

اثر سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) بر فاکتورهای هماتولوژیک در خرگوشهای تحت رژیم معمولی و پرکلسترول

صدیقه عسگری^{۱*}، نرگس جعفری دینانی^۲، علی‌رضا قنادی^۳ و علی‌رضا هلالات^۴

۱- دانشیار فارماکونوزی، مرکز تحقیقات قلب و عروق، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

پست الکترونیک: sasgary@yahoo.com

۲- فوق لیسانس فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- استاد فارماکونوزی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۴- دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*نویسنده مسئول مقاله

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۶

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۶

چکیده

استفاده از گیاهان دارویی در معالجه هیپرکلسترولمی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. سیاه‌دانه از گیاهان مؤثر بر حالت هیپرکلسترولمی است اما اثرهای جانبی احتمالی آن بر فاکتورهای هماتولوژیک و دستگاه هموستاز مشخص نمی‌باشد. به همین دلیل در این تحقیق اثر این گیاه را بر فاکتورهای گفته شده در خرگوشهای تحت رژیم پرکلسترول و تحت رژیم معمولی بررسی نمودیم. در این تحقیق ۲۰ سر خرگوش نر بالغ به ۴ گروه آزمایشی، گروه معمولی، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول)، گروه معمولی + سیاه‌دانه (۵٪ سیاه‌دانه)، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول) + سیاه‌دانه (۵٪ سیاه‌دانه) تقسیم شدند و به مدت ۸ هفته تحت رژیمهای غذایی قرار گرفتند. در انتهای مطالعه، نمونه خون خرگوشها برای بررسی فاکتورهای هماتولوژیک بکار برده شد. نتایج نشان داد که سیاه‌دانه تأثیری بر گلبولهای سفید (WBC)، گلبولهای قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HGB)، فیبرینوژن (FIB) و فاکتور VII انعقادی ندارد و تنها سبب افزایش معنی‌دار میزان پلاکتها می‌گردد و در نتیجه ممکن است سبب افزایش انعقاد گردد. بنابراین سیاه‌دانه به استثنای افزایش در میزان پلاکتها، تأثیری بر سایر فاکتورهای هماتولوژیک ندارد و انجام مطالعات گسترده‌تر با تأکید بر اثرهای سیاه‌دانه همراه با رژیمهای غذایی مختلف (پرکلسترول و معمولی) بر فاکتورهای مختلف انعقادی و تأثیر نهایی آن بر سیستم هموستاز پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سیاه‌دانه، فاکتورهای هماتولوژیک، هیپرکلسترولمی.

مقدمه

داروسازی و سنتز ترکیبهای دارویی، در بسیاری از کشورها از گیاه درمانی استفاده می‌شود. از آنجایی که بسیاری از مردم حتی در کشورهای توسعه یافته هنوز

گیاهان دارویی تاریخ مصرف طولانی در بسیاری از کشورها دارد. امروزه به‌رغم پیشرفت سریع در صنعت

از گیاهان دارویی برای حفظ سلامتی استفاده می‌کنند سازمان سلامت جهانی بر روی اهمیت این گیاهان تأکید نموده است و تحقیقات وسیعی بر روی این گیاهان در حال انجام است (Goleniowski *et al.*, 2006). هیپرکلسترولمی از مهمترین بیماریهای معالجه شده با گیاهان دارویی است. هیپرکلسترولمی با تولید رادیکالهای آزاد نقش کلیدی در پاتوژنز بیماریهایی مثل سرطان و بیماریهای التهابی دارد (Avc *et al.*, 2006؛ Young & Mceneny, 2001؛ Das *et al.*, 2000). کنترل هیپرکلسترولمی یکی از راههای جلوگیری از بروز این گونه بیماریهاست و گیاهان دارویی متعددی برای کنترل آن بکار می‌روند از جمله سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) که سابقه مصرف آن به بیش از ۲ هزار سال قبل برمی‌گردد و تحقیقات بسیاری وجود این ویژگی در سیاه‌دانه را به اثبات رسانده‌اند (Mail *et al.*, 2004؛ Dahri *et al.*, 2002؛ Randhaw & Alghamedi, 2002؛ Ali & Blunden, 2003) و عنوان شده که روغن فرار آن در پایین آوردن کلسترول در حد Simvastatin عمل می‌کند (Settaf *et al.*, 2003). به‌رغم اثبات اثرهای مثبت سیاه‌دانه بر حالت دیس لیپیدمی، اثرهای آن بر فاکتورهای هماتولوژیکی و دستگاه هموستاز مشخص نمی‌باشد و در این مورد نتایج متناقضی گزارش گردیده از آن جمله، در یک تحقیق مشخص گردیده که سیاه‌دانه سبب افزایش Hb، HCT و کاهش پلاکتها و لکوسیتها در رتھای نرمال می‌شود (Zaoui *et al.*, 2002) و در مقابل محقق دیگر عنوان نمود که سیاه‌دانه تغییر معنی‌داری بر روی سلولهای خونی رتھای نرمال ندارد

مواد و روشها

گروه‌بندی و تیمار خرگوشها

۲۰ سر خرگوش نر سفید بالغ از نژاد داج پولیش با وزن متوسط ۲-۲/۵ kg و سن ۱۰ هفته از انسیتو پاستور ایران خریداری و به لانه حیوانات دانشکده دندانپزشکی انتقال یافتند. به منظور تطابق با محیط، خرگوشها به مدت ۲ هفته تحت رژیم پایه super *fosskorn standard rabbit chow* قرار گرفتند. سپس به صورت تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم [گروه معمولی، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول)، گروه معمولی+سیاه‌دانه (۵٪ سیاه‌دانه)، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول)+ سیاه‌دانه (۵٪ سیاه‌دانه)] و به مدت ۸ هفته تحت رژیمهای غذایی ویژه قرار گرفتند.

سیاه‌دانه استفاده شده در این تحقیق توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اصفهان از منطقه روشن دشت واقع در شرق اصفهان تهیه و جنس و گونه این گیاه توسط مهندس ایرج مهرگان، گیاه‌شناس هرباریوم دانشکده داروسازی شیراز تأیید گردیده است. برای تهیه رژیم غذایی حاوی سیاه‌دانه، ابتدا سیاه‌دانه توسط دستگاه آسیاب برقی پودر و به منظور تهیه پودر یکنواخت با دستگاه مش شماره ۲۰ غربالگیری شد. سپس ۵ گرم از این پودر با ۹۵ گرم غذای پایه پودر شده مخلوط گردید. برای تهیه رژیم

نتایج

نتایج نشان می‌دهند که سیاه‌دانه اثری بر روی گلبولهای قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت ندارد. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه معمولی و معمولی+ سیاه‌دانه این مسئله را تصدیق می‌کند (شکل ۱). با توجه به اینکه رژیم پرکلسترویل سبب کاهش غیر معنی‌دار گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود، سیاه‌دانه سبب بازگشت میزان این فاکتورها به سمت سطح نرمال می‌شود (شکل ۱). تفاوت معنی‌داری بین گروه معمولی و معمولی+ سیاه‌دانه از لحاظ میزان گلبولهای سفید وجود ندارد (شکل ۲). افزایش غیر معنی‌دار گلبولهای سفید در گروه پرکلسترویل با مصرف سیاه‌دانه به همراه رژیم پرکلسترویل در گروه پرکلسترویل+ سیاه‌دانه به صورت غیر معنی‌دار کاهش و به سمت سطح نرمال سوق پیدا می‌کند (شکل ۲).

همانطور که از روی شکل ۳ مشخص است سیاه‌دانه سبب افزایش معنی‌دار میزان پلاکتها می‌شود. این افزایش هم در گروه معمولی+ سیاه‌دانه نسبت به گروه معمولی و هم در گروه پرکلسترویل+ سیاه‌دانه نسبت به گروه پرکلسترویل دیده می‌شود (شکل ۳). سیاه‌دانه روی فیبرینوژن و فاکتور ۷ اثری ندارد (عدم وجود اختلاف معنی‌دار در گروه معمولی و معمولی+ سیاه‌دانه)، اما کاهش غیر معنی‌دار فیبرینوژن در گروه پرکلسترویل را به صورت غیر معنی‌دار افزایش و آن را به سمت سطح نرمال سوق می‌دهد (شکل ۳). سیاه‌دانه افزایش معنی‌دار فاکتور ۷ در گروه پرکلسترویل را به صورت غیر معنی‌دار کاهش و آن را به سمت سطح نرمال سوق می‌دهد (شکل ۳).

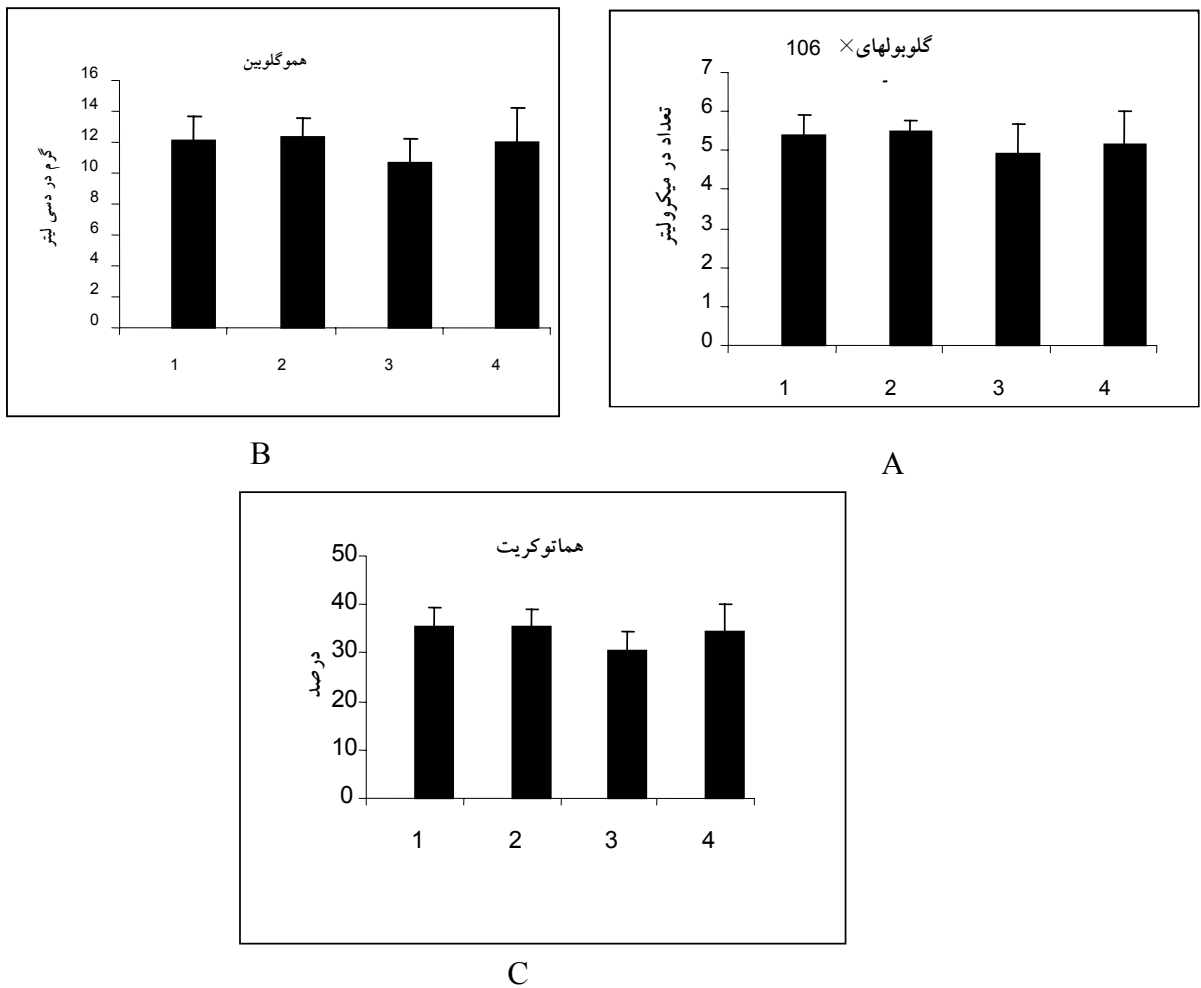
پرکلسترویل نیز ۱ گرم پودر کلسترویل خالص به ۹۹ گرم غذای پایه پودر شده اضافه گردید (Aydemir et al., 2000).

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی

بعد از اتمام دوره مطالعه، از سینوس مرکزی گوش خرگوشها نمونه خون گرفته شد. از نمونه خون هر خرگوش جهت بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی استفاده شد. اندازه‌گیری WBC (میزان گلبولهای سفید)، RBC (میزان گلبولهای قرمز)، HCT (میزان هماتوکریت)، HGB (میزان هموگلوبین)، PLT (میزان پلاکتها) با استفاده از نمونه خون و فیبرینوژن (FIB) با استفاده از پلاسما در مرکز تحقیقات قلب و عروق و اندازه‌گیری فاکتور ۷ انعقادی (F VII) توسط سازمان انتقال خون انجام گرفت. شمارش سلولهای خونی با دستگاه Cell Counter انجام شد. فیبرینوژن با استفاده از کیت مهسا یاران براساس زمان تشکیل لخته و فاکتور هفت بر حسب درصد فعالیت آن در پلاسما با استفاده از مدت زمان لخته شدگی پلاسما با توجه به نمونه استاندارد محاسبه گردیده است.

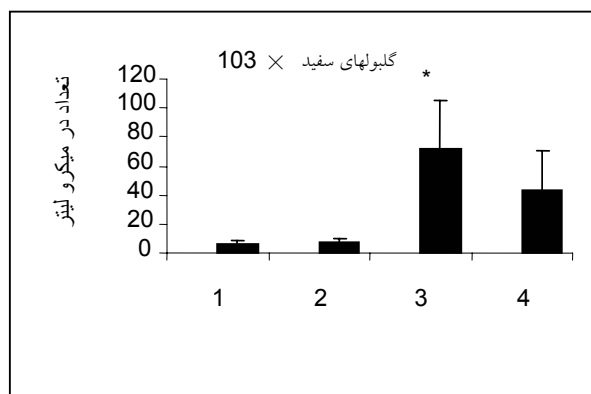
تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بصورت $\pm SD$ میانگین با منظور نمودن انحراف معیار نمونه‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. برای مقایسه آماری از نرم‌افزار Spss13 استفاده شده است. برای مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده مابین گروهها از آزمون Kruskal-wallis و برای انجام مقایسه دو به دو از آزمون Mann-Whitney استفاده شد.



شکل ۱- میانگین \pm انحراف معیار اثرهای مصرف سیاه‌دانه بوسیله خرگوشهای تحت رژیم معمولی و پرکلسترون روی میزان گلبولهای قرمز (A)، هماتوکریت (B) و میزان هموگلوبین (C)

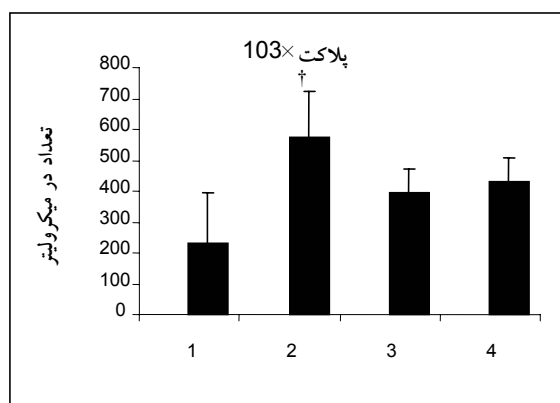
۱: گروه معمولی ۲: گروه معمولی + سیاه‌دانه ۳: گروه پرکلسترون ۴: گروه پرکلسترون + سیاه‌دانه



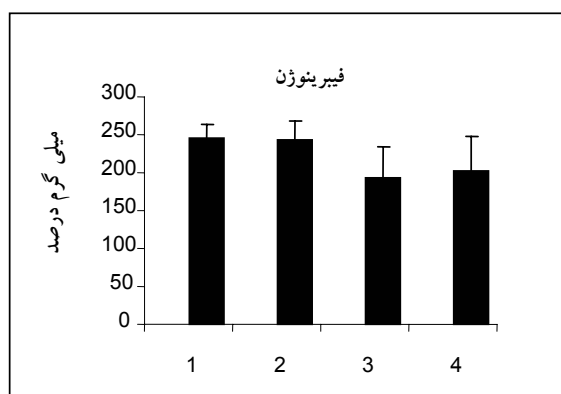
شکل ۲- میانگین \pm انحراف معیار اثرهای مصرف سیاه‌دانه بوسیله خرگوشهای تحت رژیم معمولی و پرکلسترون

روی میزان گلبولهای سفید * - اختلاف معنی‌دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترون در مقایسه با گروه معمولی

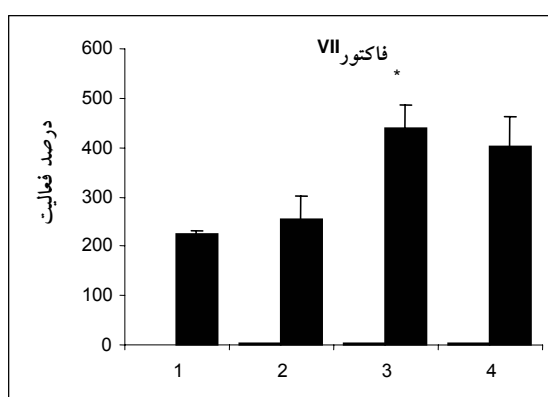
۱- گروه معمولی ۲- گروه معمولی + سیاه‌دانه ۳- گروه پرکلسترون ۴- گروه پرکلسترون + سیاه‌دانه



B



A



C

شکل ۳- میانگین \pm انحراف معیار اثرهای مصرف سیاه‌دانه بوسیله خرگوشهای تحت رژیم معمولی و پرکلسترول روی فیبرینوژن (A)، میزان پلاکتها (B) و فاکتور VII (C).

*- اختلاف معنی‌دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول در مقایسه با گروه معمولی

†: اختلاف معنی‌دار بین میانگین فاکتور در گروه معمولی + سیاه‌دانه در مقایسه با گروه معمولی

۱- گروه معمول ۲- گروه معمولی + سیاه‌دانه ۳- گروه پرکلسترول ۴- گروه پرکلسترول + سیاه‌دانه

بحث

نتایج نشان می‌دهند که مصرف سیاه‌دانه به همراه رژیم معمولی باستانی افزایش در میزان پلاکتها بر روی بقیه فاکتورهای خونی (گلبولهای قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، گلبولهای سفید، فیبرینوژن و فاکتور V) اثری ندارد. در ضمن سیاه‌دانه تغییرات ایجاد شده در اثر مصرف رژیم پرکلسترول در بعضی فاکتورها (گلبولهای سفید، فیبرینوژن و فاکتور V) را به سمت سطح نرمال سوق می‌دهد.

تحقیقات نشان داده که سیاه‌دانه سطوح کاهش یافته Hb، WBC، RBC رت‌های تیمار شده با تتراکلرید کربن را افزایش می‌دهد (Meral et al., 2004). همچنین سیاه‌دانه سبب مقاومت رت‌های در معرض رژیم آفلاتوکسین که سبب تغییرات هماتولوژیک می‌شود، می‌گردد (Abdel- Wahhab & Aly, 2005). سیاه‌دانه آشفته‌گی‌های ایجاد شده در پارامترهای هماتولوژیکی خرگوشهای دیابتیک را تعدیل می‌کند و مکانیسمهای دفاعی بدن در مقابل عفونت

پلاکتی دارد و خاصیت ضد انعقادی قوی دارد (Enomoto *et al.*, 2001). ویژگی انعقادی و ضد انعقادی برای سیاه‌دانه در گزارشهای دیگری نیز وجود دارد به عنوان مثال در تحقیق صورت گرفته به وسیله Al-jishi و AbuHazaif (۲۰۰۳) گزارش گردیده است که استفاده از N.S با دوز ۳۶۰ mg/Kgrat/day به مدت دو هفته با توجه به اینکه سطح فیبرینوژن را افزایش می‌دهد، زمان پروترومبین (PT) را طولانی می‌کند و در نتیجه اثرات انعقادی و ضد انعقادی به صورت توأم برای این عصاره ذکر گردیده است (Al-Jishi & AbuHazaif, 2003). وجود اثرهای انعقادی و غیر انعقادی بصورت توأم نشان‌دهنده اثرهای مختلف ترکیبهای سیاه‌دانه بر فاکتورهای مختلف انعقادی است. مشخص شدن اثر ترکیبهای مختلف سیاه‌دانه بر فاکتورهای مختلف دستگاه هموستاز نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- Abdel-Wahhab, M. and Aly, S., 2005. Antioxidant property of *Nigella satava* and *syzygium aromaticum* in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Toxicology*, 25(3):218-223.
- Ali, B. and blunden, G., 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella Sativa*. *Phytotherapy Research*, 17: 299-305.
- Al-Jishi, S. and AbuHazaif, B., 2003. Effect of *Nigella Sativa* on blood memostatic function in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 85: 7-14.
- Avc, G., Kupeli, E., Eryavuz, A., Yesilada, E. and Kucukkurt, I., 2006. Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 107: 418-423.
- Aydemir, E., Uysal, A. and Nisli, N., 2000. Effect of defibrotide on aorta and brain malondialdehyde and antioxidants in cholesterol induced atherosclerotic rabbits. *International Journal of Clinical and Laboratory Research*, 30: 101-107.
- Dahri, A., Chandiol, A. and Memon, R., 2002. Effect of *Nigella sativa* on serum cholesterol of albino rats. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 17(2): 72-74.

را در این خرگوشها افزایش می‌دهد (Meral & Kanter, 2003). در هر سه تحقیق ذکر شده سیاه‌دانه با کاهش عامل ایجاد کننده تغییرات هماتولوژیک سبب برگشت این تغییرات به سطح نرمال می‌شود. مثلاً آنمی افتاده در دیابتی‌ها که در نتیجه افزایش گلیکوزیلاسیون غیرآنزیمی پروتئینهای غشایی RBC ایجاد می‌شود با کاربرد سیاه‌دانه کاهش می‌یابد. سیاه‌دانه از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد کننده همولیز RBC سبب کاهش آنمی می‌شود و به‌طور مستقیم تأثیری بر روی سطح RBC ندارد. نتایج این تحقیق نیز تأیید کننده این مطلب است که سیاه‌دانه به‌طور مستقیم تأثیری بر سلولهای خونی ندارد و با کاهش عامل ایجاد کننده تغییرات هماتولوژیک سبب برگشت این تغییرات به سطح نرمال می‌شود. به‌عنوان مثال کاهش فاکتور انعقادی در خرگوشهای پرکلسترو + سیاه‌دانه می‌تواند به اثر سیاه‌دانه بر روی کاهش کلسترو و TG برگردد. وجود ارتباط مثبت بین فاکتور ۷ انعقادی و سطح کلسترو به‌ویژه تری‌گلیسیرید، نشان‌دهنده این مطلب است که سیاه‌دانه با اثر بر سطح کلسترو و TG سبب کاهش فاکتور ۷ انعقادی گردیده است و تأثیر مستقیم بر روی این فاکتور ندارد. عدم تفاوت معنی‌دار بین این فاکتور در گروه معمولی و معمولی + سیاه‌دانه این مسئله را تأیید می‌کند. افزایش میزان PLT در این تحقیق می‌تواند بیان کننده این مسئله باشد که سیاه‌دانه ممکن است سبب افزایش انعقاد گردد. Ghoneim و همکاران (۱۹۸۲) نیز افزایش خاصیت انعقادی بعد از کاربرد parenteral عصاره سیاه‌دانه را عنوان نموده‌اند، ولی در مقابل El-Naggar و El-Deib (۱۹۹۲) گزارش نموده‌اند که سیاه‌دانه اثرهای ضد انعقادی دارد. Enomoto و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نموده‌اند که روغن سیاه‌دانه اثرات بازدارندگی روی تجمع

- and insulin-sensitizing actions in the rat. *Journal of ethnopharmacology*, 94: 251-259.
- Meral, I., Donmez, N., Baydas, B., Belge, F. and Kanter, M., 2004. Effect of *Nigella sativa* L. on hrarth rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits, scand. *Journal of Laboratory Animal Science*, 2: 49-53.
 - Meral, I. and Kanter, M., 2003. Effects of *Nigella Sativa* L. and *Urtica dioica* L. on selected mineral status and hematological values in CCL₄ treated rats. *Biological Trace Element Research*, 96: 263-270.
 - Randhawa, M.A. and AlGhamdi, M., 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan Journal of Medical Research*, 2: 41-48.
 - Settaf, A., Berrada, Y., Haddad, P., Cherrah, Y., Hassar, M. and Slaoui, A., 2003. Volatile oil of *Nigella Sativa* lowers plasma lipids and insulin in obese hyperlipidemic sand rat. *Proceeding of the 6th International congress on ethnopharmacology*, 8-11 January, Peritoria, South Africa.
 - Young, I. and Mceneny, J., 2001. Lipoprotein oxidation and atheroscleroidi. *Biochemical society transactions*, 29: 358-362.
 - Zaoui, A., Cherrah, Y., Aloui, K., Mahassine, N., Amarouch, H. and Hassar, M., 2002. Effect of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 23-26.
 - Das, S., Vasisht, S.N. and Srivastava, L., 2000. Correlation between total antioxidant status and lipid peroxidation in hypercholesterolaemia. *Current Science*, 78: 486-487.
 - El-Naggar, A.M. and El-Deib, A.M., 1992. A study of some biological activities of *Nigella sativa* (black seeds) "*Habat El Baraka*." *Egyptian Society of Pharmacology & Experimental Therapeutics*. 11:781-99.
 - Enomoto, S., Asno, R., Iwahori, Y., Narul, T., Okada, Y., Singab, A. and okuyma, T., 2001. Hematological studies on black cumim oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24: 307-331.
 - Ghoneim T., El-Alami R., Shoukry E. and Yasseen S., 1982. Possible effect of some extracts of *Nigella Sativa* L. seeds on blood coagulation and fibrinolytic activity. *Proceedings of the Second International Conference on Islamic Medicine; Studies in Islamic Medicine and Advantages of Herbal Treatment*, 12 APR. Kuwait, 528-35.
 - Goleniowski, M., Bongiovanni, G., Palacio, C. and Canter, J., 2006. Medicinal plants from the Sierra de Comechingones, Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 107: 324-341.
 - Mail, P., Andaloussi, A., Elimadi, A., Settaf, A., Cherrah, Y. and Haddad, P., 2004. The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid lowering

Study the effect of *Nigella sativa* L. on hematological factors in normal and hypercholesterolemic rabbits

S. Asgary¹, N. Jafari Dinani¹, A. Ghanadi² and A. Helalat²

1- Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, E-mail: sasgary@ yahoo.com

2- Department of Pharmacognosy, Isfahan University of Medical Sciences

Abstract

Hypercholesterolaemia is among the most common health problems treated with traditional remedies. *Nigella sativa* is an effective plant for hypercholesterolemia treatment. However the effect of this herb on hematologic factors and hemostase system has not been elucidated. This study was designed to investigate the effect of *Nigella sativa* on these factors in both normal and hypercholesterolemic rabbits. In this research, twenty rabbits were randomly distributed into four groups of five each. Having normal diet and normal diet + *Nigella sativa* (5%), hypercholesterolemic diet (1%) and hypercholesterolemic diet + *Nigella sativa* groups. Animal groups received their own diets and water and libitum for a period of 8 weeks. The results indicate that *Nigella sativa* diet only significantly increase numbers of platelet and do not effect on white and red blood cell, hemoglobin, hematocrit and VII factors. Dietary use of *Nigella sativa* except increasing platelet number that may be causes increase coagulation don't have effect on other hematologic factors. Thus these results call for more research on effect of different diet (hypercholesterolemic and normal diet) supplemented with *Nigella sativa* on different coagulation factors and hemostase system.

Key words: *Nigella sativa* L., hematological factors, hypercholesterolemia.