

اثر عصاره الکلی سیاه‌دانه بر هیپوکمپ در موش صحرایی با صرع لب گیجگاهی

نویسندگان: رضا صداقت^۱، مهرداد روغنی^{۲*} و نجمه اخباری^۳

۱. استادیار گروه پاتولوژی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. استاد مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳. دانش‌آموخته دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: mehjour@yahoo.com

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی

چکیده

مقدمه و هدف: تحلیل رفتن نورون در بعضی مناطق هیپوکمپ و جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای در شکنج دنداندار از مشخصات پاتولوژیک صرع لب گیجگاهی است. با توجه به اثرهای حفاظت عصبی و آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه، هدف این بررسی، تعیین اثر پیش‌تیمار با عصاره الکلی آن در جلوگیری از تغییرهای بافتی هیپوکمپ در مدل تجربی صرع القاشده توسط اسید کاینیک در موش صحرایی بوده است.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، ۲۸ موش صحرایی نر به چهار گروه شام، شام پیش‌تیمار شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه، صرعی (کاینات) و صرعی پیش‌تیمار شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه تقسیم شدند. برای صرعی‌کردن، اسید کاینیک به میزان ۰/۸ میکروگرم به داخل هیپوکمپ تزریق شد. عصاره الکلی سیاه‌دانه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل‌صفاقی و روزانه و به مدت یک هفته تا زمان جراحی تجویز شد؛ در پایان کار، دو روش رنگ‌آمیزی نیسل و تیم در خصوص برش‌های بافتی انجام شدند.

نتایج: القای صرع توسط اسید کاینیک با یک رفتار تشنجی بارز، همراه بود و تجویز عصاره، موجب کاهش معنی‌دار شدت حملات تشنجی شد، تراکم نورون‌های نیسل در سه ناحیه CA1، CA3 و CA4 هیپوکمپ در گروه صرعی شده، کاهش معنی‌دار را در مقایسه با گروه شام نشان داد ($p < 0.05$) و پیش‌تیمار با عصاره، موجب افزایش معنی‌دار آن، فقط در ناحیه CA3 شد ($p < 0.05$). از نظر شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای نیز در گروه صرعی شده، افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شام مشاهده شد ($p < 0.05$) و پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاه‌دانه، سبب کاهش معنی‌دار آن شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاه‌دانه، موجب کاهش شدت رفتار تشنجی شده، در جهت حفاظت نورون‌ها در برخی نواحی هیپوکمپ عمل می‌کند و شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: سیاه‌دانه، صرع لب گیجگاهی، تشنج، هیپوکمپ.

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ودوم-شماره ۱۱۴
دی ۱۳۹۳

دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۵
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۳/۰۹/۲۶
پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۰۱

مقدمه

صرع لب گیجگاهی (Temporal lobe epilepsy)، رایج‌ترین شکل (فرم) صرع موضعی در بالغان محسوب می‌شود که به درمان‌های دارویی، به نسبت مقاوم است و به دلیل ایجاد کانون‌های تخلیه مکرر در برخی ساختمان‌های بخش لب گیجگاهی، نظیر هیپوکمپ یا آمیگدال به وجود می‌آید؛ در بیشتر موارد برای کنترل این بیماری به درمان چنددارویی نیاز است. صرع لب گیجگاهی با تغییرهای ساختمانی و متابولیک، همراه بوده، با تحلیل رفتن هیپوکمپ و افزایش جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای در ناحیه شکنج دندانه‌ای، مشخص می‌شود. با آنکه در چند دهه اخیر، درمان‌های دارویی جدید برای کنترل آن و عوارض مرتبط ارائه شده، همچنان، برخی بیماران به داروهای رایج پاسخ‌ن داده‌اند و مصرف درازمدت خود داروها نیز در عمل برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و روند ایجادکننده آن، اثر درمانی بارز ندارند (۳ تا ۳۱). طی چند سال اخیر، مواد مشتق از طبیعت به‌ویژه گیاهان دارویی در درمان حفاظتی بیماری‌های عصبی به‌طور روزافزون استفاده شده‌اند (۴). گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella arvensis* دارای خواص آنتی‌اکسیدانی (ضد رادیکال‌های آزاد اکسیژن)، ضدالتهابی و ضدصرعی است؛ همچنین، اثر آن در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تجزیه پروتئین‌ها در بافت‌های بدن تأیید شده است (۵ تا ۸). هدف بررسی حاضر، تعیین اثر سودمند تجویز عصاره الکلی سیاه‌دانه در جلوگیری از تغییرهای بافتی در ناحیه هیپوکمپ در مدل تجربی صرع القاشده توسط اسید کاینیک در موش صحرایی با استفاده از روش‌های بافت‌شناسی است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره الکلی سیاه‌دانه

برای تهیه عصاره سیاه‌دانه، پس از خریداری سیاه‌دانه تازه از بازار محلی (تهران، ۱۳۹۲) و تأیید علمی و سیستماتیک، ۱۰۰ گرم از پودر دانه در ۱ لیتر متانول

حل شده، به مدت دو روز در دمای آزمایشگاه در تاریکی نگهداری شد؛ پس از چهار تا پنج بار فیلتر کردن به روش مرسوم و استاندارد، تغلیظ شد تا در نهایت، عصاره عسلی (حدود ۲۳ درصد) به دست آمد؛ سپس عصاره حاصل به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شده، رقت‌های مورد نیاز عصاره در نرمال سالیین تهیه شد.

روش اجرا

در این مطالعه از ۲۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۹۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ یا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات، آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به مدت شش هفته دسترسی داشتند؛ در ضمن، بررسی براساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری انجام شد.

موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه «شم (جراحی کاذب)، شم دریافت‌کننده عصاره الکلی سیاه‌دانه، صرعی (کاینات) و صرعی دریافت‌کننده عصاره الکلی سیاه‌دانه (کاینات + عصاره الکلی سیاه‌دانه)» تقسیم شدند. برای صرعی کردن حیوانات، به‌ازای هر موش، از اسید کاینیک (سیگما، آمریکا) به میزان ۰/۸ mg حل شده در محلول نرمال سالیین تزریق شده به داخل ناحیه CA3 هیپوکمپ سمت راست با مختصات قدامی خلفی: ۴/۱ میلی‌متر، جانبی: ۴/۱ میلی‌متر و ونترال: ۴/۲-۴ میلی‌متر زیر سطح جمجمه با استفاده از سرنگ هامیلتون (حجم تزریقی برابر با ۵ میکرولیتر) و به روش استریوتاکسی و بیهوشی با کلرال هیدرات (۳۰۰ تا ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد؛ گروه شم، فقط محلول سالیین را با همان حجم دریافت کرد. عصاره الکلی سیاه‌دانه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (حل شده در نرمال سالیین) به‌طور روزانه و به‌صورت داخل‌صفافی از یک هفته پیش از جراحی تا ۱ ساعت قبل از جراحی تزریق شد.

رنگ آمیزی نیسل

مراحل رنگ آمیزی، شامل آبدهی، قراردادن نمونه‌ها در رنگ کرزیل ویوله (سیگما) ۰/۱ درصد به مدت ۵-۳ دقیقه، آبگیری و شفاف‌سازی بودند؛ پس از طی این مراحل، لامل‌گذاری با استفاده از چسب اتلان (مرک، آلمان) انجام شد.

رنگ آمیزی تیم

مراحل رنگ آمیزی، شامل «آبدهی، قراردادن نمونه‌ها در محلول کاری تیم حاوی صمغ عربی ۵۰ درصد (۱۸۰ میلی‌لیتر)، ۳۰ میلی‌لیتر بافر سدیم سترات ۲ مولار، ۹۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکینون ۵/۶ درصد و محلول نترات نقره ۰/۱۷ درصد، شستشو و آبگیری، شفاف‌سازی و لامل‌گذاری» بودند.

شمارش نرونی

برای شمارش نرونی، برش‌های ناحیه هیپوکمپ در محدوده ۴/۴mm تا ۶/۲ mm اینتراورال اطلس پاکسینوز و واتسون، مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد نرونها واقع در بخش‌های CA1، CA3، و نافی هیپوکمپ در واحد سطح در بزرگ‌نمایی ۴۰۰X شمارش شدند. درخصوص هر حیوان، شمارش برای دست کم، چهار برش (که از هم دست کم ۵۰ میکرومتر فاصله داشتند) انجام شد و نرونها نیسل با محدوده سیتوپلاسمی واضح شمارش شدند.

اندیس تیم

برای محاسبه این اندیس، مساحت ناحیه دنداندار حاوی گرانول‌های تیم، اندازه‌گیری و بر طول این ناحیه تقسیم شد و پاسخ حاصل بدون بیان واحد به صورت مطلق گزارش شد؛ درخصوص هر حیوان نیز، شمارش برای دست کم، دو برش انجام گرفت.

در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی، موش‌ها از نظر رفتار تشنجی براساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه‌بندی از ۰ تا ۵) در یک فاصله زمانی ۴ساعته با استفاده از دوربین ثبت رفتار و انتقال داده‌ها به رایانه ارزیابی شدند؛ در این خصوص، نمره ۰ (صفر) برای عدم مشاهده پاسخ، نمره ۱ برای ماتینگ، چشم‌زدن یا کلونوس صورت در حد خفیف، نمره ۲ برای تکان دادن سر یا کلونوس‌های متعدد در ناحیه سر، نمره ۳ برای پرش‌های میکولونیک در اندام‌های حرکتی جلو، نمره ۴ برای تشنج‌های کلونیک در اندام حرکتی جلویی و بلندشدن روی دو پا و نمره ۵ برای تشنج‌های کلونیک و سراسری در بدن و ازدست‌رفتن تعادل در نظر گرفته شد.

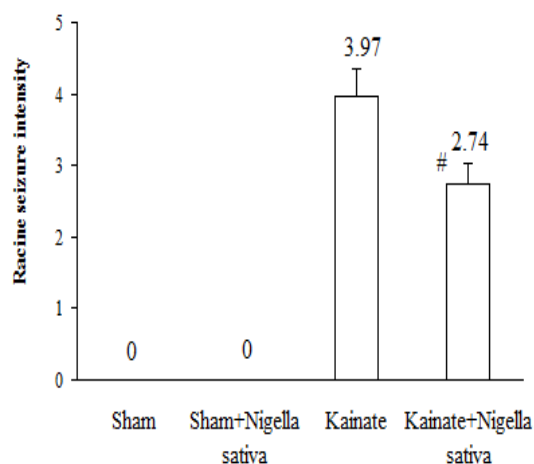
در ادامه، موش‌ها با کتامین به‌طور عمیق بیهوش شده، شریان آئورت نزولی بسته شد تا محلول فیکساتیو، فقط در قسمت‌های بالایی بدن موش جریان یابد؛ ۲ واحد هپارین ۱ درصد به بطن چپ موش‌ها نیز تزریق شد. کانول ست پرفیوژن به بطن چپ وارد شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر نرمال سالین و پس از آن، ۵۰ میلی‌لیتر محلول سولفید سدیم ۱/۲ درصد (مرک، آلمان) و فسفات سدیم‌دی‌بازیک ۱ درصد (مرک، آلمان) و در ادامه ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول پارافرمالدئید ۴ درصد (مرک، آلمان) در بافر فسفات ۰/۱ مولار عبور داده شد. با خارج کردن مغز از مجسمه، به مدت دو تا سه روز در محلول فیکساتیو قراردادده شد. برشگیری به وسیله دستگاه میکروتوم فریزینگ (لایکا، آلمان) انجام شد. نمونه‌ها به مدت دو روز در محلول سوکروز ۳۰ درصد (مرک، آلمان) قرار گرفتند تا از آسیب بافتی ناشی از سرما جلوگیری به عمل آید. با جدا کردن بلوک مغز حاوی هیپوکمپ از سایر قسمت‌های مغز، برش‌ها با ضخامت ۲۰ میکرون تهیه و روی لام‌های ژلاتینه منتقل شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان شدند. پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها، از آزمون آنوای یک طرفه و تست تعقیبی توکی برای آنالیز داده‌های بافتی و از آزمون t test غیرمزدوج برای داده‌های رفتاری استفاده شد. در تمام بررسی‌ها $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

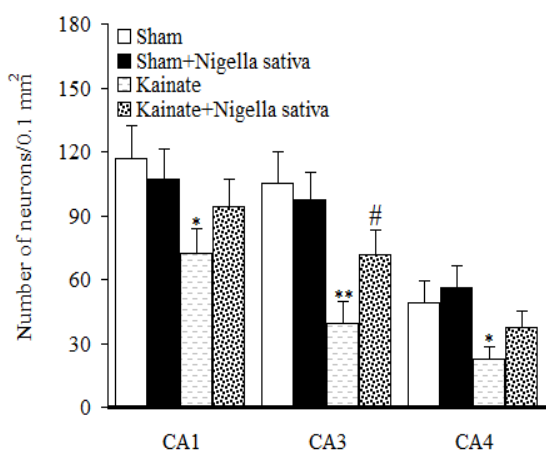
نتایج

نمودار ۱، نتایج مربوط به کمیت رفتار تشنجی حیوان را بر اساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه‌بندی از ۰ تا ۵) در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد؛ در این خصوص در گروه‌های شم و شم پیش‌تیمارشده با عصاره الکلی سیاه‌دانه، هیچ‌گونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک، یک رفتار تشنجی بارز مشاهده شد و پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاه‌دانه در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، باعث کاهش معنی‌دار رفتار تشنجی شد ($p < 0/05$).



نمودار ۱. شدت رفتار تشنجی بر اساس تقسیم‌بندی راسین در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی پیش‌تیمارشده با عصاره الکلی سیاه‌دانه در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی ($P < 0/05$) (در مقایسه با گروه کاینات)

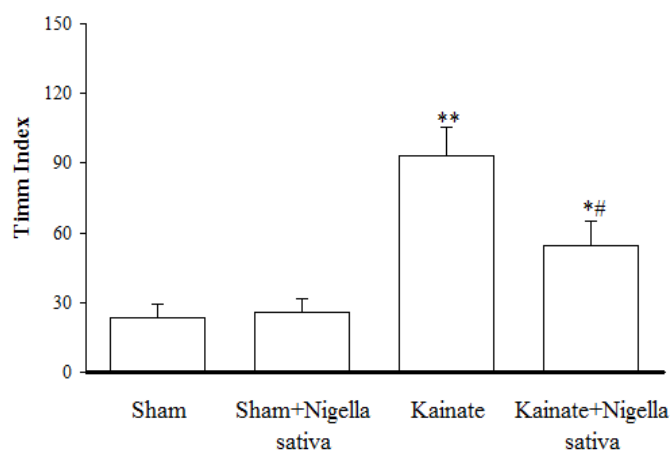
در بررسی هیستوپاتولوژیک با روش رنگ‌آمیزی نیسل و استفاده از رنگ کرزیل ویوله، در گروه شم، در هر سه ناحیه CA1، CA3، و CA4 هیپوکمپ، نورون‌های هرمی با سیتوپلاسم واضح قابل مشاهده بودند؛ در گروه شم پیش‌تیمارشده با عصاره الکلی سیاه‌دانه، تغییری خاص از این نظر مشاهده نشد؛ در گروه صرعی شده با اسید کاینیک اندازه نورون‌ها کوچک‌تر و محدوده سیتوپلاسمی سلول نیز در بیشتر موارد، خوب مشخص نبود و در گروه صرعی و پیش‌تیمارشده با عصاره الکلی سیاه‌دانه، به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، وضعیتی بهتر از این نظر وجود داشت (شکل ۱)؛ از نظر تراکم سلولی نیز، پیش‌تیمار گروه شم با عصاره الکلی سیاه‌دانه، تغییر معنی‌دار، در هیچ‌یک از نواحی در مقایسه با گرم شم ایجاد نکرد؛ در گروه صرعی شده با اسید کاینیک، یک کاهش بارز و معنی‌دار تراکم نورونی در هر سه ناحیه مشاهده شد ($p < 0/05-0/01$) و پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاه‌دانه، موجب بیشتر بودن تراکم نورونی در ناحیه CA3 در مقایسه با گروه کاینات شد ($p < 0/05$) (نمودار ۲).



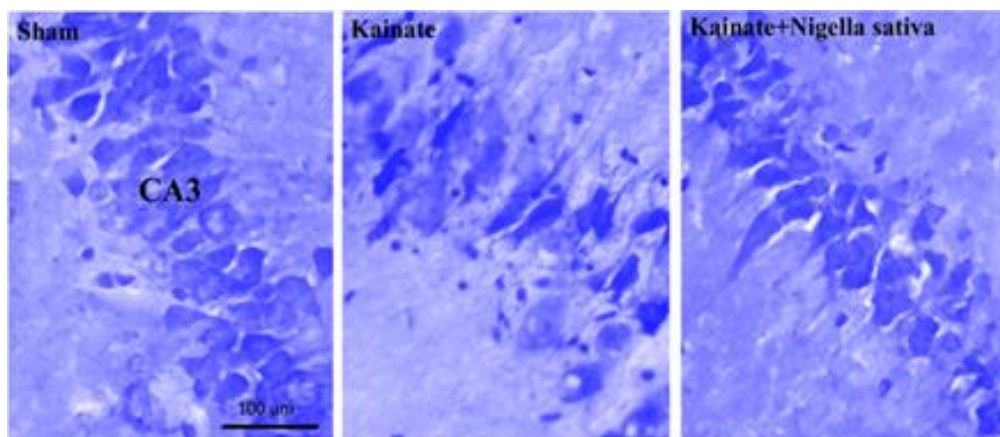
نمودار ۲. تراکم نورون‌های نیسل در نواحی مختلف هیپوکمپ در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی تیمارشده با عصاره الکلی سیاه‌دانه در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم
 $p < 0/05$ *, $p < 0/01$ ** (در مقایسه با گروه شم)
 $p < 0/05$ # (در مقایسه با گروه کاینات)

اندیس در مقایسه با گروه شم دیده شد ($p < 0/005$) و پیش تیمار موش‌های صرعی شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب کاهش معنی‌دار این مؤلفه شد ($p < 0/005$) که نشان‌دهنده جوانه‌زدن کمتر در این گروه بود.

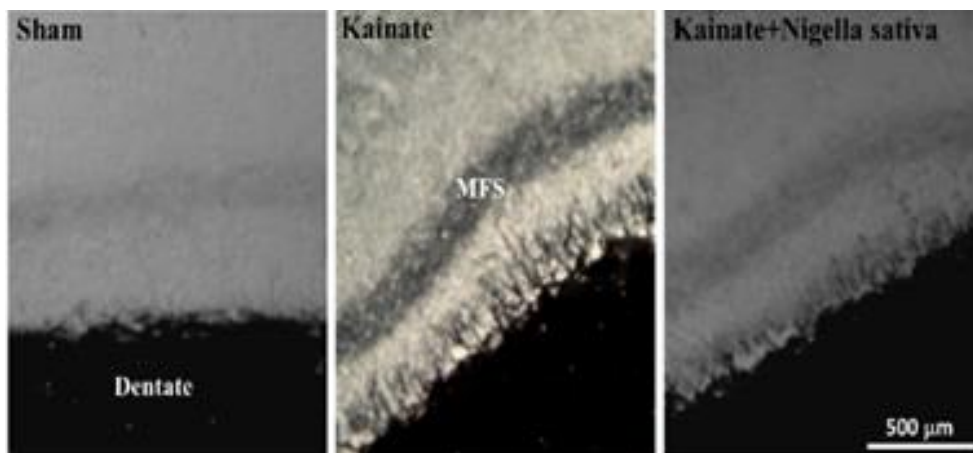
برای بررسی شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای در ناحیه دندان‌دار هیپوکمپ، از روش رنگ‌آمیزی تیم با نیترات نقره استفاده شد و در این خصوص، اندیس تیم محاسبه شد (نمودار ۳). در گروه شم پیش تیمار شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه از نظر این اندیس، تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه شم مشاهده نشد؛ در گروه صرعی شده با اسید کاینیک، افزایش بارز و معنی‌دار این



نمودار ۳. اندیس تیم در ناحیه دنتیت هیپوکمپ در موش‌های صحرایی کنترل و صرعی پیش تیمار شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم
 * $p < 0/005$, ** $p < 0/005$ (در مقایسه با گروه شم) # $p < 0/005$ (در مقایسه با گروه کاینات)



شکل ۱. عکس میکروسکوپ نوری از ناحیه هیپوکمپ گروه‌های مختلف رنگ‌آمیزی شده با کریزیل و یوله از ناحیه CA3 هیپوکمپ (خط مقیاس = 100 μm)



شکل ۲. عکس میکروسکوپ نوری از ناحیه دنداندار هیپوکمپ گروه‌های مختلف رنگ‌آمیزی‌شده با روش تیم بار = ۵۰۰μm

بحث

معتبر و تکرارپذیر محسوب می‌شود. در صورت تجویز اسید کاینیک به صورت داخل صفاقی، آپوتوز در CA1 و CA3 نورون‌های نافی دنداندار از ۲۴ ساعت تا چهار هفته پس از تجویز کاینیک اسید مشاهده می‌شود (۱)؛ در بررسی ما نیز در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی، رفتار تشنجی به وضوح در موش‌ها مشاهده شد که این مورد با بررسی‌های پیشین مطابقت داشت. در مدل‌های حیوانی صرع القاشده توسط تزریق داخل هیپوکمپی (ناحیه CA1 یا CA3)، اسید کاینیک یا سایر مواد با خاصیت سمیت تحریکی، به دنبال تخریب سلول‌های عصبی هر می CA3 و سلول‌های نافی شکنج دنداندار (که دارای تراکم بالا از گیرنده‌های گلوتامات هستند)، فیبرهای خزه‌ای (فیبرهای آوران گلوتاماترژیک از ناحیه شکنج دنداندار) جوانه می‌زنند و سیناپس‌های جدید در لایه مولکولی ناحیه دنداندار هیپوکمپ تشکیل می‌شوند. تشکیل سیناپس‌ها موجب تشدید فعالیت مسیره‌ای گلوتاماترژیک در آن ناحیه از هیپوکمپ می‌شود و به صورت درجات مختلف از حملات صرع با توجه به شدت آسیب بروزی کند (۱ و ۲) که این اتفاق در رنگ‌آمیزی تیم در گروه صرعی شده با اسید کاینیک

در این تحقیق، مشخص شد که تزریق داخل هیپوکمپی اسید کاینیک به منظور ایجاد صرع لب گیجگاهی، با یک رفتار تشنجی بارز، همراه است و پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاهدانه، موجب کاهش معنی‌دار در شدت حملات تشنجی می‌شود. کاهش معنی‌دار در تراکم نورون‌ها در نواحی CA1، CA3 و CA4 هیپوکمپ در گروه صرعی شده در مقایسه با گروه شم یافت شد که در مقابل پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاهدانه، موجب جلوگیری از کاهش نورونی در حد معنی‌دار در ناحیه CA3 شد؛ از نظر شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای نیز در گروه صرعی شده، افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه شم مشاهده شد و پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاهدانه، سبب کاهش معنی‌دار آن در مقایسه با گروه صرعی شد؛ همچنین، پیش‌تیمار گروه شم با عصاره الکلی سیاهدانه، تغییری معنی‌دار از نظر تعداد نورون و شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای در ناحیه هیپوکمپ در مقایسه با گروه شم به وجود نیاورد. در این بررسی برای ایجاد مدل تجربی صرع لب گیجگاهی از تزریق داخل هیپوکمپی اسید کاینیک (کاینات) استفاده شد که بر اساس منابع موجود، مدلی

مقاومت نورون‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو شوند و از طرفی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند (۱۴)؛ همین سازوکار به احتمال می‌تواند در خصوص آثار حفاظتی عصاره الکلی سیاه‌دانه در مدل صرع القاشده توسط اسید کاینیک در این تحقیق نیز، مطرح باشد.

به‌طور خلاصه، پیش‌تیمار با عصاره الکلی سیاه‌دانه، موجب کاهش شدت رفتار تشنجی شده، در جهت حفاظت نورون‌ها در هیپوکمپ عمل می‌کند و شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای را کاهش می‌دهد.

سپاس و قدردانی

پژوهش حاضر، حاصل پایان‌نامه دانشجوی پزشکی، خانم نجمه اخباری، مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۱ بوده، با حمایت مالی این دانشگاه به‌انجام رسیده‌است که محقق، مراتب تشکر خود را از حمایت مالی دانشگاه اعلام می‌کند

منابع

1. Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Epilepsy. *Progress in Neurobiology* 2004; 73:1-60.
2. Aylward RL. Epilepsy: a review of reports, guidelines, recommendations and models for the provision of care for patients with epilepsy. *Clinical Medicine* 2008; 8: 433-8.
3. Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist* 2010; 16: 253-75.
4. Sayyah M, Yousefi-Pour M, Narenjkar J. Anti-epileptogenic effect of beta-carotene and vitamin A in pentylenetetrazole-kindling model of epilepsy in mice. *Epilepsy Research* 2005; 63(1):11-6.
5. Le PM, Benhaddou-Andaloussi A, Elimadi A, Settaf A, Cherrah Y, Haddad PS. The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 94: 251-9.
6. Butt MS, Sultan MT. *Nigella sativa*: reduces the risk of various maladies. *Critical Reviews*

بررسی ما مشاهده شد و رفتارهای تشنجی در موش‌های صرعی شده، بدین ترتیب توجیه می‌شوند. در بررسی حاضر، پیش‌تیمار موش‌های صرعی شده با عصاره الکلی سیاه‌دانه، موجب کاهش شدت تشنج شد و به جلوگیری از کاهش نورونی هیپوکمپ انجامید. در مطالعه حسین‌زاده و همکاران (۹)، آخوندیان (۱۰)، رازا (۱۱) و عز (۱۲) نیز، کاهش شدت تشنج در موش‌های صرعی تیمار شده با سیاه‌دانه یا ماده مؤثر آن، تیموکینون، مشخص شد. در مطالعه کاتر در سال ۲۰۰۸، اثرهای معنی‌دار سیاه‌دانه در کاهش تخریب نورونی در نمونه بافت‌شناسی کورتکس فرونتال، ساقه مغز و هیپوکمپ پس از آسیب ناشی از تولوئن، مشخص شد (۱۳). مطالعاتی بسیار، روی آثار آنتی‌اکسیدانی و نقش حفاظت‌کننده عصبی سیاه‌دانه انجام شده‌است. در مطالعه صداقت و همکاران در سال ۲۰۱۴، تیموکینون، باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در مغز میانی و همچنین حفاظت نورونی در موش‌های پارکینسونی شد (۱۴). مطالعات نشان می‌دهند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش

in *Food Science and Nutrition* 2010; 50: 654-65.

7. Farah N, Benghuzzi H, Tucci M, Cason Z. The effects of isolated antioxidants from black seed on the cellular metabolism of A549 cells. *Biomedical Sciences Instrumentation* 2005; 41: 211-6.
8. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research* 2003; 17(4): 299-305.
9. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 2004; 11(1):56-64.
10. Akhondian J, Parsa A, Rakhshande H. The effect of *Nigella sativa* L. (black cumin seed) on intractable pediatric seizures. *Medical Science Monitor* 2007; 13(12): 555-9.
11. Raza M, Alghasham AA, Alorainy MS, El-Hadiyah TM. Potentiation of valproate-induced anticonvulsant response by *nigella sativa* seed constituents: The role of GABA receptors. *International Journal of Health Sciences (Qassim)*. 2008; 2(1):15-25.

12. Ezz HS, Khadrawy YA, Noor NA. The neuroprotective effect of curcumin and *Nigella sativa* oil against oxidative stress in the pilocarpine model of epilepsy: a comparison with valproate. *Neurochemical Research* 2011; 36(11):2195-204.
13. Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochemical Research* 2008; 33(3):579-88.
14. Sedaghat R, Roghani M, Khalili M. Neuroprotective effect of thymoquinone, the *Nigella sativa* bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemi-parkinsonian rat model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2014; 13(1):227-34.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
22nd Year, No.114
December 2014,
January 2015*

Received: 16/11/2014

Last revised: 17/12/2014

Accepted: 22/12/2014

The effect of *Nigella sativa* alcoholic extract on hippocampus in rats with temporal lobe epilepsy

Reza Sedaghat¹, Mehrdad Roghani^{2*}, Najme Akhbari³

1. Dept. Pathology and Anatomy, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Medical Graduate - School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

*E-mail: mehjour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Pathologically, temporal lobe epilepsy is hallmarked with neuronal degeneration in some areas of hippocampus and mossy fiber sprouting in dentate area. Considering some evidences on neuroprotective and antioxidant activity *Nigella sativa* (NS), this study was undertaken to evaluate the preventive effect of NS on structural changes in hippocampus of kainate-epileptic rats.

Materials and Methods: In this study, 28 male rats were divided into sham, NS-treated sham, epileptic, and NS-treated epileptic group. Rat model of epilepsy was induced intrahippocampal administration of 0.8 µg kainic acid per rat. Rats treated by intraperitoneal administration of alcoholic extract of NS daily for 1 week before surgery. Finally, brain sections were stained with Nissl and Timm methods.

Results: Induction of epilepsy by kainic acid was followed by a significant seizure and NS pretreatment significantly attenuated seizure intensity. Density of Nissl-stained neurons in CA1, CA3, and CA4 of hippocampus was significantly lower in epileptic rats versus sham ($P < 0.05-0.01$) and NS extract pretreatment significantly increased it only in CA3 zone ($p < 0.05$). Regarding mossy fiber sprouting, epileptic rats showed a higher degree of sprouting as compared to sham group ($p < 0.005$) and NS pretreatment significantly lowered it ($p < 0.05$).

Conclusion: Pretreatment with alcoholic extract of *Nigella sativa* reduces seizure intensity and could preserve neurons in some area of hippocampus and could lower mossy fiber sprouting.

Key words: *Nigella sativa*, Temporal lobe Epilepsy, Seizure, Hippocampus