






Original Paper

Effect of Thymoquinone on Hippocampal Oxidative Stress and Neuronal Density Following Acrylamide in Male Rat

Seyyed Javad Mousavi¹ , Mohammadhossein Gheini (M.D.)² , Ashkan Sanaierad¹ 

Narges Haddadzadeh Niri¹ , Mehrdad Roghani (Ph.D.)^{*3} 

¹ Medical Student, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. ² Assistant Professor, Department of Anatomy and Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. ³ Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Acrylamide is a neurotoxic agent that increases oxidative stress by creating an imbalance between the production and removal of free radicals, which in turn contributes to the pathogenesis of some neurodegenerative disorders. Thymoquinone extracted from *Nigella satvia* has prominent antioxidant effects. The objective of this study was to evaluate the effects of thymoquinone on hippocampal oxidative stress and neuronal density following acrylamide administration in male rats.

Methods: In this experimental study, 28 male Wistar rats aged 10-12 weeks and weighing 180-200 g were randomly divided into 4 groups of 7 rats: control, acrylamide, acrylamide + thymoquinone treatment (1 mg/kg), and acrylamide + thymoquinone treatment (5 mg/kg). For induction of brain injury, 50 mg/kg of acrylamide was injected intraperitoneally. Two days after the acrylamide injection, the rats were sacrificed, and malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and catalase levels were measured in hippocampal homogenate. Evaluation of neuronal density in hippocampal CA1 region was also performed by Nissl staining.

Results: Acrylamide injection significantly increased MDA level and reduced GSH content and catalase activity in comparison with the control group ($P < 0.05$). Administration of 5 mg/kg thymoquinone significantly reduced MDA level ($P < 0.05$) but improved GSH and catalase activity in comparison with the acrylamide group ($P < 0.05$). In addition, neuron density of hippocampal CA1 region did not differ significantly between the groups.

Conclusion: Thymoquinone can attenuate oxidative stress markers in a dose-dependent manner.

Keywords: Acrylamide, Thymoquinone, Hippocampus, Oxidative Stress

*Corresponding Author: Mehrdad Roghani (Ph.D), E-mail: mehjour@yahoo.com

Received 4 Jan 2022

Final Revised 12 Mar 2022

Accepted 13 Apr 2022

Published Online 5 Apr 2023

Cite this article as: Mousavi SJ, Gheini M, Sanaierad A, Haddadzadeh Niri N, Roghani M. [Effect of Thymoquinone on Hippocampal Oxidative Stress and Neuronal Density Following Acrylamide in Male Rat]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 24(4): 28-36. [Article in Persian]





تحقیقی

اثر تیموکینون بر استرس اکسیداتیو و تعداد نورون‌های هیپوکامپ به‌دنبال تجویز آکریل آمید در موش صحرایی نر

سیدجواد موسوی^۱، دکتر محمدحسین قینی^۲، اشکان سنایی راد^۱، نوگس حدادزاده نیری^۱، دکتر مهرداد روغنی^{۳*}

^۱ دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. ^۲ استادیار، گروه آناتومی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۳ استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آکریل آمید ماده‌ای نوروتوکسیک است که با ایجاد عدم تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد، استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد و در پاتوژنز بعضی از بیماری‌های نورودژنراتیو دخیل است. تیموکینون که از گیاه سیاه‌دانه استخراج می‌شود؛ دارای اثرات برجسته آنتی‌اکسیدانی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر تیموکینون بر استرس اکسیداتیو و تعداد نورون‌های هیپوکامپ به‌دنبال تجویز آکریل آمید در موش صحرایی نر انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده سنی ۱۲-۱۰ هفته و وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم انجام شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی کنترل، آکریل آمید و دو گروه آکریل آمید تحت تیمار با تیموکینون (۱ یا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. برای القای آسیب بافتی مغز، آکریل آمید به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی تزریق شد. موش‌ها دو روز پس از تزریق آکریل آمید، کشته شدند و اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، گلووتاتیون احیا و کاتالاز در نمونه هموزنه هیپوکامپ انجام شد. بررسی تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ با رنگ‌آمیزی نیسل صورت گرفت.

یافته‌ها: تزریق آکریل آمید سبب افزایش آماری معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید و کاهش فعالیت کاتالاز و گلووتاتیون احیا نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/05$). تجویز تیموکینون با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت کاتالاز و گلووتاتیون احیا نسبت به گروه آکریل آمید شد ($P < 0/05$). تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند.

نتیجه‌گیری: تیموکینون به صورت وابسته به دوز می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو گردد.

واژه‌های کلیدی: آکریل آمید، تیموکینون، هیپوکامپ، استرس اکسیداتیو

* نویسنده مسؤول: دکتر مهرداد روغنی، پست الکترونیکی mehjour@yahoo.com

نشانی: تهران، بزرگراه خلیج فارس، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۵۱۲۱۲۶۴۱-۰۲۱، شماره ۵۱۲۱۲۶۰۲

وصول ۱۴۰۰/۱۰/۱۴ اصلاح نهایی ۱۴۰۰/۱۲/۲۱ پذیرش ۱۴۰۱/۱۱/۲۴ انتشار ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

مقدمه

آکریل آمید (۲-پروبن آمید) یک ترکیب شیمیایی به فرمول مولکولی C_3H_5NO و فرمول شیمیایی $CH_2=CH-CO-NH_2$ است که در طیف گسترده‌ای از مواد غذایی غنی از کربوهیدرات در دمای بالای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل می‌شود. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، آکریل آمید را در گروه ترکیب سرطان‌زای احتمالی برای انسان طبقه‌بندی کرده است.^۱ آکریل آمید در غذاهای فرآوری شده شامل نشاسته در دماهای بالا یک مشکل جدی برای سلامتی است. زیرا یک ماده سمی و سرطان‌زا است و مقدار قابل توجهی از این ماده توسط فست فود خواران در سراسر جهان به طور ناخواسته مصرف می‌شود.^۲ این ماده یک مونومر محلول در آب

است که برای ساخت پلی‌آکریل آمید استفاده می‌شود و کاربرد گسترده‌ای در زمینه‌های پتروشیمی، آب درمانی، ساخت کاغذ، پارچه بافی و تحقیقات علمی دارد. علیرغم این که (ACR) Poly سمی در نظر گرفته نمی‌شود؛ اما ترکیبات آن اغلب شامل انواعی از مونومرهای سمی هستند. برای مثال گزارش شده است که مونوآکریل آمید سمیت عصبی، سمیت سیستم تولید مثلی و اثر سرطان‌زایی در گونه‌های مختلف حیوانات دارد.^{۳،۴} تماس با ACR علت نوروپاتی آکسونال شناخته شده است که بر روی هر دو سیستم عصبی مرکزی و محیطی تأثیر می‌گذارد و با آتاکسی (عدم تعادل)، کاهش وزن و ضعف عضلات اسکلتی مرتبط است. مهم‌ترین خصیصه پاتولوژیک تماس با ACR شامل تورم و تخریب قسمت

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده سنی ۱۲-۱۰ هفته و وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم انجام شد. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شاهد (IR.SHAHED.REC.1398.007) قرار گرفت. مطالعه بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری حیوانات به انجام رسید. حیوانات در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و به صورت آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به مدت ۱۰ روز دسترسی داشتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.^{۱۸}

گروه اول: کنترل.

گروه دوم: دریافت کننده آکریل‌آمید.

گروه سوم: دریافت کننده آکریل‌آمید تحت تیمار خوراکی تیموکینون یک میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۴ روز. گروه چهارم: دریافت کننده آکریل‌آمید تحت تیمار خوراکی تیموکینون ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه به مدت ۴ روز. برای القای آسیب بافتی مغز، آکریل‌آمید به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی در روز آخر و یک ساعت بعد از تجویز تیموکینون تزریق شد.^{۱۹}

دو روز پس از تزریق آکریل‌آمید، موش‌ها با دوز بالای کتامین (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و پس از انجام پرفیوژن از طریق قلب و عبور نرمال سالین از میان مغز (روش ترانس کاردیال برای خروج خون موجود در عروق مغزی)، مغز سریع خارج شد. اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، گلوتاتیون احیا، کاتالاز در مورد نمونه هموزنه هیپوکامپ سمت راست انجام شد که نمونه به صورت تازه فریز شده و پس از آن هموزنه بافتی تهیه شد. در مورد بلوک هیپوکامپ سمت چپ پس از قرار دادن آن در محلول فیکساتیو حاوی پارافرمالدهید ۴ درصد برای تثبیت شدن به مدت ۳ روز و انجام مراحل آماده‌سازی و رنگ‌آمیزی نیسل (کرزیل ویوله)، تعداد نورون‌ها در ناحیه CA1 هیپوکامپ مورد بررسی قرار گرفتند.

مشخصات آکریل‌آمید و تیموکینون به شرح زیر بودند.

Acrylamid (Merk.Germany. Cat#606-003-00-0, Lot#8,00830,1000)
Thymoquinone (Sigma, USA, Cat#274666, Lot#MKBF5897V)

بررسی‌های بیوشیمیایی: پس از تهیه بلوک هیپوکامپ، هموزنه بافتی با استفاده از دستگاه هموزنایزر تهیه شد. برای تهیه هموزنه بافتی، ابتدا بلوک توزین شد و سپس به آن به صورت جداگانه، محلول لیز کننده سرد (تریس هیدروکلراید ۱۵۰ میلی‌مولار با pH=7.4) متناسب با وزن آنها اضافه و به مدت یک دقیقه با دستگاه هموزنایزر با دور ۵۰۰۰ در دقیقه هموزنیزه گردید و محلول هموزنیزه

انتهایی آکسون است، اما اثرات تماس با ACR در طول تکامل پستانداران در دوره جنینی واضح نیست. این موضوع نشان داده است که تماس با ACR باعث آسیب ژنومیک و سلولی در سیستم‌های عصبی و تناسلی حیوانات می‌شود؛ اما در مطالعات اپیدمیولوژیک در انسان فقط اثر سمیت عصبی آن تعیین شده است. ACR با عنوان یک ماده بالقوه سمیت عصبی، به سیستم عصبی مرکزی و محیطی آسیب می‌زند. همچنین، آکریل‌آمید عدم تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی اکسیژن و در نتیجه استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد که در پاتوژنز بعضی از بیماری‌های نورودژنراتیو دخیل است.^{۵-۷} علاوه بر این گزارش شده است که سمیت عصبی القا شده توسط ACR در موش‌های صحرایی با القای اکسیداسیون لیپید و کاهش توانایی آنتی‌اکسیداسیون در سیستم عصبی همراه است. بنابراین استرس اکسیداتیو نقش مهمی در القای سمیت ACR دارد. همچنین ACR می‌تواند باعث القای تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن و آپوپتوز به عنوان یک مدل آزمایشگاهی از سمیت عصبی در سلول‌های PC12 شود.^{۹،۸} در مطالعه Nowak و همکاران آکریل‌آمید با ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب DNA باعث مرگ سلولی در سلول‌های آدنوکارسینوما کولون انسان (Caco-2) شد.^{۱۰} به علاوه در مطالعه Park و همکاران این ماده باعث ایجاد سمیت رشدی به شکل اسکولیوز، کمبود باله شنا و انحنا بدن در گورخرماهی شد؛ عرض مغز و نخاع را کم کرد که نشان‌دهنده سمیت عصبی است.^{۱۱} در مطالعه درتاج و همکاران آکریل‌آمید سبب کاهش چشمگیری در وزن موش‌های مادر، حجم مخچه و نیز تعداد جنین‌ها شد.^{۱۲} اعظمی و روفه‌گری‌نژاد نیز به این نتیجه رسیدند که استفاده از پودر تفاله انگور قرمز تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر ویژگی‌های کیفی بیسکویت داشته و منجر به کاهش آکریل‌آمید در بیسکویت شد.^۱

تیموکینون (Thymoquinone: TQ) یک ماده مؤثر گیاهی است که از روغن سیاهدانه (*Nigella savita*) استخراج می‌شود و دارای اثرات برجسته آنتی‌اکسیدانی است. نشان داده شده است که تیموکینون باعث سرکوب سیستم استرس اکسیداتیو، کاهش فعالیت تشنجی و کاهش از بین رفتن نورون‌های ناحیه هیپوکامپ در مدل صرعی و کودکان با تشنج‌های مکرر می‌شود. در سال‌های اخیر، کشف شده تیموکینون باعث کاهش واکنش‌های مرتبط با گونه‌های فعال اکسیژن و محافظت از نورون‌ها در برابر آسیب‌های نورونی ناشی از برقراری مجدد جریان خون در جوندگان می‌شود.^{۱۳-۱۷} این مطالعه به منظور تعیین اثر تیموکینون بر استرس اکسیداتیو و تعداد نورون‌های هیپوکامپ به دنبال تجویز آکریل‌آمید در موش صحرایی نر انجام شد.

سنجش کاتالاز: اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. در این روش، آنزیم کاتالاز موجود در نمونه با تجزیه پراکسید هیدروژن سبب کاهش جذب این ماده در طول موج ۲۴۰ نانومتر می شود و از تفاوت جذب در واحد زمان، فعالیت آنزیم اندازه گیری می شود. بر طبق تعریف، یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول H₂O₂ در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد شود.^{۲۱}

سنجش گلوکونانین احیا: ۰/۱ میلی لیتر از مایع رویی بافت های بدن در لوله های آزمایش با ۰/۳ میلی لیتر از ۰/۲ مولار تریس بافر (pH=8.2) و ۰/۰۲ میلی لیتر از ۰/۰۱ مولار DTNB مخلوط شدند. این مخلوط تا ۲ میلی لیتر با ۱/۵۸ میلی لیتر متانول مطلق اضافه شد. یک واکنش گر خالی (بدون نمونه) و یک نمونه خالی (بدون DTNB) نیز به شیوه ای مشابه آماده شد. لوله های آزمایش هر ۵ دقیقه تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه ساکن شدند و سپس سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه در RT به مدت ۱۵ دقیقه) شدند. جذب نوری در طول موج ۴۱۲ نانومتر سنجیده شد. رنگ به دست آمده به مدت یک ساعت پایدار است.^{۲۱}

مطالعات بافت شناسی: تعداد نمونه در هر گروه ۵ موش بود که بررسی شد. پس از پرفیوژن ترانس کاردیال با محلول نرمال سالین و قرار دادن بلوک هیپوکمپ سمت چپ در محلول فیکساتیو پارافرمالدهید ۴ درصد، بافت فیکس شده و در مرحله بعد، برش هایی با ضخامت ۵ میکرومتر به کمک یک دستگاه میکروتوم از آن ناحیه تهیه شد. در مورد هر حیوان از بخش مرکزی هیپوکمپ ۵ لام تهیه شد و روی هر لام حداقل ۳ برش بافتی وجود داشت و شمارش تعداد نورون در حداقل سه فیلد سه برای هر موش انجام شده و میانگین گرفته شد. در مورد هر حیوان مقاطع کروئال بوده و در مرحله بعد با رنگ آمیزی نیسل (بررسی تراکم نورون های ناحیه CA1 هیپوکامپ) با استفاده از رنگ کرزیل ویوله مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا عکس میکروسکوپی از کل هیپوکمپ گرفته شد. بررسی از حدود ۳/۳ تا ۳/۶ میلی متر عقب برگما بود. شمارش تعداد نورون ها در واحد سطح در ناحیه ۱/۶ تا ۱/۸ میلی متر جانبی نسبت به خط وسط انجام شد. تعداد نورون ها در واحد سطح بوده و کل نورون های CA1 شمارش نشد؛ بلکه در یک ناحیه محدود در همه موش ها بررسی صورت گرفت. در شمارش نورون ها عکس های میکروسکوپی به کامپیوتر منتقل شد و بررسی در نرم افزار Image Tool 3 انجام شد.^{۲۲}

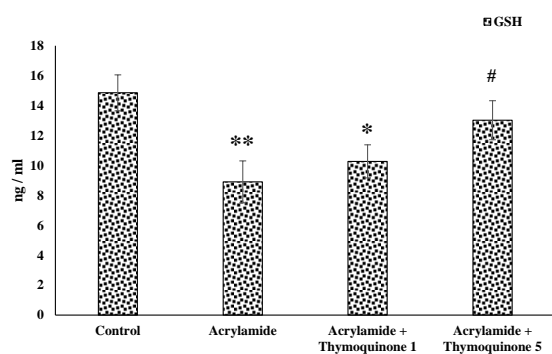
آنالیز آماری: داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. در مورد ارتباط بین نتایج از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) استفاده شد. آنالیز آماری داده ها در برنامه سیگما استات نسخه ۳/۵ انجام شد.

شده، توسط سانتریفیوژ یخچال دار با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم ها و پروتئین ها، تمامی مراحل بالا در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد. پس از انجام سانتریفیوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا و درون میکروتیوب جمع آوری شد و از این محلول برای سنجش شاخص ها استفاده شد.^{۲۰}

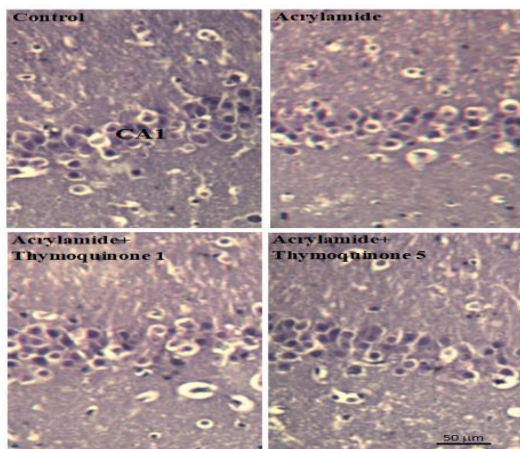
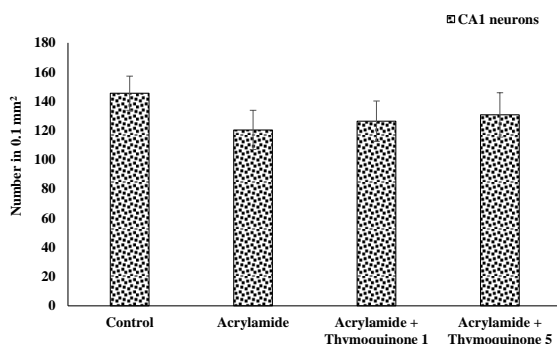
سنجش مالون دی آلدئید (MDA): اندازه گیری سطح مالون دی آلدئید بر اساس روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتریک اسید (TBA) است که این واکنش در دمای جوش انجام می گیرد. در این روش مالون دی آلدئید و یا مواد مشابه آن با تیوباربیتریک اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می کنند که حداکثر جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر است. برای این کار از نمونه های سانتریفیوژ شده به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به ۲ سی سی معرف (شامل یک سی سی محلول تری کلرواستیک اسید) TCA ۲۰ درصد و یک سی سی تیوباربیتریک اسید (TBA) یک درصد اضافه شد. تمامی نمونه ها و لوله های استاندارد (فالكون ها) را با رقت های مختلف، به مدت ۸۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار دادیم تا واکنش صورت گیرد. سپس محلول ها از بن ماری خارج شدند و بعد از سرد کردن نمونه ها، درون لوله آزمایش ریخته شدند و در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت های تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب های نوری به دست آمده از نمونه ها بر روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد.^{۲۱}

سنجش پروتئین به روش برادفورد: روش حاضر برای یک حجم نمونه ۱۰۰ میکرولیتری با استفاده از ۵ میلی لیتر معرف رنگ توصیف شده است. این مقدار به ۵ تا ۲۰۰ میکروگرم پروتئین (بسته به کیفیت رنگ) حساس است. با استفاده از ۵ میلی لیتر از معرف رنگ تهیه شده در آزمایشگاه، محدوده حساسیت هنگام سنجش، بین ۵ تا ۱۰۰ میکروگرم پروتئین است. برای تهیه معرف برادفورد، ۱۰۰ میلی گرم رنگ coomassie brilliant blue G-250 در ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد و ۱۰۰ میلی لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد به آن اضافه گردید و وقتی که رنگ کاملاً حل شد؛ حجم آن به یک لیتر رسانده شد و قبل از استفاده، محلول مذکور از صافی کاغذی عبور داده شد. دستگاه اسپکتروفوتومتر روشن و آماده شد. درون هر لوله آزمایش، ۲ سی سی از محلول معرف برادفورد به اضافه ۱۰۰ میکرولیتر نمونه ریخته شد و ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه انکوبه گردید. نهایتاً محلول حاوی نمونه اضافه شده، درون کووت دستگاه اسپکتروفوتومتر ریخته شد و جذب نوری نمونه ها توسط دستگاه در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.^{۲۱}

و بارز نسبت به گروه کنترل کمتر بود ($P < 0.01$). به علاوه، این پارامتر در گروه آکریل‌آمید دریافت کننده تیموکینون در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه آکریل‌آمید نشان داد ($P < 0.05$). در گروه آکریل‌آمید دریافت کننده تیموکینون در دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم علی‌رغم افزایش مختصر اما تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با گروه آکریل‌آمید مشاهده نشد.



شکل ۳: میزان گلوتاتیون احیا در گروه‌های کنترل، آکریل‌آمید و آکریل‌آمید تیمار شده با تیموکینون در دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($n=7$ در هر گروه).
* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل
$P < 0.05$ در مقایسه با گروه آکریل‌آمید

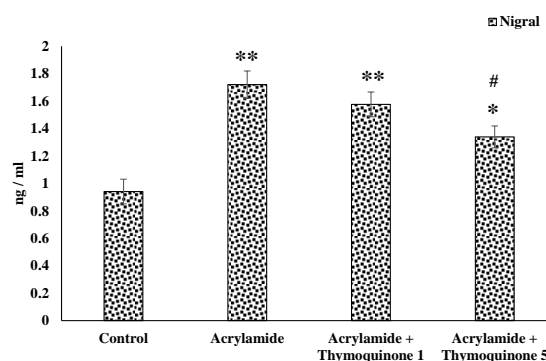


شکل ۴: نمای هیستولوژی هیپوکامپ و تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف ($n=5$ در هر گروه) در رنگ آمیزی نیسل (کرزیل و پوله). خط مقیاس = ۵۰ میکرومتر

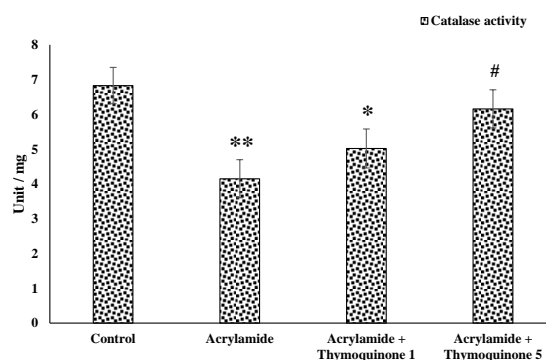
برای رسم نمودارها از برنامه اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد. سطح معنی‌داری تمامی آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به میزان MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های مورد مطالعه در شکل یک آمده است. این پارامتر در گروه دریافت کننده آکریل‌آمید به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ($P < 0.01$). به علاوه، این پارامتر در گروه آکریل‌آمید دریافت کننده تیموکینون در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه آکریل‌آمید نشان داد ($P < 0.05$). در گروه آکریل‌آمید دریافت کننده تیموکینون در دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم علی‌رغم کاهش جزئی اما تفاوت معنی‌داری در سطح MDA در مقایسه با گروه آکریل‌آمید یافت نشد.



شکل ۱: میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های کنترل و آکریل‌آمید تیمار شده با تیموکینون در دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($n=7$ در هر گروه).
* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل
$P < 0.05$ در مقایسه با گروه آکریل‌آمید



شکل ۲: میزان فعالیت کاتالاز در گروه‌های کنترل، آکریل‌آمید و آکریل‌آمید تیمار شده با تیموکینون در دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($n=7$ در هر گروه).
* $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل
$P < 0.05$ در مقایسه با گروه آکریل‌آمید

نتایج فعالیت کاتالاز در گروه‌های مورد مطالعه در شکل ۲ نشان داده شده است. این پارامتر در گروه آکریل‌آمید به صورت معنی‌دار

حیوانات آزمایشگاهی می‌شود و این کار را با افزایش سرکوب mRNA و پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش TNF α در قشر مغز نشان داده است.^{۲۶} همچنین تحقیقات نشان داده که آب و غذای آلوده به آکریل آمید می‌تواند به عنوان محرک آسم آلرژیک عمل کرده و پاسخ‌های التهابی برونش را تشدید کند. آکریل آمید این کار را با کاهش SOD و کاتالاز و افزایش IL-4، IL-5، MDA، IL-1 β و انجام داده است.^{۲۷} در بررسی حاضر کاهش کاتالاز و افزایش MDA به دست آمد که احتمالاً می‌تواند نشان‌دهنده اثرات سمی آکریل آمید بر بافت مغز باشد. از طرفی آکریل آمید توانست باعث ایجاد کولیت اولسراتیو و تشدید آن شده و از طریق استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی سبب آسیب مخاط کولون شود و این کار را با افزایش SOD، MDA، NO، MPO، TNF- α ، IL-6، IL-1 β ، کاتالاز انجام داده است.^{۲۸} در بررسی حاضر نیز کاهش گلوکوتایون مشاهده شد که احتمالاً نشان‌دهنده اثر سمیت عصبی آکریل آمید است. به خوبی مشخص شده است که آسیب اکسیداتیو و التهاب سبب اختلال حافظه و یادگیری می‌شوند و یک ارتباط نزدیک بین درجه آسیب اکسیداتیو با نقایص حافظه و یادگیری وجود دارد. استرس اکسیداتیو پلاستیسته سیناپسی و عملکرد شناختی را مختل می‌کند. این فرایند در برخی اختلالات نورودژنراتیو و روند پیری دیده می‌شود. به علاوه ROS ممکن است سبب التهاب عصبی از طریق افزایش تولید سیتوکین‌ها و کموکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- α شود که منجر به از دست رفتن سیناپس‌ها و نقایص شناختی متعاقب آن می‌شود.^{۲۹-۳۲} بنابراین مطالعات مختلف سعی کردند عوامل حفاظت‌کننده عصبی را در سمیت عصبی ناشی از آکریل آمید با تمرکز روی مهار مسیرهای استرس اکسیداتیو جست‌وجو کنند. شواهد مختلفی اثرات آنتی‌اکسیدان و حفاظت‌کننده عصبی تیموکینون را نشان داده‌اند. در یک مطالعه تجویز تیموکینون به طور معنی‌داری صدمه کلیه به دنبال آسیب ایسکمی و خون‌رسانی مجدد از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داد.^{۳۳} تیموکینون یک ماده فعال جدا شده از سیاهدانه است و دارای فعالیت‌های دارویی مختلفی مانند محافظت در برابر استرس اکسیداتیو، التهاب و عفونت است. علاوه بر این، ممکن است یک عامل عصبی دارویی بالقوه باشد زیرا پتانسیل همه‌کاره‌ای را برای کاهش آسیب‌های عصبی نشان می‌دهد. این دارای اثرات مفید بیشتری در التهاب عصبی و سمیت عصبی ناشی از سم است. در مدل‌های مختلف اختلالات عصبی، عملکردهای اضطرابی از جمله محافظت از بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی مختلف و سایر بیماری‌های عصبی، مانند سکنه مغزی، اسکیزوفرنی و صرع را نشان می‌دهد. TQ همچنین اثرات بالقوه‌ای در میانجی‌تروما و آسیب‌های سیستم عصبی مرکزی ناشی از مواد شیمیایی، تشعشع و

شکل ۳ نتایج مربوط به میزان گلوکوتایون احیا در موش‌های گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. این پارامتر در گروه آکریل آمید به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل کمتر بود ($P < 0/01$). به علاوه، این پارامتر در گروه آکریل آمید دریافت‌کننده تیموکینون در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه آکریل آمید نشان داد ($P < 0/05$). در گروه آکریل آمید دریافت‌کننده تیموکینون در دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم علی‌رغم افزایش مختصر اما تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکوتایون در مقایسه با گروه آکریل آمید مشاهده نشد.

شکل ۴ نتایج مربوط به تراکم نورون‌های ناحیه CAI هیپوکامپ را در موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. علی‌رغم کاهش اندک تعداد نورون‌ها در گروه آکریل آمید اما تفاوت آن با گروه کنترل معنی‌دار نبود. در گروه‌های آکریل آمید دریافت‌کننده تیموکینون در دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز تعداد نورون‌های ناحیه CAI هیپوکامپ اندکی بیشتر از گروه آکریل آمید بود؛ اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بحث

نتایج مطالعه ما در خصوص وضعیت پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکامپ مغز نشان داد مواجهه با آکریل آمید به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی سبب اختلال قابل توجه در پارامترهای استرس اکسیداتیو شامل افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید و کاهش سطح کاتالاز و گلوکوتایون احیا در مقایسه با گروه کنترل در موش‌های صحرایی می‌شود. تجویز تیموکینون به صورت وابسته به دوز و به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی سبب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و سطح گلوکوتایون احیا در مقایسه با گروه آکریل آمید گردید.

آکریل آمید یک ماده شیمیایی صنعتی است که باعث سمیت عصبی در پستانداران می‌شود؛ ولی به دلیل هزینه بالا و مشکلات موجود کمتر در پستانداران مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.^{۱۱} همچنین یک ماده نوروکسیک کاملاً شناخته شده است که به هر دو سیستم عصبی مرکزی و محیطی آسیب می‌زند. آتاکسی، ضعف عضلات اسکلتی و کاهش وزن بدن در اثر مواجهه با آکریل آمید در مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی گزارش شده است. القای استرس اکسیداتیو به دنبال تجویز آکریل آمید به عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم سمیت ناشی از آکریل آمید در مدل‌های داخل بدن یا داخل آزمایشگاه مختلف ذکر شده است. کاهش محتوی گلوکوتایون احیا، افزایش پروکسیداسیون لیپیدی، محتوی پروتئین کربونیل و رادیکال‌های هیدروکسیل در مسمومیت با آکریل آمید گزارش شده است.^{۲۳-۲۵} به علاوه آکریل آمید باعث نوروپاتی و آنسفالوپاتی در انسان و

کاهش سطح شاخص‌های استرس اکسیداتیو از جمله MDA و افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدان از جمله SOD، گلوکاتینون، کاتالاز و نیز کاهش شاخص‌های التهابی از جمله TNF α ، IL-6 و IL-1 β از آپوتوز جلوگیری کند و آسیب عصبی ناشی از کلرپیریفوس را کاهش دهد.^{۳۹}

به علاوه مطالعات دیگری نشان دادند که دانه‌های سیاهدانه ممکن است از تخریب استیل‌کولین جلوگیری و تخریب بیشتر نورون‌ها را مهار کند و ممکن است ویژگی‌های بهبود دهنده خفیفی در حافظه افراد مسن داشته باشد. توانایی قابل توجه سیاهدانه در مهار استیل‌کولین استراز با اثر بر محتوی TNF- α و گلوکاتینون مغز می‌تواند سبب اثرات حفاظت‌کننده عصبی از طریق مهار استرس اکسیداتیو در مغز باشد.^{۴۰}

عدم استفاده از ۳ دوز تیموکینون برای بررسی وابستگی به دوز دارو در این مدل از آسیب مغزی، عدم رنگ‌آمیزی همتوکسیلین ائوزین برای بررسی تغییرات التهابی و طراحی کوتاه مدت زمان مطالعه از محدودیت‌های این مطالعه به‌شمار می‌روند. توصیه می‌شود در مطالعات آتی پس از تزریق آکریل‌آمید فرصت بیشتری داده شود و طراحی دراز مدت چند هفته‌ای با تعداد نمونه بیشتر و روش‌های مختلف تجویز تیموکینون انجام شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تیموکینون به عنوان ماده موثر گیاه سیاهدانه با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو که در اثر تزریق داخل صفاقی آکریل‌آمید در بافت مغز موش‌های صحرایی مورد آزمایش ایجاد شده بود؛ گردید. اما به هر حال تجویز این ماده اثری بر تراکم نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ که در عملکردهای شناختی از جمله یادگیری و حافظه موثرند؛ نداشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای سیدجواد موسوی برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته پزشکی عمومی (شماره ۱۳۹۸-۷۲۶) از دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد بود. بدین وسیله به‌خاطر حمایت مالی از دانشگاه شاهد تشکر می‌نمایم. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Azami S, Roufegari-Nejad L. [The Effect of Red Grape Pomace Powder Replacement on Physical Characteristics and Acrylamide Content of Biscuit]. *Iranian J Nutr Sci Food Technol*. 2019; 14(1): 109-17. [Article in Persian]
2. Perera DN, Hewavitharana GG, Navaratne SB. Comprehensive Study on the Acrylamide Content of High Thermally Processed Foods. *Biomed Res Int*. 2021 Feb; 2021: 6258508. doi: 10.1155/2021/6258508

دارو دارد.^{۳۴} در مطالعه مهری و همکاران نیز تجویز تیموکینون به صورت وابسته به دوز و در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید را در کورتکس مغز در مقایسه با گروه تجویز آکریل‌آمید کاهش داد^{۳۵} که مشابه با نتایج مطالعه حاضر است.

در مطالعات گذشته علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی به اثرات ضدالتهابی و مهارکننده کولین استراز نیز به عنوان مکانیسم‌های احتمالی برای اثرات مفید تیموکینون و گیاه سیاهدانه اشاره شده است. با استفاده از مدل‌های حیوانی یک ارتباط بین مسیر پیام‌رسانی TNF- α با نیتریک‌اکسید سنتتاز در بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است. در مطالعه TAKA نیز کاهش NO₂ ناشی از تیموکینون موازی با کاهش بیان پروتئین iNOS بود. سلول‌های BV-2 فعال شده با لیپولی‌ساکارید یک افزایش سریع را در سیتوکین‌ها و کموکین‌های پیش‌التهابی اختصاصی نشان دادند که با افزودن تیموکینون کاهش یافت. این یافته‌ها نشان دهنده ماهیت ضدالتهابی قابل توجه تیموکینون بود.^{۳۶} نتایج مطالعات فوق به خوبی بیانگر اثرات ضدالتهابی گیاه سیاهدانه و ماده اصلی آن یعنی تیموکینون است. توانایی تیموکینون در مهار فعال‌سازی NF κ B و اهداف مولکولی آن می‌تواند عامل بیشتر اثرات ضدالتهابی آن به حساب بیاید. با توجه به نتایج این مطالعات، حفاظت در مقابل التهاب عصبی ممکن است به عنوان یک مکانیسم برای اثرات مفید تیموکینون روی عملکرد سیستم عصبی به ویژه یادگیری و حافظه موثر باشد.

تیموکینون یکی از اجزای اصلی موجود در دانه‌های سیاهدانه است و دارای عملکردهای بیولوژیکی مختلفی در التهاب، استرس اکسیداتیو، تومورها، پیری و کاهش سطح گلوکز خون است. در مطالعه‌ای تیموکینون مقدار ملکول‌های مرتبط با انرژی مانند ADP, AMP, Gmp، کراتین و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوکاتینون، اسید اسکوربیک و تورین را افزایش داد.^{۳۷} در مطالعه‌ای تیموکینون به‌طور قابل توجهی حافظه فضایی و LTP را بهبود بخشید و همچنین سطح فعالیت‌های MDA و SOD در بافت هیپوکامپ در موش‌های صحرایی بازیابی شد. تیموکینون توانست با تعدیل پارامترهای استرس اکسیداتیو، اختلال شناختی را کاهش داده و کمبود LTP را بهبود بخشد.^{۳۸} همچنین طبق تحقیقات، تیموکینون توانست نوروپاتی سمی ناشی از کلرپیریفوس را کاهش دهد. این ماده توانست با

3. Abt E, Robin LP, McGrath S, Srinivasan J, DiNovi M, Adachi Y, et al. Acrylamide levels and dietary exposure from foods in the United States, an update based on 2011-2015 data. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2019 Oct; 36(10): 1475-90. doi: 10.1080/19440049.2019.1637548
4. Powers SJ, Mottram DS, Curtis A, Halford NG. Acrylamide levels in potato crisps in Europe from 2002 to 2016. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2017

- Dec; 34(12): 2085-100. doi: 10.1080/19440049.2017.1379101
5. Adewale OO, Brimson JM, Odunola OA, Gbadegesin MA, Owumi SE, Isidoro C, et al. The Potential for Plant Derivatives against Acrylamide Neurotoxicity. *Phytother Res.* 2015 Jul; 29(7): 978-85. doi: 10.1002/ptr.5353
 6. Friedman M. Acrylamide: inhibition of formation in processed food and mitigation of toxicity in cells, animals, and humans. *Food Funct.* 2015 Jun; 6(6): 1752-72. doi: 10.1039/c5fo00320b
 7. Kopanska M, Muchacka R, Czech J, Batoryna M, Formicki G. Acrylamide toxicity and cholinergic nervous system. *J Physiol Pharmacol.* 2018 Dec; 69(6):847-58. doi: 10.26402/jpp.2018.6.03
 8. Kianfar M, Nezami A, Mehri S, Hosseinzadeh H, Hayes AW, Karimi G. The protective effect of fasudil against acrylamide-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Drug Chem Toxicol.* 2020 Nov; 43(6): 595-601. doi: 10.1080/01480545.2018.1536140
 9. Pan X, Wu X, Yan D, Peng C, Rao C, Yan H. Acrylamide-induced oxidative stress and inflammatory response are alleviated by N-acetylcysteine in PC12 cells: Involvement of the crosstalk between Nrf2 and NF- κ B pathways regulated by MAPKs. *Toxicol Lett.* 2018 May; 288: 55-64. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.02.002
 10. Nowak A, Zaklos-Szyda M, Źyzelewicz D, Koszucka A, Motyl I. Acrylamide Decreases Cell Viability, and Provides Oxidative Stress, DNA Damage, and Apoptosis in Human Colon Adenocarcinoma Cell Line Caco-2. *Molecules.* 2020 Jan; 25(2): 368. doi: 10.3390/molecules25020368
 11. Park JS, Samanta P, Lee S, Lee J, Cho JW, Chun HS, et al. Developmental and Neurotoxicity of Acrylamide to Zebrafish. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar; 22(7): 3518. doi: 10.3390/ijms22073518
 12. Dortaj H, Yadegari M, Hosseini Sharif Abad M, Abbasi Sarcheshmeh A, Anvari M. [Effects of Acrylamide and Vitamin C on Histological Changes and Stereological Parameters of Cerebellum in Rat Offsprings]. *Shefaye Khatam* 2014; 2(3): 9-18. doi: 10.18869/acadpub.shefa.2.3.9 [Article in Persian]
 13. Akhondian J, Kianifar H, Raoofziaee M, Moayedpour A, Toosi MB, Khajedaluee M. The effect of thymoquinone on intractable pediatric seizures (pilot study). *Epilepsy Res.* 2011 Jan; 93(1): 39-43. doi: 10.1016/j.eplesyres.2010.10.010
 14. Elmaci I, Altinoz MA. Thymoquinone: An edible redox-active quinone for the pharmacotherapy of neurodegenerative conditions and glial brain tumors. A short review. *Biomed Pharmacother.* 2016 Oct; 83: 635-40. doi: 10.1016/j.biopha.2016.07.018
 15. Shao Y, Feng Y, Xie Y, Luo Q, Chen L, Li B, et al. Protective Effects of Thymoquinone Against Convulsant Activity Induced by Lithium-Pilocarpine in a model of Status Epilepticus. *Neurochem Res.* 2016 Dec; 41(12): 3399-406. doi: 10.1007/s11064-016-2074-y
 16. Shao YY, Li B, Huang YM, Luo Q, Xie YM, Chen YH. Thymoquinone Attenuates Brain Injury via an Anti-oxidative Pathway in a Status Epilepticus Rat Model. *Transl Neurosci.* 2017 Mar; 8: 9-14. doi: 10.1515/tnsci-2017-0003
 17. Ullah I, Badshah H, Naseer MI, Lee HY, Kim MO. Thymoquinone and vitamin C attenuates pentylentetrazole-induced seizures via activation of GABAB1 receptor in adult rats cortex and hippocampus. *Neuromolecular Med.* 2015 Mar; 17(1): 35-46. doi: 10.1007/s12017-014-8337-3
 18. Asgharzadeh F, Bargi R, Beheshti F, Hosseini M, Farzadnia M, Khazaei M. Thymoquinone restores liver fibrosis and improves oxidative stress status in a lipopolysaccharide-induced inflammation model in rats. *Avicenna J Phytomed.* 2017 Nov-Dec; 7(6): 502-10.
 19. Zargar S, Siddiqi NJ, Ansar S, Alsulaimani MS, El Ansary AK. Therapeutic role of quercetin on oxidative damage induced by acrylamide in rat brain. *Pharm Biol.* 2016 Sep; 54(9): 1763-67. doi: 10.3109/13880209.2015.1127977
 20. Albazal A, Delshad AA, Roghani M. Melatonin reverses cognitive deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes in the rat through attenuation of oxidative stress and inflammation. *J Chem Neuroanat.* 2021 Mar; 112: 101902. doi: 10.1016/j.jchemneu.2020.101902
 21. Roghani M, Kalantari H, Khodayar MJ, Khorsandi L, Kalantar M, Goudarzi M, et al. Alleviation of Liver Dysfunction, Oxidative Stress and Inflammation Underlies the Protective Effect of Ferulic Acid in Methotrexate-Induced Hepatotoxicity. *Drug Des Devel Ther.* 2020 May; 14: 1933-41. doi: 10.2147/DDDT.S237107
 22. Ramazi S, Fahanik-Babaei J, Mohamadi-Zarch SM, Tashakori-Miyanroudi M, Nourabadi D, Nazari-Serenjeh M, et al. Neuroprotective and anticonvulsant effects of sinomenine in kainate rat model of temporal lobe epilepsy: Involvement of oxidative stress, inflammation and pyroptosis. *J Chem Neuroanat.* 2020 Oct; 108: 101800. doi: 10.1016/j.jchemneu.2020.101800
 23. LoPachin RM, Gavin T. Molecular mechanism of acrylamide neurotoxicity: lessons learned from organic chemistry. *Environ Health Perspect.* 2012 Dec; 120(12): 1650-57. doi: 10.1289/ehp.1205432
 24. Parzefall W. Minireview on the toxicity of dietary acrylamide. *Food Chem Toxicol.* 2008 Apr; 46(4): 1360-64. doi: 10.1016/j.fct.2007.08.027
 25. Pruser KN, Flynn NE. Acrylamide in health and disease. *Front Biosci (Schol Ed).* 2011 Jan; 3(1): 41-51. doi: 10.2741/s130
 26. Davuljigari CB, Ekuban FA, Zong C, Fergany AAM, Morikawa K, Ichihara G. Nrf2 Activation Attenuates Acrylamide-Induced Neuropathy in Mice. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun; 22(11): 5995. doi: 10.3390/ijms22115995
 27. Hajimohammadi B, Athari SM, Abdollahi M, Vahedi G, Athari SS. Oral Administration of Acrylamide Worsens the Inflammatory Responses in the Airways of Asthmatic Mice Through Agitation of Oxidative Stress in the Lungs. *Front Immunol.* 2020 Oct; 11: 1940. doi: 10.3389/fimmu.2020.01940
 28. Amirshahrokhi K. Acrylamide exposure aggravates the development of ulcerative colitis in mice through activation of NF- κ B, inflammatory cytokines, iNOS, and oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci.* 2021 Mar; 24(3): 312-21. doi: 10.22038/ijbms.2021.52233.11816
 29. Aliev G, Palacios HH, Gasimov E, Obrenovich ME, Morales L, Leszek J, et al. Oxidative Stress Induced Mitochondrial Failure and Vascular Hypoperfusion as a Key Initiator for the Development of Alzheimer Disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2010 Jan; 3(1): 158-87. doi: 10.3390/ph3010158
 30. Bisht K, Sharma K, Tremblay MÈ. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease: Roles of microglia-mediated synaptic remodeling, inflammation, and oxidative stress. *Neurobiol Stress.* 2018 May; 9: 9-21. doi: 10.1016/j.yjnstr.2018.05.003
 31. Huang TT, Zou Y, Corniola R. Oxidative stress and adult neurogenesis--effects of radiation and superoxide dismutase deficiency. *Semin Cell Dev Biol.* 2012 Sep; 23(7): 738-44. doi: 10.1016/j.semcdb.2012.04.003
 32. Milton VJ, Sweeney ST. Oxidative stress in synapse development and function. *Dev Neurobiol.* 2012 Jan; 72(1): 100-10. doi: 10.1002/dneu.20957
 33. Shaterzadeh-Yazdi H, Noorbakhsh MF, Samarghandian S, Farkhondeh T. An Overview on Renoprotective Effects of

- Thymoquinone. *Kidney Dis (Basel)*. 2018 Jun; 4(2): 74-82. doi: 10.1159/000486829
34. Jakaria M, Cho DY, Ezazul Haque M, Karthivashan G, Kim IS, Ganesan P, et al. Neuropharmacological Potential and Delivery Prospects of Thymoquinone for Neurological Disorders. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Mar; 2018: 1209801. doi: 10.1155/2018/1209801
35. Mehri S, Shahi M, Razavi BM, Hassani FV, Hosseinzadeh H. Neuroprotective effect of thymoquinone in acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2014 Dec; 17(12): 1007-11.
36. Taka E, Mazzi EA, Goodman CB, Redmon N, Flores-Rozas H, Reams R, et al. Anti-inflammatory effects of thymoquinone in activated BV-2 microglial cells. *J Neuroimmunol*. 2015 Sep; 286: 5-12. doi: 10.1016/j.jneuroim.2015.06.011
37. Tian F, Liu R, Fan C, Sun Y, Huang X, Nie Z, Zhao X, Pu X. Effects of Thymoquinone on Small-Molecule Metabolites in a Rat Model of Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Assessed using MALDI-MSI. *Metabolites*. 2020 Jan; 10(1): 27. doi: 10.3390/metabo10010027
38. Hajipour S, Farbood Y, Dianat M, Rashno M, Khorsandi LS, Sarkaki A. Thymoquinone improves cognitive and hippocampal long-term potentiation deficits due to hepatic encephalopathy in rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2021 Jul; 24(7): 881-91. doi: 10.22038/ijbms.2021.52824.11913
39. Aboubakr M, Elshafae SM, Abdelhiee EY, Fadl SE, Soliman A, Abdelkader A, et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Thymoquinone and Lycopene Mitigate the Chlorpyrifos-Induced Toxic Neuropathy. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Sep; 14(9): 940. doi: 10.3390/ph14090940
40. Fanoudi S, Alavi MS, Hosseini M, Sadeghnia HR. Nigella sativa and thymoquinone attenuate oxidative stress and cognitive impairment following cerebral hypoperfusion in rats. *Metab Brain Dis*. 2019 Aug; 34(4): 1001-10. doi: 10.1007/s11011-019-00394-4