فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۰، جلد ۸، شماره۳، تابستان۹۴، صفحه ۳۵ تا ۴۳

مقایسه اثر عصاره الکلی و آبی دانه ی گیاه سیاه دانه بر رژنراسیون نورو ن های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت

مریم طهرانی پور [۱]، مژگان جلالی [۲]، ناصرمهدوی شهری [۳]
۱-دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست شناسی، مشهد. ایران. maryam__tehranipour@mshdiau.ac.ir
۲-کارشناس ارشد زیست شناسی علوم جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست شناسی، مشهد. ایران.
۳- استاد، دکتری سیتولوژی- هیستولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد گروه زیست شناسی، مشهد. ایران.

تاریخ دریافت:۹٤/۳/۱۲ تاریخ پذیرش:۹٤/۵/۲۵

چکیده

زمینه وهدف: به دنبال کمپرسیون عصب، رادیکال‌های آزاد باعث مرگ سلول‌ها می‌شوند، سیاه دانه(*Nigella sativa*) از خانواده آلاله دارای اثرات فارماکولوژیکی مانند آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و ضدآپوپتوزی است. این تحقیق به بررسی اثر نوروپروتکتیوی عصاره‌های آبی و الکلی دانه سیاه دانه بر رژنراسیون نورون‌های حرکتی در عصب سیاتیک رت می‌پردازد.

روش کار: ۳٦ سر رت نر به‌طور تصادفی در شش گروه شش تایی کنترل، کمپرسیون، تیمار A و B: کمپرسیون+ تیمار با عصاره الکلی با دوز ۵۰mg/kg و ۷۵، تیمارCوD: کمپرسیون+ تیمار با عصاره آبی با دوز mg/kg ۷۵ و۵۰ با ۲ تکرار تقسیم شدند. درگروه کنترل عضله در محل عصب سیاتیک شکافته و در گروه‌های کمپرسیون و تیمار عصب سیاتیک تحت کمپرسیون(٦۰ ثانیه) قرار گرفت. پس از ۲۸ روز رت‌ها با روش پرفیوژن تثبیت و پس از نمونه‌برداری از قطعات کمری نخاع L_2-L_4 و پاساژ بافتی، از آن‌ها برش‌های ۷ میکرونی به صورت سریالی تهیه و پس از رنگ آمیزی با آبی تولوئیدین شمارش نورون‌های آلفا به روش دایسکتور انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار Minitab ١٤ و آزمون‌های آماری T-test و ANOVA تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته ها: نتایج نشان می‌دهند که دانسیته نورونی در گروه کمپرسیون نسبت به گروه کنترل و گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: تیمار با عصاره الکلی نسبت به آبی اثرات نوروپروتکتیو بیشتری داشته و موجب افزایش دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع در رت‌های دارای کمپرسیون عصب سیاتیک می‌گردد.

واژه های کلیدی: سیاه دانه، عصب سیاتیک، دژنراسیون، رژنراسیون، نورونهای حرکتی آلفا، رت.

مقدمه

قطع عصب سیاتیک یا کمپرسیون سبب القای مرگ نورونی در آلفا موتونورون‌های نخاع می‌شود(۵).اختلالات ژنتیکی، ویروس‌ها و یا باکتری‌ها می‌توانند موجب پاسخ گویی سیستم ایمنی شوند(۷). در ابتدا جوانه‌زدن مجدد آکسون به کمک سلول‌های شوان و هم‌چنین فاکتورهای رشد در بخش انتهایی پروکسیمال آکسون قطع شده آغاز می‌گردد. در آکسون تازه شکل گرفته، مجدداً میلین، نازک‌تر از حد طبیعی ایجاد شده و گره‌های رانویه نیز کوتاه تر از گذشته دیده می‌شود. به تدریج ماکروفاژها محل را ترک نموده و در طول ۲ تا ۴ هفته گسترش آستروسیت‌ها و فرآیندهای سنتز پروتئین توسط آستروسیت‌ها و تشکیل یک توده‌ی متراکم رشته‌های داخل سلولی گلیال متشکل از پلیمرGFAP(Glial Fibrillary Acidic Protein)در تمام فضاهای به جا 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. Neuregulin۱ و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال(ErbB) در مسیرهای

سیگنالینگ کنترل سلول‌های شوان برای بازسازی آکسون در سیستم اعصاب محیطی آسیب دیده دخالت دارند که این امر موجب بهبود رشد عملکرد حسی و حرکتی خواهد شد(۱۹). افزایش بیان neurofilament وGAP۴۳ وS۱۰۰ درمحل جراحت آکسون، برای درمان آسیب عصب محیطی مؤثر است(۱۱). در اوایل قرن بیستم رامون کاخال اولین شواهد تجربی را مبنی بر توانائی محدود سیستم عصبی مرکزی برای دوباره سازی و ترمیم خود ارائه داد. مشاهدات وی کمک کرد که بتوان اثرات مخرب و برگشت ناپذیر آسیب سلسله اعصاب مرکزی را که از قبل توسط پزشکان دیگر مشاهده شده بود، توضیح داد. کار رامون کاخال هم‌چنین زمینه ساز تحقیقات نوروبیولوژیک در زمینه روندهای رژنراتیو سیستم عصبی مرکزی در سال‌های بعد شد(۲۲). آسیب سلسله اعصاب مرکزی شبیه انفجار یک ابر کامپیوتر می‌باشد; چراکه در این‌جا نیز ترمیم نیازمند اتصال مجدد میلیون‌ها مدار قطع شده است. با وجود این، مفهوم ترمیم در سیستم عصبی مرکزی دور از ذهن نیست و در شرایط مناسب ممکن است صورت بگیرد(۲۳). در واقع سه علت اساسی برای عدم ترمیم سیستم عصبی مرکزی وجود دارد که عبارتند از: ۱–در بسیاری از موارد، نورون‌های آسیب دیده به سرعت می‌میرند. ۲– محیط سیستم عصبی مرکزی برای رشد مناسب نبوده، در واقع مهار کننده‌ی رشد است. ۳– نورون‌های زنده مانده هم معمولاً ظرفیت کافی برای ترمیم ندارند. بر خلاف اعصاب محیطی، نورون‌های مرکزی پتانسیل رژنراتیو پایینی دارند; زیرا از یک طرف نورون‌هایی که از آسیب ثانویه جان سالم به دربرده‌اند در مقابل سیگنال‌های مهاری رشد قوی قرار می‌گیرند و از طرف دیگر، ظرفیت میتوژنیک ذاتی آن‌ها پایین است(۲۲). منبع این سیگنال-های مهاری و تحریکی از سه مکان تامین می‌شود: خود نورون، محیط خارج سلولی و مولکول‌های قابل دیفوزیون. اسکار گلیال و میلین سیستم عصبی مرکزی با منشا الیگو دندروسیت بر ترمیم نورون اثر مهاری دارند، در حالی‌که درمان‌های نوروپروتکتیو و نوروتروپین‌ها بر رشد سلول عصبی مرکزی اثر تحریکی دارند(۲۲). سیاه دانه گیاهی دولپه‌ای و علفی یک‌ساله، ازخانواده آلاله، با برگ‌های منشعب و نخی شکل و گل‌های منفرد بدون مهمیز با گلپوش دوردیفی منظم است. پتانسیل بالینی آن مربوط به فراکسیون پروتئینی و روغن فرار thymoquinone است. روغن آن سیتوتوکسیک بوده و عصاره‌ی آبی و الکلی آن آب اکسیژنه را غیر فعال می کند و می‌تواند مانع از متاستاز ناشی از کلاژناز و متالوپروتئاز شود. افزایش بیان P_{53} و مهار BCL_2 و تحریک آپوپتوز در مرحله‌ی G_1 چرخه‌ی سلولی نقش ضد توموری 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 استفاده می‌شود(۲۱). از طرفی فلاونوئیدها از جمله فراوان ترین آن‌ها یعنی فلاونوئیدهای quercetin و kaempferol دارای اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، ترکیبات فلاونوئیدی موجود درسیاه دانه در عصاره الکلی نیز وارد می‌شوند(۱۳، ۱). با توجه به این که گیاه شناسان استفاده-های سیاه دانه را در بیماری‌های مختلف تأیید نموده-اند(۱۷). به خصوص استفاده آن برای درمان بیماری‌های سیستم عصبی(۱۸) و با توجه به این که تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثر مقایسه‌ای عصاره الکلی و آبی دانه گیاه مذکور صورت نگرفته است، این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی و آبی دانه‌ی گیاه سیاه دانه(*Nigella sativa*) بر رژنراسیون نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت انجام شد.

مواد و روش‌ها

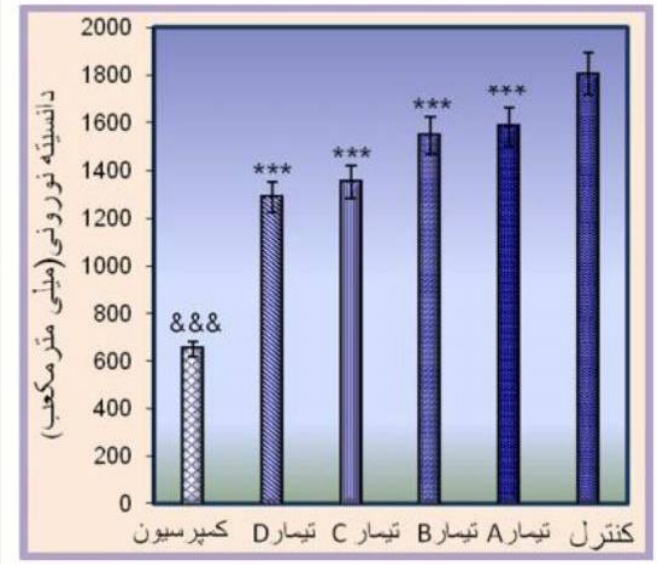
برای انجام این مطالعه تجربی ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۲ هفته و وزن۳۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه سرم‌سازی رازی خریداری گردید. موش‌ها در حیوان‌خانه گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. شرایط نگهداری با دمای۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد و سیکل نوری۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و امکان دسترسی به آب و غذای کافی بود. برای تهیه عصاره الکلی ۵۰گرم پودر دانه سیاه دانه را با اتانل(۱۰۰-۹۷٪) به مقدار ۳۵۰ سی سی داخل بالن ریخته به‌تدریج با گرم شدن الکل عصاره سیاه دانه با آن مخلوط شده و به بالن برمی گردد. مبرد، کار سرد کردن بخارات اضافی را برعهده دارد. بدین ترتیب از حجم کل محلول کاسته نمی‌شود. عصاره گیری باحرارت شوف بالن انجام می‌شود تا مایع نسبتاً غلیظی درته بالن جمع شود. در پایان عصاره گیری از عصاره حذف حلال صورت گرفت. جهت تهیه عصاره آبی همان مقدار پودر در حلال(آب مقطر) عصاره‌گیری گردید(۸). حیوانات در شش گروه ۶تایی کنترل، کمپرسیون، تیمار A: کمپرسیون+ تیماربا عصاره الکلی دانه‌ی گیاه سیاه دانه با دوز ۷۵mg/kg، تیمارB: کمپرسیون+تیمار با عصاره الکلی با دوز mg/kg ۵۰، تیمارC: کمپرسیون+تیمار با عصاره آبی با دوز mg/kg ۷۵، تیمارD: کمپرسیون+تیمار با عصاره آبی با دوز mg/kg ۵۰ تقسیم شدند(۲۴). رت‌های هر گروه باتزریق داخل صفاقی ماده بیهوشی رامپون و کتامین به نسبت۱ به ۱۰(۶ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند(۵). پس از زدودن موهای زائد ناحیه خلف ران راست حیوان، پوست به اندازه۳ -۲سانتی‌متر شکافته و با کنار زدن عضلات خلف ران، عمل کمپرسیون عصب سیاتیک با استفاده از قیچی قفل‌دار(قفل دوم) به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت، پس از کمپرسیون عصب، محل ضایعه ضدعفونی و توسط گیره فلزی بخیه زده شد. در گروه های 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(۲۴). پس از به هوش آمدن رت‌ها، آن‌ها به قفس‌های جداگانه انتقال داده و در شرایط استاندارد حیوان‌خانه نگهداری شدند. دومین مرحله تزریق درون صفاقی عصاره در گروه‌های تیمار ۷ روز پس از اولین تزریق صورت‌گرفت. پس از ۲۸ روز از تاریخ کمپرسیون با استفاده از روش پرفیوژن ابتدا بافت‌های بدن حیوانات تا حدی تثبیت، سپس از نخاع ناحیه کمری آن‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت(۵). 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 گردید. 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 منشاءمی‌گیرد، لذا نمونه‌های ۸ میلی‌متری تهیه شده، محدوده جسم سلولی نورون‌های تشکیل دهنده عصب سیاتیک می‌باشند. نمونه‌های تهیه شده ازسگمانت‌های۲۸ -۲۴ نخاعی(۲۵)پس از دو هفته تثبیت در تثبیت کننده وارد مراحل پاساژ بافتی شامل سه مرحله آبگیری از بافت با استفاده از الکل، شفاف‌سازی توسط زایلن و مرحله آغشتگی با پارافین شد. برش‌هایی با ضخامت ۷ میکرون با استفاده از دستگاه میکروتوم به صورت سریالی صورت گرفت، از هر۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل و در نهایت از هر نمونه ۳۰ لام تهیه شد. پس از آن نمونه‌ها با استفاده از رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند(۲۵). 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 می گردند. اگر ذره‌ای در چهارچوب مرجع باشد ولی در چهارچوب بعدی(در برش متوالی بعدی) نباشد، در شمارش به حساب می‌آید، اما اگر نورونی در هر دو چهارچوب باشد، در شمارش محسوب نمی‌شود(۲۵). پس از شمارش نورون‌ها دانسیته نورونی توسط فرمول زیر محاسبه شد:

مجموع : Q ،ND= Q/ frame ×V dissector نورون‌های شمارش شده در یک نمونه، frame : مجموع دفعات نمونه برداری شده در یک نمونه، V: disecectorحجم چهارچوب نمونه برداری و برابر است با: V dissector= A frame ×H، A frame: مساحت چهارچوب نمونه برداری، H : فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش. داده ها با استفاده از نرم افزار Minitab 14و آزمون‌های آماری T-test و ANOVA (برای مقایسه دوتایی گروه‌ها)تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

براساس نتایج این مطالعه میانگین و انحراف معیار دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌های کنترل و کمپرسیون به ترتیب۲۴ ± ۱۸۰۳ و ۳۲ ±۶۵۰ تعیین گردید(P<۰/۰۰۱). میانگین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌هایA، B، C و D به ترتیب ۴۷±۱۵۸۱، ۴۹±۱۵۴۳، ۶۶±۱۳۵۰ و ۱۲۶± ۱۲۸۷ سنجش شد(P<۰/۰۰۱). مقایسه بین دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا در گروه‌های A، B، C و D در مقایسه با گروه کمپرسیون افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار۱) (P< ۰/۰۰۱).



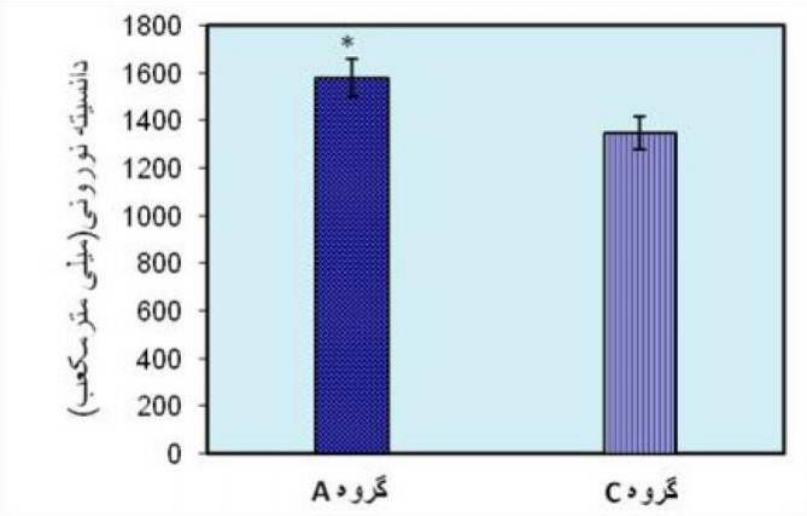
نمودار۱- اثر عصاره‌ی آبی و الکلی سیاهدانه با دوزهای مختلف بر دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع

درهر گروه اعداد نشان دهنده: میانگین دانسیته نورونی ± خطای استاندارد می باشد. (&&&: مقایسه گروه کنترل با کمپرسیون)، (***: مقایسه گروه کمپرسیون با تیمارها) (***به معنای p< ۰/۰۰۱)(&&&به معنای P)

داده ها نشان می‌دهد که با مقدار(P= ۰/۰۱۸)تفاوت معناداری بین دانسیته نورونی گروه تیمارA(کمپرسیون+ عصاره الکلی سیاه‌دانه با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) با گروه تیمارC(کمپرسیون+ عصاره آبی سیاه‌دانه با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) سیاه‌دانه وجود دارد. دانسیته نورونی در گروه تیمار A نسبت به گروه تیمار C افزایش چشم-گیرتری نشان می‌دهد. احتمالاً نوع و میزان مواد مؤثر در گروه A به اندازه‌ای بوده که بتواند اثرات حفاظتی

بیشتری را نسبت به گروه C اعمال نماید(نمودار ۲). هم-با توجه به مقدار($P=۰/۰۸۸$) تفاوت معناداری بین دانسیته نورونی گروه تیمار B(کمپرسیون+ عصاره الکلی سیاه‌دانه با دوز ۵۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) با گروه

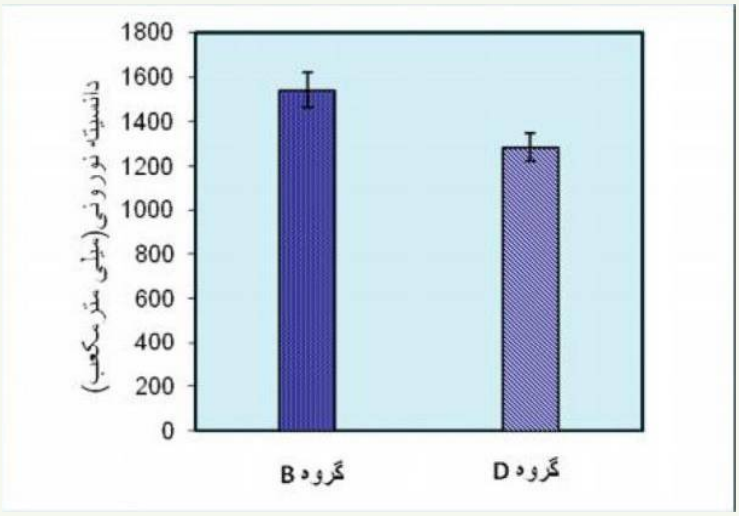
چنین مقایسه دوز ۵۰ در دو نوع عصاره مشخص کرد که تیمارD(کمپرسیون+ عصاره آبی سیاه‌دانه با دوز ۵۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) وجود ندارد. احتمالاً اجزاء مؤثر در سیاه‌دانه به میزان برابر در هر دو عصاره وجود دارد.



نمودار۲-مقایسه دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع در نیمه راست

گروه تیمارA(کمپرسیون+ عصاره الکلی سیاه‌دانه با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) با گروه تیمارC(کمپرسیون+عصاره آبی سیاه‌دانه با دوز ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)

در هر گروه اعداد نشان دهنده‌ی میانگین دانسیته نورونی ± خطای استاندارد می‌باشد(*به معنای $p<۰/۰۵$).



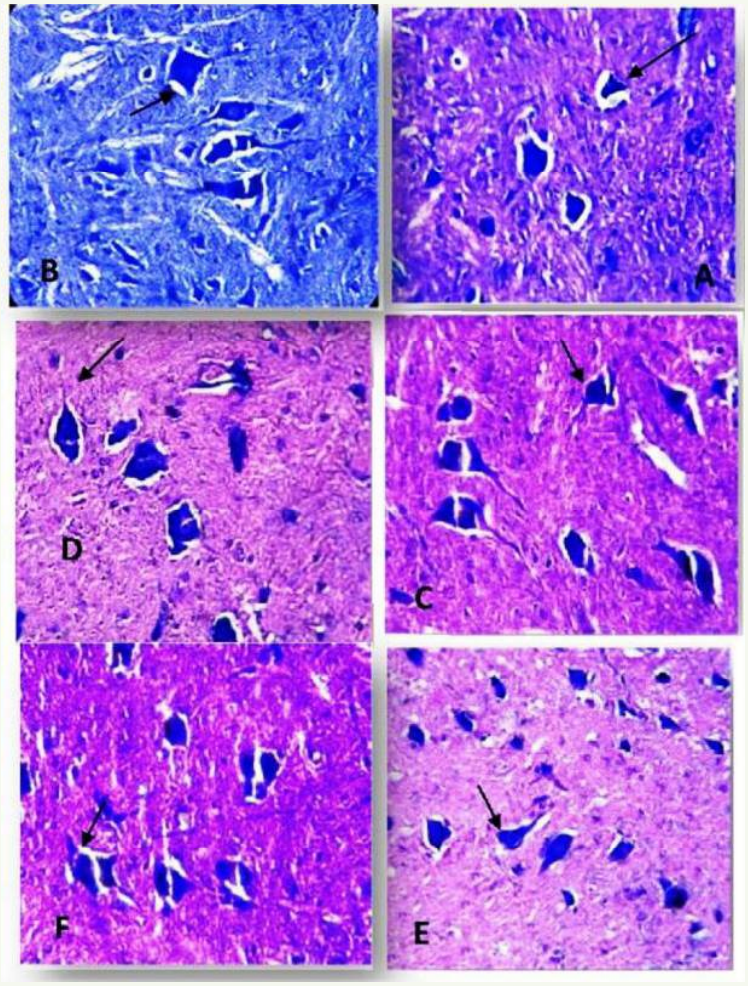
نمودار۳- مقایسه دانسیته نورون‌های حرکتی آلفای شاخ قدامی نخاع در نیمه راست

گروه تیمارB(کمپرسیون+ عصاره الکلی سیاه‌دانه با دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) با گروه تیمار D(کمپرسیون+ عصاره آبی سیاه‌دانه با دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)

در هر گروه اعداد نشان دهنده‌ی میانگین دانسیته نورونی ± خطای استاندارد می‌باشد.

نتایج بافت شناسی:چنان چه در مشاهدات بافتی دیده می‌شود در گروه کمپرسیون شکل سلول‌ها از حالت طبیعی خارج شده و مثلثی شکل شده، هسته از مرکز به کناره‌ها کشیده و اثرات رژنراسیون کم‌کم ظاهر می-شود(شکل۱ A,B). در گروه‌های الکلی ۵۰ و ۷۵ میلی-گرم/کیلوگرم به‌نظر می‌رسد که آثار ترمیم به‌تدریج

ظاهر و شکل سلولی مجداً به سمت چند وجهی شدن پیش رفته است(شکل۱ C-F).



شکل ۱–اثر عصاره الکلی و آبی دانه ی گیاه سیاه دانه بر نورون‌های حرکتی آلفا

برش عرضی نخاع در نیمه راست، رنگ آمیزی آبی تولوئیدین- اریتروزین. **A:** گروه کنترل، **B :** گروه کمپرسیون، نورون‌های حرکتی آلفا(درشت نمایی ×۱۶۰۰)، **C :** گروه تیمارA(کمپرسیون + عصاره الکلی با دوز ۷۵ میلی گرم/کیلوگرم)، **D:** تیمار B(کمپرسیون + عصاره الکلی با دوز ۵۰ میلی گرم/ کیلوگرم، **E:** گروه تیمار C(کمپرسیون+ عصاره آبی سیاه دانه با دوز ۷۵ میلی گرم/کیلوگرم)، **F:** گروه تیمار D(کمپرسیون+ عصاره آبی سیاه دانه با دوز۵۰ میلی گرم/کیلوگرم)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بیان‌گر این مطلب بودند که کمپرسیون ایجاد شده در عصب سیاتیک موجب کاهش دانسیته نورونی شاخ قدامی شده است. محققان نیز معتقدند این عمل موجب آپوپتوزیس و افزایش بیان ژن‌های پیش آپوپتوتیک Bax، Apaf-1 وکاسپاز۳ و۹ بعد از آسیب دیده‌گی،می شود(۲۰، ۱۴). در آسیب حاد، آپوپتوزیس موجب دژنره شدن ثانویه درمحل آسیب و دمیلینه شدن راه‌های عصبی می‌گردد(۵). عصاره الکلی دانه‌ی سیاه‌دانه(*Nigella sativa*) در رت‌های با کمپرسیون عصب سیاتیک، باعث افزایش معنی‌دار دانسیته نورون‌های حرکتی آلفا شاخ قدامی نخاع شده است. عصاره الکلی سیاه‌دانه برروی کشت سلول‌های عصبی قشری موجب افزایش ترشح انتقال دهنده‌ی عصبی و تحریک گلوتامات و آسپارتات و مهارکننده‌ی اسیدهای آمینه GABA، aminobutyric و گلایسین

شده و اثرات آن روی افسردگی و ایجاد حالت آرام بخش ناشی از تأثیر اخیر آن است(۹). چهار ترکیب t-anethole، 4-Terpineo، Thymoquinone و Carvacolدر سیاه‌دانه به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدان مؤثر هستند(۱۶). اثرThymoquinone در کاهش ایسکمی در بافت‌هایی مانند مخاط معده و مغز مشاهده می‌شود و می‌تواند موجب برقراری مجدد جریان خون در ماهیچه اسکلتی شود(۱۰). با توجه به شواهد به دست آمده و دامنه‌ی وسیع استفاده از سیاه‌دانه به عنوان ترکیب دارویی در طب سنتی در کشورهای شرق دور، آسیا و خاورمیانه که به واسطه‌ی دامنه‌ی عملکرد گسترده‌ی این ترکیب می‌باشد می‌توان انتظار داشت که عصاره‌ی آبی یا الکلی این گیاه در جهت کاهش صدمات وارده به سیستم عصبی مرکزی مؤثر باشد که در این میان دوز مورد استفاده‌ی این عصاره در اثرات نوروپروتکتیوی آن مؤثر است(۱۲، ۳، ۲). خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات سلول‌های عصبی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند. استرس اکسیداتیو منجر به افزایش محصولات پراکسیداسیون لیپیدها مانند مالون دی آلدئید شده و به دنبال آن با افزایش فعالیت آنتی-اکسیدان‌های درون‌زا مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز(SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز با رادیکال‌های آزاد که به طور طبیعی توسط متابولیسم بدن تولید می‌شود، مقابله صورت می‌گیرد. فلاونوئیدها نیز به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان به همراه ویتامین E و ویتامین C در عصاره‌ی سیاه‌دانه یافت شده و موجب جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و اثر محافظتی برای سیستم عصبی دارند(۴). از آن جا که اثر آنتی-اکسیدانی گیاهان مربوط به ترکیباتی مانند: فلاونوئیدها، روغن‌های فرار مانند: Thymol و Carvacrol و ویتامین-هایی مانند: اسید آسکوربیک و – توکوفرول(ویتامین E) و ترکیب P-Cymene است و گیاه سیاه‌دانه نیز دارای مقادیر قابل توجهی از این مواد می‌باشد، می‌تواند اثرات نوروپروتکتیوی خود را ایفا نماید(۶). عصاره آبی سیاه-دانه اثر مهاری بر تولید نیتریک اکساید(NO) دارد. این ماده یک واسطه التهابی بوده و توسط ماکروفاژها تولید می‌شود(۱۵). بنابراین می‌توان گفت دانه‌ی سیاه‌دانه با استفاده از ترکیبات موجود در آن که دارای اثرات آنتی-اکسیدانی و ضدالتهابی هستند به لحاظ بالینی در محافظت نورون مؤثر بوده و به همین جهت دانسیته‌ی نورونی در گروه‌های تیمار شده با عصاره‌ی الکلی و آبی دانه‌ی سیاه‌دانه در مقایسه با گروه کمپرسیون افزایش معنی داری داشته است. در جمع بندی کلی، تمام گروه‌های تیمار شده با عصاره های الکلی و آبی افزایش دانسیته نورونی را نسبت به گروه کمپرسیون نشان می‌دهند. حداکثر افزایش دانسیته‌ی نورونی در گروه تیمار A و حداقل افزایش دانسیته در گروه تیمار D مشاهده شده که می تواند به دلیل تفاوت مواد مؤثر موجود در گروه‌ها باشد. با توجه به شواهد موجود برای جلوگیری یا کاهش ضایعات سلول‌های عصبی حاصل از کمپرسیون عصب سیاتیک، استفاده از بذر سیاه‌دانه به عنوان یک ماده نوروپروتکتیو با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن مفید است. اثر حفاظتی عصاره الکلی دانه سیاه‌دانه به دلیل وجود ترکیباتی مانند تانن، فلاونوئید، آلکالوئید، نیژلون، –توکوفرول(ویتامین E)، ترکیب P-Cymene و روغن-های فرار مانند:thymol ، Carvacrol و روغن‌هایی مانند تیموکینون و تیموهیدروکینون است و خاصیت نوروپروتکتیوی عصاره آبی نیز تحت تأثیر آلکالوئید Nigellone(محلول در آب و الکل) و ویتامین C(اسید آسکوربیک)، کاراکرول و P-Cymene می‌باشد که همه این ترکیبات دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بوده و با حذف رادیکال‌ها ی آزاد، آسیب-های سلولی وارده را تخفیف می‌دهند.

منابع

1.Ahmed, MS., El Tanbouly, ND., Islam, WT., Sleem, AA., El Senousy, AS. (2005). Anti inflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) haw. Flowers growing in Egypt. Phytother, 19(9); 807-9.

2.Babazadeh, B., Sadeghnia, HR., Safarpour, KE., Parsaee, H., Nasri1, S., Tayarani, Z. (2011). Protective effect of *Nigella sativa* and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced DNA damage in PC12 cells. A J Phyto Med, 2(3); 125-32.

3.Bafghi1, AF., Vahidi, AR., Anvari1, MH., Barzegar, K., Ghafourzadeh, M. (2011). The in vivo anti leishmanial activity of alcoholic extract from *Nigella sativa* seeds. Afr J Microbiol Res, 5(12); 1504-10.

4.Bastianetto, S., Quirion, R. (2004). Natural antioxidants and neurodegenerative disease. Frot Biosci, 1(9); 3447-52.

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

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.Cannon Tamy, C. F., Alto Laura, T., McAlpine, E.F., Tansey Malu, G. (2009). Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative molecular diseases? Mol Neurodegener, 4(47); 1-13.

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

9.El-Naggar, T., Serranillos MP, Gomez., Palomino, OM., Arce, P., Carretero, ME. (2010). *Nigella sativa* L. seed extract modulates the neurotransmitter amino acids release in cultured neurons in vitro. J Biomed Biotechnol, (16); 1-8.

10. 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(5); 503–8.

11. Joung1, I., Yoo, M., Woo, JH., Chang, CY., Heo, H., Kwon, YK. (2010). Secretion of EGF-Like domain of heregulin promotes axonal growth and functional recovery of injured sciatic nerve. Mol Cells, 30(5); 477-484.

12. Kamal El-Din, H., El-Tahir, Dana., Bakeet, M. (2006). The black seed *Nigella sativa* Linnaeus , A mine for multi cures: A plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil. J T U Med Sci, 1(1); 1-19.

13. Kanter, M. (2008). *Nigella sativa* and derived thymoquinone provents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. Neurochem Res, 33(4); 579-88.

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

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

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

17. Yuan, G., Wahlqvist, ML., He, G., Yang, M., Li, D. (2006). Natural products and anti-inflammatory activity. Asia Pac J Clin Nutr, 15 (2); 143-152.

18. Mohamadin, A.M., Sheikh, B., EI-AaI, AAA., Abbasi, AAA I-. (2010). Protective effects of *Nigella sativa* oil on propoxur-induced toxicity and oxidative stress in rat brain regions. Pest Bioch Physiol, 1 (98); 128–134.

19. Nair, MP., Mahajan, S., Reynolds, J. L., Aalinkeel, R., Nair, H., Schwartz, S. A. (2006). The flavonoid quercetin inhibits prion flammatory cytokine (Tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via clin. vaccin modulation of the NF- kappa beta system. Immunology. Clin Vaccine Immunol, 13(3); 319-28.

20. Nesic, O., Xu, GY., McAdoo, D., High, KW., Hul Sebosch, C. Perezpolo, R. (2001). IL-1 receptor antagonist prevents apoptosis and caspase-3 activation after spinal cord injury. J Neurotrauma, 18(9); 947-56.

21. Salem, ML. (2005). Immunomodulatory and therapeutic propertiesof the *Nigella sativa* L. seed. Int Immunopharmacol, 5(13); 1749-1770.

22. Samar, H., Ray, H. (2008). Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview. Eur Spine J, 17; 1256–69.

23. Stoll, G. (2004). Find all citations by this author (default). Stys PK, Molecular mechanisms of CNS axonal injury: Lessons from anoxia/ischemia. A S Med, 4(4B); 327-30.

24. Tehranipour, M., Ghadamyari, T. (2010). 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. , 10(1); 48-52.

25. Tehranipour, M., Kabiri, M. (2009). The effect of exogenous testosterone administration on peripheral nerves regeneration after sciatic nerve compression in Rat. J Biol Sci, 9(7); 692-696.