن عضلات خلف ران، عمل کمپرسیون عصب سیاتیک با استفاده ازقیچی قفل‌دار (قفلدوم) به مدت ۶۰ثانیه صورت گرفت پس ازکمپرسیون عصب، محل ضایعه ضد عفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در گروه‌های تیمار اولین مرحله تزریق عصاره با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی بلافاصله پس ازعمل کمپرسیون انجام شد. پس ازبه هوش آمدن رت ها، آن‌ها رابه قفسه ای جداگانه انتقال دادیم و در شرایط استاندارد حیوان خانه نگهداری کردیم. دومین مرحله تزریق درون صفاقی عصاره در گروه‌های تیمار ۷ روز پس از اولین تزریق صورت گرفت. پس از۲۸ روز از تاریخ کمپرسیون با استفاده از روش پرفیوژن ابتدا بافت-های بدن حیوانات را تا حدی تثبیت کردیم، سپس از نخاع ناحیه کمری آن‌ها نمونه برداری صورت گرفت(۵). نخاع تا انتهای مخروط انتها بیاز داخل ستون مهره‌ها خارج شد. سپس از انتهای مخروط انتهایی نخاع ۱۸ میلی‌متر بالا رفته و نمونه‌هایی به طول ۸ میلی‌متر تهیه نمودیم. 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 منشائ می گیرد، لذا نمونه‌های ۸میلی‌متری تهیه شده، محدوده جسم سلولی نورون‌های تشکیل دهنده عصب سیاتیک می‌باشند. سگمانت‌های۲۸- ۲۴ نخاعی (۵) نمونه‌های تهیه شده به مدت دو هفته درون فیکساتور قرارگرفته و پس از آن وارد مراحل پاساژ بافتی شدند. برشگیری با استفاده از دستگاه میکروتوم انجام گردید. به طوریکه برش هایی با ضخامت ۷میکرون ایجاد شد. برش‌گیری به صورت سریال صورت گرفت و از هر۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل گشت و در نهایت از هر نمونه ۳۰لام تهیه شد. در سلول‌های عصبی اجسام نیسل بر اساس استفاده از رنگ‌های بازی محلول در تامپون‌های ویژه‌ای آشکار می گردند. لذا در این مطالعه برای مشخص شدن جسم سلولی واجزائ آن از رنگ آبی تولوئیدین استفاده گردید (۱۶). در مرحله بعدی با استفاده از دستگاه فتومیکروسکوپ از منطقه شاخ قدامی نخاع در سمت راست در لام‌های تهیه شده،

ازدوبرش متوالی عکس هایی تهیه گردید. برای شمارش نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در سمت راست، از روش دایسکتور استفاده شد. در این روش در یک چهار چوب مرجع نورون‌هاشمارش می‌گردند. اگر ذره‌ای درچهارچوب مرجع باشد ولی در چهارچوب بعدی (در برش متوالی بعدی) نباشد، در شمارش به حساب می آید، اما اگر نورونی در هر دو چهارچوب باشد، درشمارش محسوب نمی‌شود(۵). 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 نمونه برداری شده در یک نمونه

V disecector: حجم چهارچوب نمونه برداری و برابر با $V\ dissector = A\ frame \times H$ می باشد.

A frame: مساحت چهارچوب نمونه‌برداری

H : فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش داده ها با استفاده ازنرم افزار Minitab 14 و آزمون‌های آماری T-test و ANOVA (برای مقایسه دو تایی گروه-ها) تجزیه و تحلیل شدند.

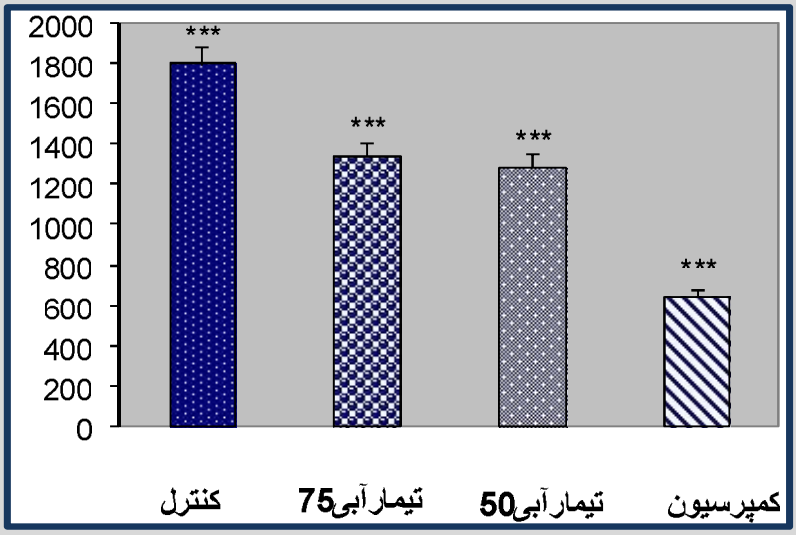
نتایج

دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در گروه‌های کنترل(A)، کمپرسیون(B)، کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی سیاه دانه(C) و کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن عصاره آبی سیاه دانه(D) به تفکیک در هریک از رت‌های تحت آزمایش در جدول یک نشان داده شده است (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱: دانسیته نورون های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در گروه های کنترل(A) کمپرسیون(B)، کمپرسیون+ تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی دانه ی گیاه سیاه دانه(C) ، و کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن عصاره آبی دانه گیاه سیاه دانه (D)

شماره موش	گروه‌ها			
	A	B	C	D
۱	۱۷۳۵	۷۸۹	۱۲۲۴	۹۶۲
۲	۱۸۹۵	۶۳۱	۱۵۷۹	۱۰۹۳
۳	۱۸۲۲	۶۷۷	۱۳۵۴	۱۸۶۲
٤	۱۷۳۷	۵۵۲	۱۳۳۳	۱۲۶۳
۵	۱۸۳۱	۶۱۲	۱۱۳۱	۱۲۳۰
٦	۱۷۹۹	۶۵۳	۱۴۸۱	۱۳۰۹

براساس نتایج این مطالعه میانگین و انحراف معیار دانسیته نورون های حرکتی آلفا در گرو ه های کنترل و کمپرسیون به ترتیب۲۴ ± ۱۸۰۳ و۳۲ ± ۶۵۰ تعیین گردید (P<۰/۰۰۱). میانگین دانسیته نورون های حرکتی آلفا در گروه های C و D به ترتیب ۶۶± ۱۳۵۰ و۱۲۶± ۱۲۸۷ تعیین گردید (P<۰/۰۰۱). مقایسه بین دانسیته نورون-های حرکتی آلفا در گروه های C و D در مقایسه با گروه کمپرسیون افزایش‌معنی‌داری‌نشان‌داد (نمودار۱)(P<۰/۰۰۱).



نمودار۱- مقایسه دانسیته تعداد نورون های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع بین گروه های کنترل(A) , کمپرسیون (B) , کمپرسیون + تیمار با دوز ۷۵میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی دانه ی گیاه سیاه دانه(C) ، و کمپرسیون + تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی دانه گیاه سیاه دانه (D) *(P<۰/۰۰۱).**

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که کمپرسیون عصب سیاتیک سبب کاهش معنی دار نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع رت می‌گردد و عصاره آبی دانه‌ی سیاه دانه(*Nigella sativa*) به میزان ۷۵ و۵۰ میلی‌گرم کیلوگرم وزن بدن در رت های با کمپرسیون عصب سیاتیک، باعث افزایش معنی‌دار دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع می‌گردد. قطع عصب سیاتیک یا کمپرسیون سبب القای مرگ نورونی در آلفا موتونورون‌های نخاع می‌شود(۵). در دانه سیاه دانه ترکیبات فلاونوئیدی از جمله گلیکوزیدهای فلاونوئید شامل kaempferol، quercetin و quercetin-3- وجوددارد (۱۹). ازطرفی فلاونوئیدها و از جمله فراوان-ترین آن‌ها یعنی فلاونوئیدهای quercetin و kaempferol دارای اثرات ضد التهابی و آنتی اکسیدان می‌باشند (۲۲،۱). برخی فلاونوئیدها با جلوگیری از روند پراکسیداسیون، به عنوان شکار کننده رادیکال‌های سوپراکسید در خون عمل می‌کنند و با حذف رادیکال-های آزاد، آسیب‌های سلولی وارده تخفیف یافته و از بین خواهد رفت. از بین فلاونوئیدها، آگلیکونوگلیکوزیدهای فلاونول‌ها که در دانه سیاه‌دانه نیز وجود دارند(۹). در مطالعات دیگری نشان داده شده است که سیاه‌دانه دارای اثر ضدالتهابی از طریق تثبیت غشا ماست سل‌ها و مهار ۵-لیپواکسیژناز می‌باشد و بر ژن‌هایی که سبب فعال شدن لوکوسیت‌ها می‌شوند نیز اثر مهاری دارد(۱۱). چهار ترکیبcarvacol، Thymoquinone ، t- anethole و 4-terpineo در سیاه‌دانه به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدان (AO) مؤثر هستند(۷). تیموکینون با مهار سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز اثر ضد التهابی داشته که این عمل وابسته به دوز می‌باشد. هم چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد توموری، ضد میکروبی و ضد استرس، و موجب آرامش بخشیدن و کاهش خستگی نیز است (۲۴)، از آن جا که اثر آنتی‌اکسیدانی گیاهان مربوط به ترکیباتی مانند: فلاونوئیدها، روغن های فرار مانند: thymol و carvacrol وویتامین‌هایی مانند: اسید آسکوربیک(AA-Ascorbic

acid) وα- توکوفرول(ویتامین E) و ترکیب p-cymeneاست و گیاه سیاه‌دانه نیز دارای مقادیر قابل توجهیازاین مواد می‌باشد، می‌تواند اثرات نوروپروتکتیوی خود را ایفا نماید (۶). بنابراین می‌توان گفت دانه ی سیاه‌دانه با استفاده از ترکیبات موجود درآن‌که دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی هستند به لحاظ بالینی در محافظت نورون مؤثراست وبه همین جهت است که دانسیته ی نورونی در گروه‌های تیمارشده با عصاره‌ی آبی‌دانه‌ی سیاه دانه در مقایسه با گروه-کمپرسیون افزایش معنی‌داری داشته است. این مطالعه نشان داد که عصاره آبی دانه گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa*) باعث افزایش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در رت باکمپرسیون عصب سیاتیک می‌گردد و این افزایش دانسیته نورونی با میزان عصاره دریافتی ارتباط دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم جانوری بود. بدینوسیله ازهمه همکاران گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد و مدیریت محترم گروه سرکارخانم دکترخیاط زاده تشکروقدردانی می نماییم.

منابع

1. Ahmed, M. S., El Tanbouly, N. D., Islam, W. T., Sieem, A. A., El Senousy, A. S. (2005). Anti inflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. Flowers growing in Egypt. Phytother, (19); 807-809.

2. Aiguo, SH., Dan, Z., Fei, D., Min, Z., Xiaosong, Gu., Jianxin, Gu. (2003). Increased gene expression of β-1,4 galactosyltransferase 1 in rat injurd sciatic nerve. Journal of Molecular Neuroscience, (21); 103-110.

3.Almeida, E.R., Almeida, R.N., Navarro, D.S., Bhattacharryya, J., Silva, B.A., Birnbaum, J.S.P. (2003). Central antinociceptive effect of a hydroalcoholic extract of *Dioclea grandiflora* seeds in rodents. Journal of Ethnopharmacology, (88); 1–4.

4.Al-Naggar, T.B., Gómez-Serranillos, M.P., Carretero, M.E., Villar, A.M. (2003). Neuro pharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. Journal of Ethnopharmacology, (88); 63–68.

5. Behnam Rasouli M., Mahdavi Shahri N., Tehranipour M., Nikravesh, M. R. (2000). Post-operative time effects after sciatic nervecrush on the nunmer of *Alpha motoneurons*, using a stereological counting method (disector). Iranian Biomedical Journal, 4(1); 45-49.

6. Brewer, M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Comprehensive. Reviews in Food Science and Food Safety, (10); 221-247.

7. Bruno, S., Mietto Rodrigo, M., Costa Silmara, V., de Lima Sergio, T., Ferreira, Ana M.B. (2012). Wallerian degeneration in injury and diseases: concepts and prevention. Advanced understanding of Neurodegenerative Disease, (17); 351-364.

8. Cherrah, A., Mahassini, Y., Alaoui, N., Amarouch, K., H.Hassar, M. (2002).Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. Phytomedicine, 9(1); 69-74.

9. Comalada, M., Ballester, I., Bailon, E., Sierra, S., Xaus, J., Galvez, J. (2006). Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: Analysis of the structure-activity relationship. Biochem. Pharmacol, (72) ; 1010-1021.

10. Coleman, M. P., Conforti, L., Buckmaster, E. A., Tarlton, A., Ewing, RM., Brown, M.C. (1998). An 85-kb tandem triplication in the slow Wallerian degeneration (Wlds) mouse. Proc Natl Acad Sci USA, 18;95(17); 9985-9990.

11. El- Dakhakhny, M., Madi, N. J., Ammon, H. P. (2002). *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-Lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats, J. Ethnopharmacol, (81); 161-164.

12. Ekanem, J. T., Yusuf, O. K. (2008). Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on *Trypanosoma brucei*infected Rats. African Journal of Biotechnology, 7(2); 153-157.

13. Gali, H., Muhtasib, N. EI. N., Stock, R. S. (2006). The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa)* and its components. Lead Molecules from Natural Products,133-153.

14. Gurdip, S., Palanisamy, M., de Heluani, C. S., Catalan, C. (2005). Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture, (85); 2297–2306.

15. Hosseinzadeh, H., Taiari, S., Nassiri-Asl, M. (2012). Effect of thymoquinone, a constituent of *Nigella sativa* L., on ischemia–reperfusion in rat skeletal muscle. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, (385);503–5089.

16. Kiernan, J. (2008). Histological and histochemical methods: theory and practice. 4th. London: Cold Spring Harbor Laboratory Press., pp:214-39.

17. Labib Salem, M. (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. International Immunopharmacology, (5); 1749-1770.

18. Mark, G., Burnet, M. D., Eric L.Zagger, M. D. (2004). Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosury Focus, 16(5); Article 1.

19. Merfort, I., Wray, V., Barakat, H. H., Hussein, S. A. M., Nawwar, M. A. M., Willuhn, G. (1997). Falvonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa.* Phytochemistry, (46); 359-363.

20. Mohamadin, A.M., Sheikh, B, .AbdEI-Aa, I., Abbasi, F. (2010). Protective effects of *Nigella sativa* oil on propoxur-induced toxicity and oxidative stress in rat brain regions. Pesticide Biochemistry and physiology, (98); 128-134.

21. Mojab, B. N., Javidnia, F. K., Roodgar Amoli, M. A. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. Z. Natur forsch, (58c); 629-631.

23. Tarek El-Naggar, M.P., Gomez-Serranillos, O.M. P., Carmen, A., Carretero, M. E. (2010). Nigella *sativa* L. seed extract modulates the neurotransmitter amino acids release in cultured neurons in vitro. Journal of Biomedicine and Biotechnology, Article ID 398312, 8 pages.

22. Nair, M. P., Mahajan, S., Reynolds, J. L., Aalinkeel, R., Nair ,H., Schwartz, S. A., Kandaswami, C. (2006). The flavonoid quercetin inhibits pro inflammatory cytokine (Tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via Clin. Vaccin modulation of the NF- kappa beta system, Immunol, (13); 319-328.

24. Vesela, J., Juhas, S., Cikos, S., Czikkova, S., Ilkova, G., Hajek, T. (2008). Original article effects of borneol and thymoquinone on tnbs-induced colitis in mice. Folia Biologica, (54); 1-7.