

بررسی اثرات سیاه دانه بر آترواسکلروز و عوامل خطر جدید آن در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک

صدیقه عسگری*^۱، علی رضا قنادی^۲، شهریار ادیبی^۳، غلامرضا دشتی^۴، غلامعلی نادری^۵، علی رضا هلالات^۱، نرگس جعفری دینانی^۵

چکیده

مقدمه: آترواسکلروز شایعترین علت مرگ و میر در اکثر کشورهای صنعتی است و تحقیقات بسیاری برای حل مشکلات مربوط به این بیماری در حال انجام است. امروزه بدلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. در این مطالعه نیز اثرات سیاه دانه (*Nigella sativa L.* (Ranunculacea) بر روی آترواسکلروز و بعضی فاکتورهای موثر در ایجاد آن در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک بررسی شده است.

روش‌ها: به این منظور ۱۵ سر خرگوش نر بالغ به ۳ گروه آزمایشی [گروه معمولی، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول)، گروه پرکلسترول (۱٪ کلسترول) + سیاه دانه (۵٪ سیاه دانه)] تقسیم شدند و به مدت ۸ هفته تحت رژیمهای غذایی قرار گرفتند. در ابتدا و انتهای مطالعه نمونه خون خرگوش‌ها برای بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی و در انتهای مطالعه عروق کرونر راست و چپ و آئورت برای بررسی میزان تشکیل Fatty streak به کار برده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهند که مصرف سیاه دانه به همراه رژیم پرکلسترول سبب کاهش معنی دار کلسترول و LDL کلسترول و همچنین کاهش معنی دار میزان تشکیل fatty streak در آئورت، کرونر راست و چپ می‌گردد. در ضمن این گیاه سبب افزایش غیر معنی دار HDL کلسترول و کاهش غیر معنی دار تری گلیسرید، CRP، LDL-اکساید در این گروه می‌شود. **نتیجه‌گیری:** می‌توان گفت سیاه دانه از طریق تاثیر بر لیپوپروتئین های سرم، اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، اثرات بسیار مفید و مطلوبی در جلوگیری از پیشرفت بیماری آترواسکلروز دارد.

واژگان کلیدی: آترواسکلروز، سیاهدانه، رگه چربی، هیپرکلسترولمیک، خرگوش

- ۱- مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۲- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۳- مرکز تحقیقات پروفیسور ترابی نژاد
- ۴- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۵- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

* **نشانی:** اصفهان، میدان جمهوری اسلامی، خیابان خرم، مجتمع مراکز درمانی تحقیقاتی حضرت صدیقه طاهره (س)؛ صندوق پستی: ۸۱۴۶۵-۱۱۴۸؛ تلفن: ۳۳۵۹۶۹۶ و ۳۳۵۹۷۹۷-۳۲۱۱؛ نمابر: ۰۳۲۵-۳۳۷۳۴۲۵؛ پست الکترونیک: s_asgari@crc.mui.ac.ir

مقدمه

رسوب پلاک‌هایی شامل کلسترول و مواد چربی همراه با بافت فیبروزی و رسوبات نمک‌های کلسیمی در ایتیمیا و یا در دیواره داخلی شریان‌های بزرگ و متوسط اندام‌های مختلف موجب ایجاد آترواسکلروز می‌گردد [۱]. آترواسکلروز فرایندی پیچیده است که نمی‌توان یک عامل خطر اصلی برای آن مشخص نمود زیرا عوامل و فاکتورهای مختلف با یکدیگر درگیر می‌شوند [۲]. از عوامل خطر ساز مهم می‌توان به دیس لیپیدمی، عوامل عفونی، پرفشاری خون، میانجیگرهای التهابی، وقایع گلیکوزیله شدن و تمام وقایعی که شوک اکسیداتیو را افزایش می‌دهند اشاره نمود [۳-۵].

از آنجایی که آترواسکلروز به عنوان یک بیماری التهابی در نظر گرفته می‌شود التهاب و عوامل تاثیر گذار بر آن نیز از عوامل خطر ساز بالقوه هستند [۶، ۷] و مطالعات نشان می‌دهند که پروتئین‌های تولید شده در مراحل حاد (فیبرینوژن و بویژه CRP) ارزش پیشگویی ریسک بیماری‌های قلبی عروقی دارند [۸].

کنترل این عوامل خطر ساز در پیشگیری از آترواسکلروز مهم است و امروزه استفاده از گیاهان دارویی برای کنترل عوامل خطر مورد توجه قرار گرفته است [۹].

سیاهدانه (*Nigella sativa L (Ranunculacea)*) گیاهی دارویی است که سابقه مصرف این گیاه به بیش از ۲ هزار سال قبل برمی‌گردد و در طب سنتی بسیاری از کشورها به عنوان ضدنفخ، ضدانگل، مسهل، مدر، ضد تب و ... استفاده‌های بسیاری داشته است. دانه‌های آن حاوی ۴۰-۳۲٪ روغن جامد و ۴۵-۴۰٪ روغن فرار است. وجود ترکیبات مختلف دیگر مانند قندها، صمغ ساپونین، استرول‌های گیاهی و الکلئوئید نیز در آن گزارش شده است [۱۰]. مطالعات کلینیکی و حیوانی نشان می‌دهند که عصاره سیاهدانه اثرات درمانی متعددی شامل ضد باکتریایی [۱۱]، کاهنده فشارخون [۱۲]، هپاتوپروتکتیو [۱۳]، آنتی‌دیابتیک [۱۴] دارد. دانه‌های سیاه دانه در طب گیاهی اغلب کشورها برای معالجه آسم، اسهال و دیس لیپیدمی به کار می‌رود [۱۵]. عصاره این گیاه و ترکیب فعال اصلی آن، تیموکینون خاصیت آنتی‌اکسیدانی [۱۶ و ۱۷] و ضد التهابی [۱۸] دارد.

روغن آن نیز برای معالجه بیماری‌های التهابی به کار می‌رود و خصوصیت آنتی‌اکسیدان دارد [۱۵ و ۱۹]. همچنین مشخص گردیده که سیاه دانه سمیت بسیار کمی دارد. سمیت حاد و مزمن بسیار کم آن و عدم تغییر در آنزیم‌های کبدی و عدم ایجاد تغییرات بافت شناسی در اندامهایی مثل کلیه، کبد، قلب، کبد و پانکراس، در رت‌های تیمار شده با سیاه دانه به اثبات رسیده است [۲۰]. مصرف سیاهدانه در طب سنتی، وجود خصوصیات مفید و تاثیرگذار بر عوامل خطر آترواسکلروز و سمیت بسیار پایین آن ما را بر آن داشت تا اثر این گیاه را بر پیشرفت بیماری آترواسکلروز در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک و همچنین تاثیر آن بر عوامل هماتولوژیکی را بررسی نماییم.

روش‌ها

گروه بندی و تیمار خرگوش‌ها: ۱۵ سر خرگوش نر سفید بالغ از نژاد داج پولیش با وزن متوسط ۲/۵ - ۲ kg و سن ۱۰ هفته از انستیتو پاستور ایران خریداری و به لانه حیوانات مرکز تحقیقات پروفیسور ترابی نژاد انتقال یافتند. به منظور تطابق با محیط، خرگوش‌ها به مدت ۲ هفته تحت رژیم پایه Super Fosskorn Standard Rabbit Chow قرار گرفتند و سپس بصورت تصادفی به ۳ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه معمولی، گروه پرکلسترول (۱٪ کلاسترول)، گروه پرکلسترول (۱٪ کلاسترول) + سیاه دانه (۵٪ سیاه دانه). خرگوش‌ها به مدت ۸ هفته تحت رژیم‌های غذایی گفته شده قرار گرفتند.

سیاه دانه 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، گیاه شناس هرباریوم دانشکده داروسازی شیراز تأیید گردید.

برای تهیه رژیم غذایی حاوی سیاه دانه، سیاه دانه توسط دستگاه آسیاب برقی پودر و به منظور تهیه پودر یکنواخت با دستگاه مش شماره ۲۰ غربالگیری شد. سپس ۵ گرم از این پودر به ۹۵ گرم غذای پایه پودر شده اضافه گردید. پودر حاصله به دقت مخلوط و توسط مقداری آب مرطوب و بعد از قالبگیری خشک گردید. برای تهیه رژیم

نقطه های چربی به میزان متوسط درجه دو، وجود رگه ها و نقطه های چربی به میزان زیاد درجه سه، وجود رگه ها و نقطه های چربی در قسمت اعظم عروق درجه چهار [۲۲].

آنالیز آماری

نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار با منظور نمودن انحراف معیار نمونه ها ارائه شده است. برای مقایسه آماری از نرم افزار SPSS.13 استفاده شد. برای مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی و هیستولوژی اندازه گیری شده ما بین گروه ها، از تست Kruskal-wallis و برای انجام مقایسه دو به دو از تست Mann-Whitney استفاده شد. برای مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی درون هر گروه از تست Mc-nemar استفاده شد.

یافته ها

همانطور که در نمودار ۱ و جدول ۱ مشخص است، رژیم پرکلسترول سبب افزایش معنی دار غلظت کلسترول تام، تری گلیسرید، LDL، HDL و آپولیپوپروتئین B (Apo-B) در مقایسه با گروه معمولی گردید. ($P < 0/05$). این رژیم بصورت غیرمعنی دار سطح نشانگرهای اکسیداتیو (ox-LDL) را افزایش و ظرفیت آنتی اکسیدانی را کاهش داد (جدول ۱). در ضمن سطح نشانگر التهابی (CRP) نیز بصورت غیرمعنی دار افزایش یافت (جدول ۱).

در خرگوش هایی که همراه با رژیم پرکلسترول از سیاه دانه استفاده کرده اند، کاهش معنی داری در سطح کلسترول تام و LDL، افزایش غیر معنی دار در سطح HDL و کاهش غیر معنی دار در سطح TG، CRP، ox-LDL در مقایسه با گروه پرکلسترول مشاهده شد ($P < 0/05$). (نمودار ۱ و جدول ۱). در بقیه فاکتورها تغییر معنی داری مشاهده نمی شود.

نمودار ۲ نشان دهنده میانگین میزان Fatty streak تشکیل شده به ترتیب در کرونر راست، کرونر چپ و آئورت گروه های آزمایشی می باشد. میزان Fatty streak تشکیل شده در آئورت، کرونر راست و چپ گروه پرکلسترول نسبت به گروه معمولی بصورت معنی دار افزایش یافته است ($P < 0/05$). مصرف سیاه دانه در گروه پرکلسترول +

پرکلسترول نیز ۱ گرم پودر کلسترول خالص (Merk) به ۹۹ گرم غذای پایه پودر شده اضافه گردید [۲۱].

اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی: قبل از شروع رژیم های غذایی و بعد از اتمام دوره مطالعه، نمونه خون خرگوش ها گرفته شد. خونگیری از قلب بدون بازکردن قفسه سینه و با وارد کردن سوزن سرنگ از روی پوست به درون قلب انجام گرفت و سرم و پلاسماي نمونه خون هر خرگوش جهت بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی به کار برده شد. کلسترول تام، تری گلیسرید، LDL کلسترول، HDL کلسترول با استفاده از کیت آنزیمی زیست شیمی و توسط دستگاه Hitachi 902 Automatic Analyzer و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اندازه گیری شد. نشانگرهای پلاسماي اکسیداتیو (LDL اکساید)، ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما، سطح Apo A و Apo B در مرکز تحقیقات قلب و عروق انجام گرفت. CRP با کیت پارس آزمون و با روش فوتومتری و ox-LDL با کیت immune diagnostic و به روش الیزا اندازه گیری شدند.

ظرفیت آنتی اکسیدانی نیز با روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. سطح Apo A و Apo B با کیت پارس آزمون و دستگاه Hitach 902 به روش توربیدومتری تعیین گردید. فاکتورهای Apo B، Apo A، CRP، ox-LDL فقط در انتهای مطالعه و بقیه فاکتورها در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه گیری شدند.

بررسی میزان تشکیل *fatty streak* در عروق: بعد از خونگیری، خرگوش ها توسط محلول پتوباریتال ۵٪ بیهوش و پس از شکافتن جدار قفسه سینه، قلب به همراه آئورت خارج گردید. از قلب و آئورت، کرونر راست و چپ هر خرگوش ۱ بلوک تهیه گردید و از هر بلوک ۳ لام و در هر لام ۳ برش به ضخامت ۴-۶ میکرون تهیه گردید. مقاطع بافتی تهیه شده از آئورت و کرونر راست و چپ (۴۰۵ مقطع بافتی) با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی و طبق روش ارزیابی زیر از لحاظ میزان تشکیل Fatty streak بررسی شدند. وجود سطح صاف عاری از هر گونه ضایعه درجه صفر، وجود رگه ها (Fatty streak) و نقطه های چربی (Fatty dots) به میزان کم درجه یک، وجود رگه ها و

سیاه دانه سبب کاهش معنی دار میزان تشکیل این فاکتور نسبت به گروه پرکلسترول شده است ($P < 0.05$).

جدول ۱- اثرات مصرف سیاه دانه بر فاکتورهای اندازه گیری شده در گروه های آزمایشی در انتهای مطالعه

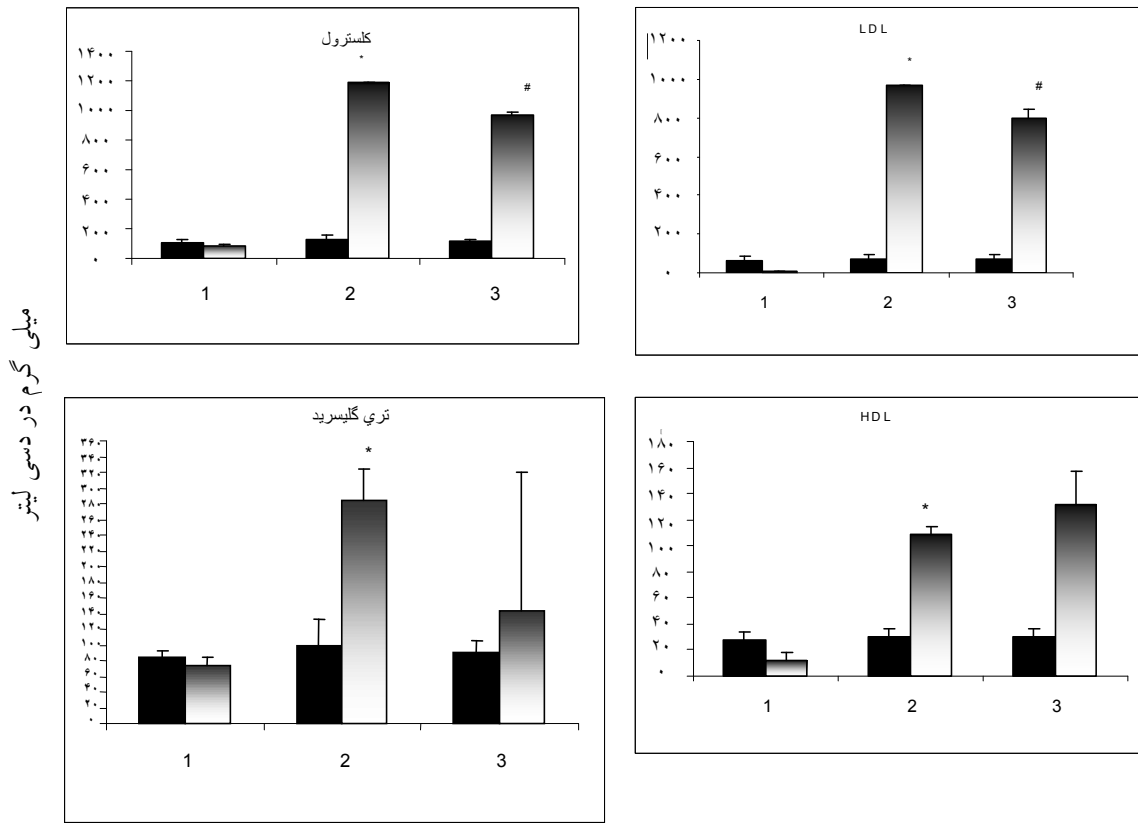
CRP mg/dl	Apo-A mg/dl	Apo-B mg/dl	Anti-ox% capacity	Ox-LDL ng/ml	
۱/۵±۰/۷	۳۰/۷۵±۳/۷۷	۷/۰±۲/۰۰	۴۱/۷±۶/۵	۱/۲۵±۰/۲	معمولی (تعداد=۵)
۲/۵±۱/۹	۳۹/۷۵±۵/۳۱	۶۲/۵±۱۳*	۳۷±۷/۴	۱/۶۷±۰/۳۸	پرکلسترول (تعداد=۵)
۱±۰/۷	۳۴/۵±۶/۹۵	۶۲/۵±۷/۳۲	۵۲/۹۵±۱۸/۹	۱/۴۵±۰/۱۹	پرکلسترول+ سیاه دانه (تعداد=۵)

داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است، نوع مطالعه: تجربی، آزمون Kruskal-wallis

* اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول در مقایسه با گروه معمولی ($P < 0.05$)

اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول+ سیاه دانه در مقایسه با گروه پرکلسترول ($P < 0.05$)

** $n=5$ سر خرگوش



۱: گروه معمولی (تعداد=۵)

۲: گروه پرکلسترول (تعداد=۵)

۳: گروه پرکلسترول+ سیاه دانه (تعداد=۵)

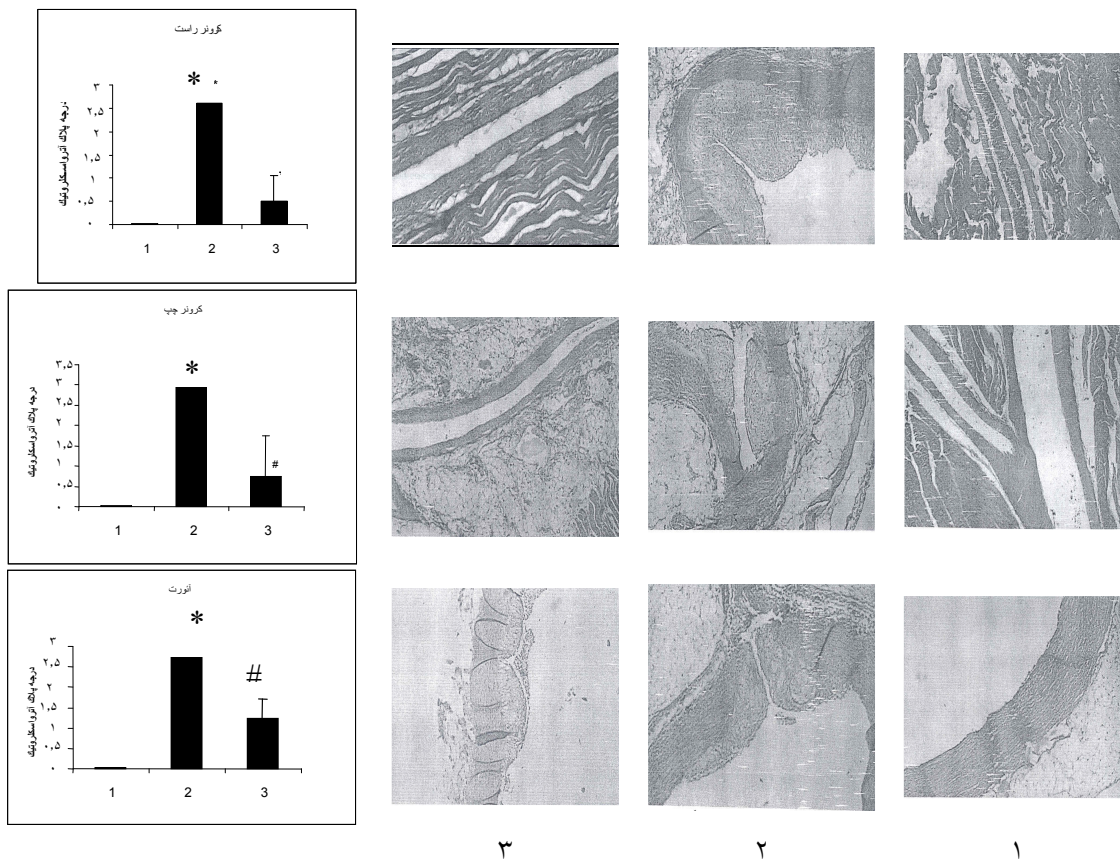
نمودار ۱- اثرات مصرف سیاه دانه بوسیله خرگوشهای تحت رژیم پرکلسترول روی میزان کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL

در یک مطالعه تجربی

داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. آزمون Kruskal-wallis

* اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول در مقایسه با گروه معمولی ($P < 0.05$)

اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول+ سیاه دانه در مقایسه با گروه پرکلسترول ($P < 0.05$)



نمودار ۲- اثرات مصرف سیاه دانه بوسیله خرگوشهای تحت رژیم پرکلسترول روی میزان تشکیل **fatty streak** در کرونر راست، چپ و آئورت در یک مطالعه تجربی

۱: گروه معمولی (تعداد=۵)، ۲: گروه پرکلسترول (تعداد=۵)، ۳: گروه پرکلسترول + سیاه دانه (تعداد=۵). داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده اند. آزمون Kruskal-wallis

* اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول در مقایسه با گروه معمولی ($P < 0/05$)

اختلاف معنی دار بین میانگین فاکتور در گروه پرکلسترول + سیاه دانه در مقایسه با گروه پرکلسترول ($P < 0/05$)

بحث

اثرات مطلوب بر روی لیپیدهای سرم (کاهش TG و TC و LDL و افزایش HDL) می شود [۲۴] Dahri و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با تحقیق بر روی موش های albino (تحت رژیم پرکلسترول) عنوان نمودند که مصرف سیاه دانه در این موش ها سبب کاهش معنی دار LDL و افزایش معنی دار HDL می گردد. (۲۵). در تحقیق صورت گرفته در سال ۲۰۰۴ توسط Maile مشخص گردید که عصاره خام سیاه دانه در رت ها به طور معنی دار سطح TG را کاهش و سطح HDL را افزایش می دهد [۲۶]. عصاره آبی این گیاه [۲۷] و روغن جامد آن [۲۸] نیز دارای این خصوصیت می باشند. روغن فرار سیاه دانه در پایین آوردن سطح کلسترول در حد Simvastatin عمل می کند [۲۹].

نتایج نشان می دهند که مصرف سیاهدانه سبب کاهش معنی دار میزان کلسترول تام، LDL و کاهش غیر معنی دار TG و افزایش غیر معنی دار HDL در گروه پرکلسترول + سیاهدانه در مقایسه با گروه پرکلسترول می شود. تاثیر مثبت بر سطح لیپوپروتئین های سرم در گزارش های دیگری نیز آمده اند از آن جمله: Bamosa و همکارانش گزارش نمودند که با مصرف دوبار در روز کپسول های حاوی ۱ گرم سیاهدانه سطح TG و TC افراد سالم کاهش می یابد [۲۳]. در تحقیق صورت گرفته بوسیله Dakhakhni و همکارانش در سال ۲۰۰۰ مشخص گردید که مصرف ۸۰۰ mg/Kg روغن سیاه دانه در رت ها به مدت ۴ هفته سبب ایجاد

از طریق کاهش میانجیگریهای التهابی مثل پروستاگلاندینها و لوکوترینها اثرات ضد التهابی دارد [۱۱]. کاهش غیر معنی دار CRP در گروه پرکلسترول + سیاهدانه در این تحقیق نیز تأییدی بر خاصیت ضد التهابی موجود در عصاره سیاه دانه است.

نتایج هیستولوژی نشان می دهند که مصرف سیاه دانه سبب کاهش میزان تشکیل رگه های چربی در آئورت، کرومر راست و چپ خرگوش های گروه پرکلسترول + سیاهدانه در مقایسه با گروه پرکلسترول می شود.

مطالعات نشان می دهند که رژیم های غنی از فیتواسترول از طریق تغییرات مناسب در مسیر متابولیسم لیپوپروتئین ها و مسیرهای التهابی اثرات آنتی آتروژنیک دارند و سبب کاهش معنی دار آترواسکلروز در موش های ناقص از لحاظ ApoE می شوند [۳۳]. سیاه دانه حاوی فیتواسترول های بتا سیتوسترول، استیگماسترول، کامپسترول و می باشد و نتایج این تحقیق نیز نشان می دهد که ترکیبات سیاهدانه سبب ایجاد تغییرات مناسب در سطح لیپوپروتئین ها، در سطح نشانگرهای التهابی و خصوصیات آنتی اکسیدانی پلاسما می شود. وجود فیتواسترول ها در سیاهدانه و ایجاد تغییرات مطلوب توسط این گیاه این انتظار را ایجاد می کند که سیاه دانه سبب کاهش ایجاد ضایعات آترواسکلروتیک در خرگوش های دریافت کننده این گیاه باشد که نتایج نیز این مطلب را تصدیق می کنند.

در پایان بعنوان نتیجه گیری می توان گفت سیاه دانه اثرات مثبتی بر جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروز و کنترل عوامل خطر ساز این بیماری در خرگوش های هیپرکلسترولمیک دارد ولی برای استفاده در مدل های انسانی مطالعات گسترده تری در این مورد بایستی انجام شود.

مطالعات نشان می دهند که میزان ox-LDL بیشتر از میزان LDL رابطه مستقیم با بیماری آترواسکلروز دارد. تشکیل Fatty streak (مرحله اولیه در آتروژنز) که مجموعه ای از foam cell ها هستند، زمانی صورت می گیرد که LDL دچار تغییر مثلاً اکسیداسیون شده باشد. این LDL توسط رسپتور اسکاونجر ماکروفاژها و سلول های ماهیچه صاف گرفته می شود که از قدرت تنظیم برخوردار نیستند. بنابراین با جلوگیری از اکسید شدن LDL می توان از پیشرفت بیماری جلوگیری کرد و مطالعات متعدد در مدل های آترواسکلروزی مختلف قویا پیشنهاد می کنند که پیشرفت آترواسکلروز می تواند با کاربرد آنتی اکسیدانها به تاخیر بیفتد [۳۰]. در مطالعه حاضر میزان LDL اکسید شده در گروه پرکلسترول + سیاهدانه در مقایسه با گروه پرکلسترول بصورت غیر معنی دار کاهش یافته است و بیانگر این مطلب است که عصاره سیاه دانه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. نتایج مربوط به ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما نیز این مسئله را تصدیق می کنند. ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در گروه پر کلسترول + سیاهدانه در مقایسه با گروه پرکلسترول بصورت غیر معنی دار افزایش یافته است. Meral و همکارانش در سال ۲۰۰۱ عنوان نمودند که مصرف سیاهدانه توسط خرگوش های دیابتی سطح افزایش یافته پراکسید لیپیدها را به سطح نرمال برمی گرداند [۳۱]. تیموکینون و متابولیت های آن دی هیدروتیموکینون مانع پراکسیداسیون غیر آنزیمی لیپیدها در کبد موش می شوند. همچنین این ماده صدمات کلیوی ایجاد شده بوسیله رادیکال های آزاد در رت و موش را تقلیل می دهد [۳۲]. این ماده از طریق افزایش سیستم اسکاونجر اکسیدانها اثرات آنتی اکسیدانی و در نتیجه اثرات ضد سمی را القا می کند [۱۱]. عصاره سیاه دانه علاوه بر اثرات آنتی اکسیدانی، اثرات ضد التهابی نیز دارد. تیموکینون

مآخذ

1. Witztum J. Thematic Reviews on The pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2004; 45: 991-992.
2. Keaneyt J. Atherosclerosis: from lesion formation to plaque activation and endothelial dysfunction. *Mol Aspects Med* 2000; 21: 99-166.
3. Katsuyuki N, Takamitsu N, Akira T. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta* 2006; 367: 36-47.
4. Clermont P, Creager M, Lorsordo D, Gregory k, Dzau V. Atherosclerosis: recent discoveries

- and novel hypophyses. *Circulation* 2005; 112: 3348-3353.
5. Maurizio A, Ulisse G, Pierfrancesco A, Massimiliano F, Anna F, Cristina N. Plasma levels of oxidized-low-density lipoproteins are higher in patients with unstable angina and correlated with angiographic coronary complex plaques. *Atherosclerosis* 2006; 185: 114-120
 6. Fuster V, Alexander R, Rourke R. *Hurst's the heart*, 11th edition. New York: Mc Graw-Hill; 2005.
 7. Yasuaki D, Hiroyuki T, Koichi S, Ryuzo U. Association among C-reactive protein, oxidative stress, and traditional risk factors in healthy Japanese subjects. *Intern J Cardiology* 2007; 115: 63-66.
 8. Boaz D R, Mary C, Khurram N, David A B, Thor E, Verônica F. Relationship Between C-Reactive Protein Levels and Regional Left Ventricular Function in Asymptomatic Individuals: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J of the Am College of Cardiology* 2007; 49: 594-600
 9. Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Lonso D, Lameson J. *Haerrison's principles of internal medicine*, 6th edition. New York: Mc Graw-Hill; 2005.
 10. Randhawa, M.A, Al Ghamdi M. Areview of the pharmaco-therapeutic effects of nogella-sativa. *Pakistan J Med Res* 2002; 41: 344-353.
 11. Salem M. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005;5:13-14.
 12. Zaoui A, Cherah M, Lacaille-Dubois A, settaf H, Hassar M. piuretic and hypotensive effects of negella sativa in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie* 2000; 55: 379-382.
 13. Turkdogan M, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan H , Avci M. The role of antioxidant vitamins (C and E) selenium and *Nigella sativa* in the prevention liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. *Dtsch tierarzti wochenschr* 2001; 108:71-73.
 14. Kanter M, Coskum O, Korkmaz A. 2004. Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and B-Cell damage in streptozocin-induced diabetic rats. *Anat Res* 279: 685-691.
 15. Ali B, blunden G. Pharmacologycal and toxicological and toxicological properties of Nigella Sativa. *Phytother Res* 2003;17: 299-305.
 16. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research* 2000; 14: 323-328.
 17. Kruk I, Michalska T, Lichszted K, Klanda A , Aboul-Enein H. The effect of the mol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* 2000; 41:1059-1064.
 18. Al-Ghamdi. The antiinflammatroy , analgesic and antipyretic activity of Nigela sativa. *J of Ethnopharmacology* 2001; 76:45-48.
 19. Abdel-Wahhab M , Aly S. Antioxidant property of Nigella satava and syzygium aromatic in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol* 2005; 25:218-223.
 20. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassin N, Alaoui K, Amarouch H , Hassar M. Acute and choronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. *Phytomedicine* 2002; 9:69-74.
 21. Aydemir E, Uysal Q, Nisli A. Effect of defibrotide on aorta and brain malondialdehyde and antioxidants in cholesterol induced atherosclerotic rabbits. *Int J Clin Lab Res* 2000; 30: 101-107.
 22. Fisher B, Mortenseb F, Hansen P, Ibsen H. Atherosclerosis in watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. Evaluation by microscopic and biochemical methods and comparison of atherosclerosis variables. *APMIS* 1994; 102:177-190.
 23. Bamosa A, Ali B, Sowayan S. Effect of oral ingestion of *Nigella sativa* seed on some blood parameters. *Saudi Pharm J* 1997; 5: 126-9.
 24. Dakhakhny M, Mady N , Halim A. *Nigella sativa* l. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile inrats. *Arzneimittle for schung* 2000; 50:833-836.
 25. Dahri A, Chandiol A, Memon R. Effect of *Nigella sativa* on serum cholesterol of albino rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2002; 17: 72-4.
 26. Mail P, Andaloussi A, Elimadi A, Settaf A, Cherrah Y, Haddad P. The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid lowering and insulin-sensitizing actions in the rat. *Journal of ethnopharmacology* 2004 ; 94:251-259.
 27. Labhal A, Settaf A, Bennani n, Cherrah Y, Slaoui A, Hassar M. Action anti-obestic et hypocholestrolemiante de *Nigella Sativa* chez le rat des sables. *Caducee* 1997 ; 27: 26-28.
 28. Zaoui A, Cherrah Y, Aloui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. Effect of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 23-6
 29. Settaf A, Berrada Y, Haddad P, Cherrah Y, Hassar M and Slaoui A. Volatile oil of *Nigella Sativa* lowers plasma lipids and insulin in obes hyperlipidemic sand rat. *6th International congress on ethnopharmacology* 2000; P2A/36.
 30. Young I , Mceneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerois. *Biochemical society transactions* 2001; 29:358-362.
 31. Meral I, Donmez N, Baydas B, Belge F, Kanter M. Effect of *Nigella sativa* on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *J lab Anim Sci* 2004: 49-53.
 32. Badary O, A-del-Naim A, Abdel-Wahab M, Hamada F. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology* 2000; 143: 219-226.
 33. Nashed B, Yeganeh B, Hayglass K, Moghadasian M. Antiatherogenic effects of dietary plant sterols are associated with inhibition of proinflammatory cytokine production in Apo E-Ko mice. *J Nutr* 2005;135: 2438-24