مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v16i4.2787

مقاله پژوهشی

اثرات حفاظت عصبی روغن سیاهدانه (nigella sativa L.) بر مرگ سلولی القا شده توسط نیکوتین

محسن ژاله[۱]، صدراله صیدی[۲]، شهاب خوشخوی[۲]، حسین ژاله[۳*]

۱- گروه علوم تشریح و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.
۲- گروه گیاهان دارویی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی جهاد دانشگاهی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.
۳- مرکز تحقیقات پیشگیری سوءمصرف مواد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۳، **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۹/۲۳

چکیده

مقدمه: *غلظت‌های بالای نیکوتین موجب القا مرگ سلولی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که می‌تواند بر سلامت افراد در معرض نیکوتین تأثیرگذار باشد. سیاهدانه دارای اثرات حفاظت سلولی بالایی است اما قدرت محافظتی آن در برابر مرگ سلول‌های عصبی هنوز مطالعه نشده است. از اینرو، در این مطالعه ما اثرات محافظتی روغن سیاهدانه را در سلول‌های PC12 تیمار شده با نیکوتین بررسی کردیم.*

مواد و روش‌ها: *بقای سلولی با استفاده از کیت اندازه‌گیری LDH اندازه‌گیری شد. آزمون TUNEL برای نشان دادن قطعه قطعه شدن DNA و آپوپتوز استفاده شد. تولید NO از طریق واکنش گریس محاسبه واز کیت سنجش سیتوکین التهابی موش صحرایی برای اندازه‌گیری غلظت سیتوکین‌های التهابی استفاده شد.*

نتایج: *نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نیکوتین موجب کاهش زنده ماندن سلولی و افزایش سمیت سلولی سلولی، تولید NO، غلظت سیتوکین‌های التهابیو تکه‌تکه شدن DNA شد. روغن سیاهدانه منجر به افزایش زنده ماندن سلولی و کاهش سمیت سلولی، تولید NO، غلظت سیتوکین‌های التهابی و تکه‌تکه شدن DNA در سلول‌های PC12 تیمار شده با نیکوتین با غلظت بالا شد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج مطالعه ما نشان داد که روغن سیاهدانه مرگ سلولی ناشی از نیکوتین را در سلول‌های شبه نورون PC12 از طریق مهار تولید NO و سنتز سیتوکین‌های التهابی غیرفعال و سرکوب می‌کند.*

واژه‌های کلیدی: روغن سیاهدانه، نیکوتین، مرگ سلولی، آپوپتوز، سمیت سلولی.

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات پیشگیری سوءمصرف مواد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، **تلفن:**۰۸۳۳۸۲۶۴۵۱۳، **Email:** hossain_jale@yahoo.com

ارجاع: ژاله محسن، صیدی صدراله، خوشخوی شهاب، ژاله حسین. اثرات حفاظت عصبی روغن سیاهدانه (nigella sativa L.) بر مرگ سلولی القا شده توسط نیکوتین. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۰؛۱۶(۴):۵۰-۴۳.

مقدمه

نیکوتین به‌عنوان یکی از اجزای اصلی تنباکو، یک آلکالوئید اعتیادآور است که عروقی قلبی و مغزی را درگیر و مورفولوژی و شیمی سلول‌های مغز را تغییر می‌دهد (۳-۱). نیکوتین با اثر بر گیرنده‌های استیل کولین، بر سیستم عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد (۴). اثرات سیتوتوکسیک نیکوتین به‌دلیل افزایش کلسیم داخل سلولی است که منجر به شروع مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوزیس در سلول‌های عصبی می‌شود. این دارو تکه تکه شدن DNA را تحریک، پروتئین P53 را به‌عنوان سرکوبگر تومور فعال و موجب القای آپوپتوزیس در سلول‌های پیش ساز هیپوکامپ می‌شود (۴ و ۵). قرار گرفتن طولانی مدت در معرض نیکوتین ممکن است منجر به افزایش CYP2E در سلول‌های مغز شود که عامل مهمی در تولید استرس اکسیداتیو و تولید ROS است. مطالعات قبلی روی جوندگان نشان داد که درمان با نیکوتین موجب اختلال در ماده سفید مغز و تأثیر بر ساختار و عملکرد مخچه می‌شود (۶ و ۷).

سیاهدانه با نام علمی Nigella Sativa به‌عنوان گونه‌ای از خانواده Ranunculaceae، گیاهی با پتانسیل درمانی است که در درمان برخی از اختلالات مانند فشار خون بالا، اختلالات گوارشی، آسم و اختلالات پوستی در خاورمیانه کاربرد دارد (۸). مطالعات قبلی نشان داده است که دانه سیاهدانه حاوی سطح بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع است C20:2 و مهمترین جزء آن تیموکینون است (۹ و ۱۰). تیموکینون به‌دلیل اختلال در تنظیم فعالیت سیکلواکسیژناز و ۵-لیپوکسیژناز در مسیر متابولیسم آراشیدونیک، تولید ایکوزانوئید را در لکوسیت‌های دوران بارداری مهار می‌کند (۱۱). دانه سیاهدانه به‌طور قابل توجهی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند. به نظر می‌رسد پراکسیداسیون لیپیدی منجر به از هم گسیختگی بافت در مراحل التهاب می‌شود. در یک مطالعه نشان داده شده است که سیاهدانه تولید فاکتورهای التهابی LTB4 و TBX2 را به‌صورت وابسته به دوز مهار می‌کند (۱۲). مطالعات دیگر در مورد خواص ضدالتهابی سیاهدانه نشان داده است که این گیاه التهاب و درد را در موش‌های صحرایی نژاد ویستار و در موش‌های آلبینو موجب کاهش التهاب توسط عامل carrageenan sodium می‌شود (۱۳).

موتاباگانی و همکاران نشان دادند که سیاهدانه دارای خواص ضدالتهابی در موش صحرایی است (۱۴). اثرات ضدالتهابی سیاهدانه با خواص ضدالتهابی تیموکینون و سایر مشتقات این گیاه مانند نیگلون که مانع از آزاد شدن هیستامین از ماست سل‌ها می‌شود، مرتبط است (۱۵ و ۱۶). مطالعات مختلفی بر روی سیاهدانه انجام شده است اما اثر روغن آن بر مرگ سلولی سلول‌های PC12 ناشی از نیکوتین مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این مطالعه، ما سعی کردیم اثرات روغن سیاهدانه را بر شاخص‌هایی مانند سمیت سلولی، زنده بودن و شاخص مرگ سلولی در مرگ سلولی PC12 ناشی از نیکوتین بررسی کنیم.

به نظر می‌رسد روغن سیاهدانه به‌دلیل خواص ضدالتهابی می‌تواند مرگ سلولی ناشی از نیکوتین را سرکوب کند. کاهش عوامل التهابی منجر به کاهش آغازگرهای آپوپتوزیس شده و این امر می‌تواند مرگ سلولی را کاهش دهد.

مواد و روش‌ها

پس از خشک کردن و آبگیری دانه سیاهدانه، ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال اتیل استات، اتانول و هگزان به ۲۵ گرم پودر دانه اضافه شد و تا زمانی که محلول شفاف و بی‌رنگ شود، این عمل تکرار می‌شود. در ادامه محلول توسط کاغذ فیلتر واتمن شماره ۱ تصفیه شد. سپس با استفاده از روتاری اواپراتور چرخشی (BUCHI, R-200, Switzerland) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، محلول خشک و حلال باقی‌مانده خارج شد. روغن در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد (۱۷).

سلول‌های PC12 (ATCC® CRL-1721TM) با استفاده از محیط کشت سلولی RPMI1640 (Gibco) کشت داده شدند. در این مطالعه، ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)، (Gibco)، 100IU/ml پنی‌سیلین (Sigma) و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین (Sigma) در فلاسک‌های کشت بافت T-25 cm2 به‌عنوان مکمل کشت سلولی استفاده شد. آزمایشات در شرایط استاندارد (۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2) انجام شد.

ابتدا روغن سیاهدانه در DMSO (دی متیل سولفوکساید) (Sigma) حل و سپس با حجم نهایی ۰/۱ درصد به محیط کشت سلولی آبی RPMI1640 اضافه شد. پس از ۱۲ ساعت، سلول‌ها با استفاده از PBS (۳۷ درجه سانتی‌گراد) شستشو شدند. سپس سلول‌ها در ۵ تیمار و آزمایشات مختلف روی سلول‌ها در مدت زمان ۴۸ ساعت انجام گرفت.

گروه‌های تیماری در این مطالعه به‌صورت ذیل تهیه شدند:

گروه کنترل: شامل محیط کشت سلولی پایه فاقد نیکوتین و روغن، گروه نیکوتین: شامل محیط کشت سلولی حاوی دوز ۱۰۰mM نیکوتین، تیمار ۱: محیط کشت سلولی همراه با دوز ۱۰۰mM نیکوتین در حضور غلظت ۲۰ میکروگرم از روغن سیاهدانه، تیمار ۲: محیط کشت سلولی همراه با دوز ۱۰۰mM نیکوتین در حضور غلظت ۴۰ میکروگرم از روغن سیاهدانه، تیمار ۳: محیط کشت سلولی همراه با دوز ۱۰۰mM نیکوتین در حضور غلظت ۸۰ میکروگرم از روغن سیاهدانه، تیمار ۴: محیط کشت سلولی همراه با دوز ۱۰۰mM نیکوتین در حضور غلظت ۱۶۰ میکروگرم از روغن سیاهدانه، تیمار ۵: محیط

کشت سلولی همراه با دوز mM۱۰۰ نیکوتین در حضور غلظت ۳۰۰ میکروگرم از روغن سیاهدانه.

در این مطالعه از کیت سمیت سلولی LDH برای تشخیص فعالیت لاکتات دهیدروژناز استفاده شد که نشان‌دهنده آسیب سلولی است. ۱۲ ساعت پس از قرار دادن سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ چاهک با تراکم ۱×۱۰۴ سلول در میلی‌لیتر، سلول‌ها در محیط‌های مختلف تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت سمیت سلولی بر اساس پروتکل شرکت اندازه‌گیری شد (۱۸).

اندازه‌گیری مرگ سلولی

پس از تثبیت سلول‌هایPC12، بر اساس پروتکل کارخانه از کیت تشخیص مرگ سلولی برای رنگ‌آمیزی TUNEL استفاده شد. سپس از میکروسکوپ فلورسنت Olympus AX-70 برای شمارش سلول‌های TUNEL مثبت در ده چاهک تصادفی استفاده شد. شاخص مرگ سلولی با تقسیم سلول‌های آپوپتوز به سلول‌های کل تعیین شد (۱۹).

اندازه‌گیری میزان NO

میزان تولید NO در سلول‌ها با استفاده از واکنش گریس اندازه‌گیری شد (۲۰).

اندازه‌گیری میزان سیتوکین‌های التهابی

غلظت سیتوکین‌های پیش‌التهابی IL-1β، IL-6، INFγ و TNFα با استفاده از Rat V-Plex Kit اندازه‌گیری شد.

به‌منظور تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست‌آمده، از آزمون‌های ANOVA و T-test با استفاده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. در تمامی موارد، P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار مدنظر قرار گرفت.

نتایج

نتایج نشان داد که در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نیکوتین، میزان بقای سلول‌ها صفر است و در گروه کنترل میزان بقای نزدیک صد درصد می‌باشد. وقتی به سلول‌های PC12 (پیش تیمارشده با دوز آپوپتوزی ۱۰۰ میلی‌مولار نیکوتین) و دوزهای مختلف روغن سیاهدانه اضافه شد، میزان بقای سلول‌ها افزایش یافت. بعد از مدت ۲۴ از تیمار سلول‌ها، میزان بقا به‌ترتیب برای گروه کنترل (۱۰۰٪) بود و برای تیمارهای ۱ تا ۵ به ترتیب معادل ۵۴، ۶۹، ۷۶، ۸۷ و ۶۱ درصد بود. با افزایش غلظت روغن سیاهدانه از تیمار ۱ تا ۵ میزان بقا افزایش‌یافته و در تیمار ۴ یعنی غلظت ۱۶۰ µg روغن سیاهدانه به بیشترین مقدار (۸۷ درصد) رسید که تجزیه و تحلیل آماری نتایج، تفاوت معناداری را بین تیمارهای ۱ تا ۵ با گروه کنترل و گروه نیکوتین (۰ درصد) نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای ۱ تا ۴ نیز تفاوت معنادار داشتند (P<۰/۰۵) (شکل ۱).

میزان آپوپتوز در سلول‌های PC-12

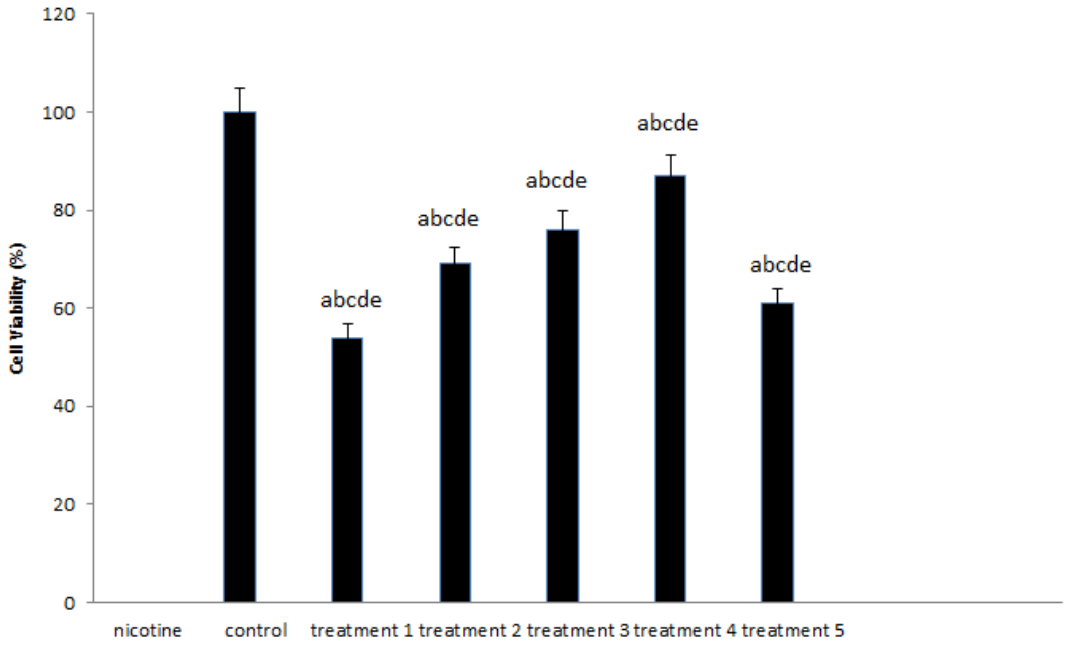
تصاویر گرفته شده از سلول‌ها پس از انجام آزمون TUNEL، که مشخص‌کننده قطعه قطعه شدن DNA و در نتیجه ایجاد آپوپتوز در آنها است، افزایش شدیدی را در تعداد سلول‌های آپوپتوتیک هم در مرحله شروع، هم ادامه و هم پایان آپوپتوز در گروه کنترل مثبت (نیکوتین) (۱۰۰٪) در مقایسه با گروه کنترل و سایر تیمارها نشان داد (شکل ۲).

تجزیه وتحلیل آماری این تصاویر در زمینه‌های میکروسکوپی متعدد (حداقل ۱۰۰ زمینه میکروسکوپی برای هر گروه) نشان می‌دهد که اعمال روغن سیاهدانه در تمامی تیمارها نسبت به گروه کنترل مثبت باعث کاهش شدیداً معنی‌دار شاخص آپوپتوزی در سلول‌های گروه کنترل (۱٪) می‌شود (P<۰/۰۵). بعد از مدت ۲۴ از تیمار سلول‌ها، میزان آپوپتوز در سلول‌ها به‌ترتیب برای گروه کنترل بود و برای تیمارهای ۱ تا ۵ به‌ترتیب معادل ۵۳، ۳۲، ۲۴، ۱۴ و ۲۷ درصد بود. تیمارهای ۱ تا ۵ روغن سیاهدانه نسبت به هم در ۲۴ ساعت و نسبت به گروه نیکوتین و کنترل تفاوت معنادار دارند (P<۰/۰۵).

غلظت نیتریک اکسید سلول‌های تیمارشده

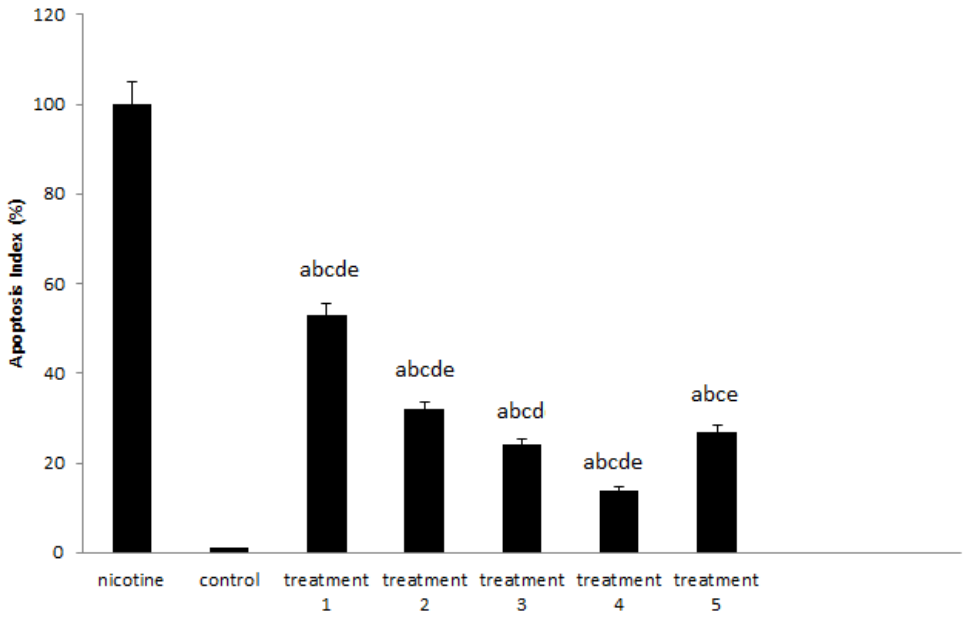
غلظت NO در سلول‌های PC12 تیمارشده با روغن سیاهدانه با استفاده از روش گریس اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که روغن سیاهدانه با افزایش غلظت نیتریک اکسید بر کاهش سمیت سلولی و افزایش بقا تأثیر می‌گذارند. بعد از مدت ۲۴ از تیمار سلول‌ها، میزان غلظت NO تولید شده در سلول‌ها بر اساس واحد میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب برای گروه کنترل (۱۳) بود و برای تیمارهای ۱ تا ۵ به‌ترتیب معادل ۱۳۹، ۱۴۸، ۱۸۶، ۲۰۴ و ۱۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

نتایج نشان داد که در تیمار سلول‌ها با روغن سیاهدانه (شکل ۳) میزان نیتریک اکسید در تیمار ۱ تا ۵، نسبت‌به گروه نیکوتین بیشتر می‌شود. همچنین بیشترین میزان غلظت نیتریک اکسید در تیمار ۴ روغن سیاهدانه است که همان‌طور در نتایج گفته شد، بیشتری میزان تکثیر سلولی، بقای سلول و کمترین میزان سمیت، آپوپتوز در تیمار ۴ روغن سیاهدانه بود (P<۰/۰۵). به‌طورکلی می‌توان گفت که یکی از مسیرهای پیشنهادی اثرات روغن سیاهدانه از مسیر نیتریک اکسید می‌باشد که بر مرگ سلولی، سمیت، تکثیر و بقای سلولی تأثیر می‌گذارد. نتایج نشان داد که تیمارهای ۱ تا ۵ از نظر معناداری باهم و با گروه کنترل مثبت و منفی دارای افزایش معناداری بودند (P<۰/۰۵).



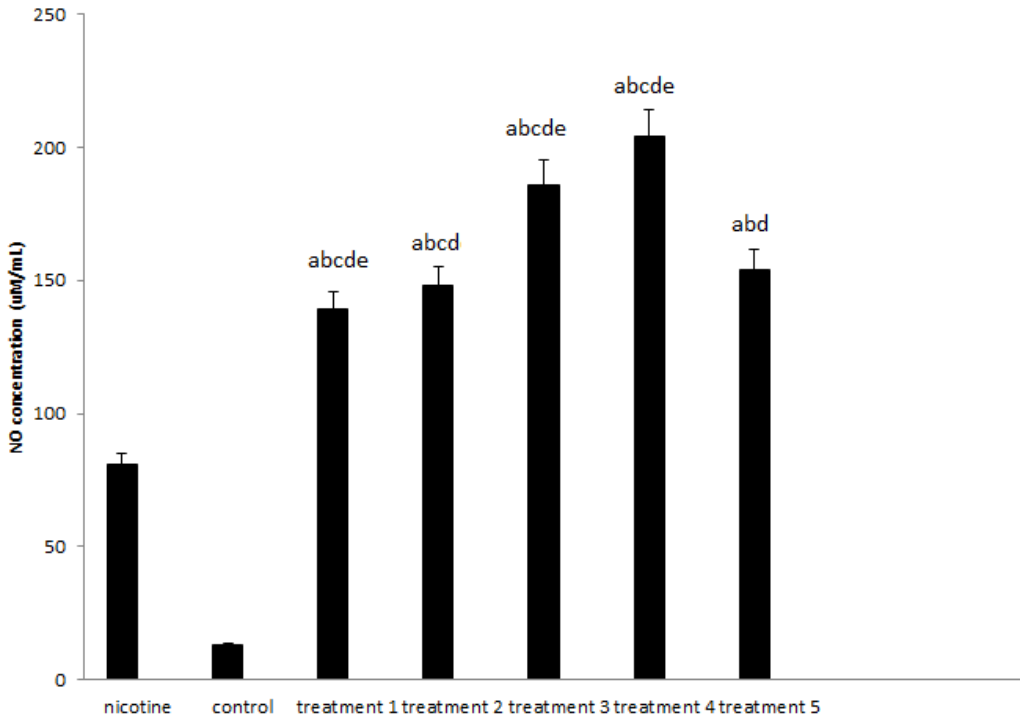
شکل ۱- بررسی میزان بقای سلول‌های PC12 تیمارشده

ستون‌هایی که با نماد a,b,c,d,e مشخص‌شده‌اند دارای اختلاف معناداری با گروه نیکوتین و کنترل هستند.



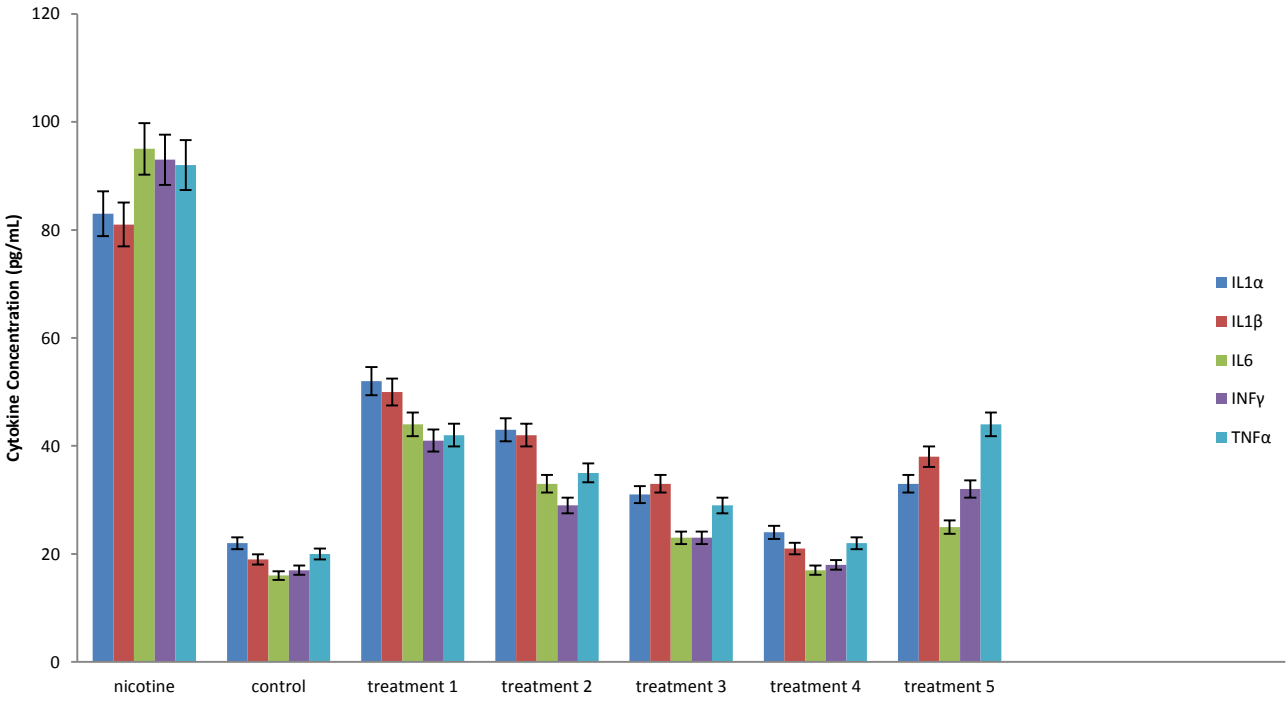
شکل ۲- میزان آپوپتوز در تیمار رده سلولی PC12

ستون‌هایی که با نماد a,b,c,d,e مشخص‌شده‌اند دارای اختلاف معناداری با گروه نیکوتین و کنترل هستند.



شکل ۳- غلظت نیتریک اکسید سلول‌های تیمارشده

ستون‌هایی که با نماد a,b,c,d,e مشخص‌شده‌اند دارای اختلاف معناداری با گروه نیکوتین و کنترل هستند.



شکل ٤- میزان سیتوکین‌های التهابی در تیمار رده سلولی PC12

بررسی میزان سیتوکین‌های التهابی در تیمار رده سلولی PC12:

یکی از مسیرهای دیگری که روغن سیاهدانه می‌تواند تأثیرات سلول خود را اعمال کند، سیتوکین‌های التهابی می‌باشد. به همین منظور بررسی میزان سیتوکین‌های التهابی با آنتی‌بادی‌های اختصاصی IL-1α, IL-1β, IL-6, INF-γ, TNF-α با تکنیک الایزا انجام شد.

نتایج تیمار سلول‌ها با روغن سیاهدانه نشان داد (شکل ۴) که در تیمارهای ۱ تا ۷ میزان سیتوکین‌های التهابی به‌شدت نسبت به گروه نیکوتین کاهش پیدا کرده است. در تیمار ۷ کمترین میزان سیتوکین‌های التهابی مشاهده شد. تیمارهای ۱ تا ۷ روغن سیاهدانه نسبت به هم در ۲۴ و نسبت به گروه نیکوتین و کنترل تفاوت معنادار دارند ($P<۰/۰۵$).

بحث

در قرن‌های گذشته، سیاهدانه در خاورمیانه و هند به‌عنوان یک داروی گیاهی میان مردم استفاده می‌شد (۸ و ۲۱). در طب سنتی، سیاهدانه در درمان آسم، روماتیسم، برونشیت و بیماری‌های التهابی مؤثر است (۲۴-۲۲). تحقیقات علمی نشان داده است که سیاهدانه دارای خواص فارماکولوژیک زیادی مانند خواص ضدباکتری (۲۵)، ضدقارچ (۲۶)، آنتی‌اکسیدان (۲۷)، ضددیابتی (۲۸)، تعدیل‌کننده ایمنی (۲۹)، و فعالیت‌های ضدالتهابی (۲۷) است. روغن سیاهدانه حاوی تیموکینون، هدرین، آلکالوئیدهایی مانند نیگلیسین، نیگلیدین، نیگلیمین و N-اکسید آن است (۳۲-۳۰). برخی از مطالعات نشان داده است که روغن سیاهدانه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. تیموکینون، به‌عنوان جزء اصلی روغن سیاهدانه یک ترکیب آنتی‌اکسیدان است که پراکسیداسیون لیپیدها را در پراکسی زوم مهار می‌کند (۱۲ و ۳۳).

آزمایشات نشان داده است که ترکیبات کارواکرول، تی‌آنتول و ۴-ترپینئول جدا شده از سیاهدانه آنتی‌اکسیدان‌های احتمالی بیشتری هستند که پتانسیل از بین بردن رادیکال‌های آزاد را دارند.

وبوریتس و بوکار نشان دادند که روغن سیاهدانه در سنجش DPPH به‌عنوان یک عامل اهداکننده عمل می‌کند. آنها نشان دادند که این روغن رادیکال هیدروکسیل را در پراکسیداسیون لیپیدی غیر آنزیمی و آزمایش‌های دئوکسی ریبوز از بین می‌برد (۳۳). محمود و همکاران نشان دادند که عصاره دانه سیاهدانه تولید NO را در ماکروفاژهای صفاقی موش به‌طور قابل‌توجهی مهار می‌کند (۳۴). نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار سلول‌ها با غلظت بالای نیکوتین موجب افزایش تولید NO در سلول‌های PC12 می‌شود و تیمارهای روغن سیاهدانه تولید NO را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. NO تولید سیتوکین‌های التهابی در سلول‌های عصبی را تحریک می‌کند. مطالعات روی اثرات نیکوتین در سلول‌های عصبی نشان داده است که این ماده با افزایش NO سیتوکین‌های التهابی را تولید می‌کند (۳۵).

این مطالعه نشان داد که نیکوتین تولید سیتوکین‌های IL-6 و TNF-α را در مدل‌های موش و سلول‌های استئوبلاستومای انسانی افزایش می‌دهد (۳۶). اندازه‌گیری سایتوکاین‌های التهابی IL-1β ، IL-6، INFγ و TNFα در مطالعه ما، اثرات سرکوب‌کننده روغن سیاهدانه را بر تولید سیتوکین‌های التهابی در سلول‌های شبه نورون تأیید کرد. استرس اکسیداتیو مسیر MAPK خارج سلولی را فعال کرده و در نتیجه مجموعه کیناز IκB را فعال می‌کند که خود موجب فعال شدن NF-kB و القا مسیر مرگ سلولی می‌شود. این رویدادها با التهاب، آپوپتوز و تکثیر سلولی در سیستم عصبی مرکزی همراه است (۳۷). NO یک مولکول سیگنالی است که در برخی از سیستم‌های بیولوژیکی مانند سیستم‌های قلبی عروقی، ایمنی و عصبی وجود دارد. با بیماری‌های عصبی مرتبط است (۳۸). NO در کشت سلولی گرانول مخچه باعث تراکم کروماتین، تکه تکه شدن هسته و DNA می‌شود که نشانه آپوپتوز است. علاوه بر این، NO موجب کاهش محتوای ATP داخل سلولی و افزایش پتانسیل غشای میتوکندری و آپوپتوز می‌شود (۳۹). بنابراین، به نظر می‌رسد افزایش تولید NO توسط نیکوتین موجب مرگ سلولی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود.

نتایج رنگ‌آمیزی TUNEL نشان داد که غلظت بالای نیکوتین سلول‌های PC12 را به سوی فرآیندهای آپوپتوزیس هدایت کرده اما روغن سیاهدانه این فرآیندها را وابسته به غلظت سرکوب می‌کند. مطالعه ما بر اثر محافظتی روغن سیاهدانه در مرگ ناشی از نیکوتین در سلول‌های PC12 تأکید دارد. روغن سیاهدانه تولید NO را در سلول‌های PC12 تحت تیمار با نیکوتین کاهش و موجب مهار تولید سیتوکین‌های التهابی می‌شود. علاوه بر این، رویدادهای آپوپتوزیس ناشی از نیکوتین در سلول‌های PC12 را سرکوب کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر خود را از گروه گیاهان دارویی موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی جهاد دانشگاهی کرمانشاه اعلام کنند. مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده دوم در رشته علوم باغبانی، گرایش گیاهان دارویی بوده و تمامی هزینه‌ها توسط موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی جهاد دانشگاهی کرمانشاه تقبل شده است.

References

1. Maritz GS, Mutemwa M. Tobacco smoking: patterns, health consequences for adults, and the long-term health of the offspring. Global Journal of Health Science 2012;4:62-65. doi:10.5539/gjhs.v4n4p62

2. Omotoso GO, Gbadamosi IT, Olajide OJ, Dada-Habeeb SO, Arogundade TT, Yawson EO. Moringa oleifera phytochemicals protect the brain against experimental nicotine-induced neurobehavioral disturbances and cerebellar degeneration. Pathophysiology 2018;25:57-62. doi:10.1016/j.pathophys.2017.12.003

3. Xu X, Iba MM, Weisel CP. Simultaneous and sensitive measurement of anabasine, nicotine, and nicotine metabolites in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Clinical Chemistry 2004;50:2323-30. doi:10.1373/clinchem.2004.038489

4. Berger F, Gage FH, Vijayaraghavan S. Nicotinic receptor-induced apoptotic cell death of hippocampal progenitor cells. Journal of Neuroscience 1998;18:6871-81. doi:10.1523/JNEUROSCI.18-17-06871.1998

5. Dajas-Bailador F, Wonnacott S. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. Trends in pharmacological sciences 2004;25:317-24. doi:10.1016/j.tips.2004.04.006

6. Joshi M, Tyndale RF. Regional and cellular distribution of CYP2E1 in monkey brain and its induction by chronic nicotine. Neuropharmacology 2006:50, 568-575. doi:10.1016/j.neuropharm.2005.11.001

7. Tewari A, Hasan M, Sahai A, Sharma P, Rani A, Agarwal A. White core of cerebellum in nicotine treated rats-a histological study. J Anat Soc India 2010:59, 150-153.

8. Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, Damanhouri ZA, Anwar F. A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle herb. Asian Pacific journal of tropical biomedicine 2013:3, 337-352. doi:10.1016/S2221-1691(13)60075-1.

9. Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (Nigella sativa L.) seeds growing in Saudi Arabia. Food Chemistry 1992;45:239-42. doi:10.1016/0308-8146(92)90153-s

10. Boulos L. Medicinal Plants of North Africa. Medicinal plants of North Africa. 1983

11. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, Legault J. Antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and antibacterial activities of extracts from Nigella sativa (black cumin) plant parts. Journal of Food Biochemistry 2012;36:539-46. doi:10.1111/j.1745-4514.2011.00567.x

12. Moore PK. 1985. Prostanoids: pharmacological, physiological and clinical relevance. CUP Archive.

13. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult J. Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. Planta medica 1995:61, 33-36. doi:10.1055/s-2006-957994

14. Al-Ghamdi M. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of Nigella sativa. Journal of ethnopharmacology2001: 76, 45-48. doi:10.1016/s0378-8741(01)00216-1

15. Mutabagani A, El-Mahdy S. A study of the anti-inflammatory activity of Nigella sativa L. and thymoquinone in rats. Saudi Pharmaceutical Journal 1997;5:110-3.

16. Chakravarty N. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. Annals of allergy 1993;70:237-42.

17. El-Dakhakhny M, Madi N, Lembert N, Ammon H. Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. Journal of Ethnopharmacology 2002;81:161-4. doi:10.1016/s0378-8741(02)00051-x

18. Da Porto C, Porretto E, Decorti D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (Vitis vinifera L.) seeds. Ultrasonics Sonochemistry 2013;20:1076-80. doi:10.1016/j.ultsonch.2012.12.002

19. Smith SM, Wunder MB, Norris DA, Shellman YG. A simple protocol for using a LDH-based cytotoxicity assay to assess the effects of death and growth inhibition at the same time. PloS One 2011;6:e26908. doi:10.1371/journal.pone.0026908

20. Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. Sensors 2003;3:276-84. doi:10.3390/s30800276

21. Khare C. Encyclopedia of Indian medicinal plants. NewYork: Springes-Verlag Berlin Heidelberg. 2004.

22. Abdel-Zaher AO, Abdel-Rahman MS, ELwasei FM. Protective effect of Nigella sativa oil against tramadol-induced tolerance and dependence in mice: role of nitric oxide and oxidative stress. Neurotoxicology 2011;32:725-33. doi:10.1016/j.neuro.2011.08.001

23. Abel-Salam BK. Immunomodulatory effects of black seeds and garlic on alloxan-induced diabetes in albino rat. Allergologia et immunopathologia 2012;40:336-40. doi:10.1016/j.aller.2011.07.002

24. Boskabady M, Mohsenpoor N, Takaloo L. Antiasthmatic effect of Nigella sativa in airways of asthmatic patients. Phytomedicine 2010;17:707-13. doi:10.1016/j.phymed.2010.01.002

25. Byrne A, Southgate J, Brison D, Leese H. Analysis of apoptosis in the preimplantation bovine embryo using TUNEL. Journal of reproduction and fertility 1999;117:97-105. doi:10.1530/jrf.0.1170097

26. Rogozhin EA, Oshchepkova YI, Odintsova TI, Khadeeva NV, Veshkurova ON, Egorov TA, Grishin EV, Salikhov SI. Novel antifungal defensins from Nigella sativa L. seeds. Plant Physiology and Biochemistry 2011;49:131-7. doi:10.1016/j.plaphy.2010.10.008

27. Najmi A, Haque S, Naseeruddin M, Khan R. Effect of Nigella sativa oil on various clinical and biochemical parameters of metabolic syndrome. Int J Diabetes Dev Ctries 2008;16:85-7. doi:10.4103/0973-3930.41980

28. Majdalawieh AF, Hmaidan R, Carr RI. Nigella sativa modulates splenocyte proliferation, Th1/Th2 cytokine profile, macrophage function and NK anti-tumor activity. Journal of Ethnopharmacology 2010;131:268-75. doi:10.1016/j.jep.2010.06.030

29. Atta-Ur-Rahman M, Zaman K. Nigellimine: a new isoquinoline alkaloid from the seeds of Nigella sativa. J. Natural Products-Lloydia 1992;55:676-678.

30. Kumara SSM, Huat BTK. Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle, α-hederin, from the seeds of Nigella sativa. Planta medica 2001;67:29-32. doi:10.1055/s-2001-10628

31. Malik S, Hasan SS, Choudhary MI, Ni CZ, Clardy J. Nigellidine-a new indazole alkaloid from the seeds of Nigella sativa. Tetrahedron letters 1995;36:1993-6. doi:10.1016/0040-4039(95)00210-4

32. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research 2000;14:323-8. doi:10.1002/1099-1573(200008)14:5<323::aid-ptr621>3.0.co;2-q

33. Mahmood MS, Gilani A, Khwaja A, Rashid A, Ashfaq M. The in vitro effect of aqueous extract of Nigella sativa seeds on nitric oxide production. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives 2003;17:921-4. doi:10.1002/ptr.1251

34. Cooper R, Magwere T. Mini-review article nitric oxide-mediated pathogenesis during nicotine and alcohol consumption. Indian J Physiol Pharmacol 2008;52:11-8.

35. Kamer AR, El-Ghorab N, Marzec N, Margarone JE, Dziak R. Nicotine induced proliferation and cytokine release in osteoblastic cells. International Journal of Molecular Medicine 2006;17:121-7.

36. Xiantao W, Martindale JL, Yusen L, Holbrook NJ. The cellular response to oxidative stress: influences of mitogen-activated protein kinase signalling pathways on cell survival. Biochemical Journal 1998;333:291-300. doi:10.1042/bj3330291

37. Zhao B. Nitric oxide in neurodegenerative diseases. Front Biosci 2005;10:454-61. doi:10.2741/1541

38. Wei T, Chen C, Hou J, Xin W, Mori A. Nitric oxide induces oxidative stress and apoptosis in neuronal cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research 2000:1498, 72-79. doi:10.1016/s0167-4889(00)00078-1

39. Wan H, Williams R, Doherty P, Williams D. A study of the reproducibility of the MTT test. Journal of materials science: Materials in medicine 1994:5, 154-159. doi:10.1007/BF00053336

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2022; Vol 16, No 4

DOI: 10.22100/jkh.v16i4.2787

BRIF REPORT

Neuroprotective Effect of the Nigella Sativa L. (Black Cumin) Oil on Nicotine Induced Cell Death

Mohsen Zhaleh (Ph.D.)[1], Sadrollah Seidi (M.Sc.)[2], Shahab Khoshkhoy (M.Sc.)[2], Hossein Zhaleh (Ph.D.)[3*]

1- Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2- Dept. of Medicinal Plant, Kermanshah ACECR Institute of Higher Education, Kermanshah, Iran.

3- Substance Abuse Prevention Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Received: 4 November 2021**, Accepted:** 14 December 2021

Abstract:

Introduction: *High concentration of nicotine induces cell death in central nervous system which can affect the health of nicotine-exposed people. Some therapeutic properties of Nigella Sativa have been investigated but its protective power against neuron cell death not studied yet. Therefore, we studied the protective effect of Nigella Sativa oil in nicotine-treated PC12 cells.*

Methods: *The cell viability measured by LDH test. TUNEL test was used to show DNA fragmentation and apoptosis. NO production was calculated through Griess reaction. The Rat inflammatory cytokine assay kit was used to measurement of inflammatory cytokines concentrations.*

Results: *100 mM of nicotine reduced cell viability, and increased cell cytotoxicity, NO production, inflammatory cytokines concentrations, and DNA fragmentation significantly. N. sativa essential oil increased cell viability and decreased cell cytotoxicity, NO production, inflammatory cytokines concentrations, and DNA fragmentation in high concentration nicotine-treated in PC12 cells, respectively.*

Conclusion: *The main finding of our study was that Nigella Sativa oil suppresses the nicotine-induced cell death in PC12 neuron-like cells. It inactivates the apoptosis process through inhibition of the NO production, and inflammatory cytokines synthesis.*

Keywords: Nigella sativa oil, Nicotine, Cell death, Apoptosis, Cytotoxicity.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** H. Zhaleh, **Email**: hossain_jale@yahoo.com*

Citation: Zhaleh M, Seidi S, Khoshkhoy Sh, Zhaleh H. Neuroprotective effect of the nigella sativa L. (Black Cumin) oil on nicotine induced cell death. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2022;16(4):43-50.