

## تأثیر ترکیب سیاهدانه و عسل (دوسین) بر حافظه و یادگیری در موش های صحرائی نر بالغ با القای کم کاری تیروئید

پریسا پورزل<sup>۱</sup>، مختار مختاری<sup>۲</sup>، مهرداد شریعتی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۲- استاد، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران. نویسنده مسئول: mo.mokhtari246@gmail.com

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** کم کاری تیروئید باعث اختلالات حافظه و یادگیری و کاهش عملکرد شناختی میشود. این مطالعه به منظور تعیین تأثیر دوسین (سیاهدانه و عسل) بر روی یادگیری و حافظه در موش های صحرائی نر بالغ بدنبال القای کم کاری تیروئید انجام شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۲۵ g و سن حدود ۳-۲/۵ ماه به شش گروه ده تایی تقسیم شد. گروه کنترل (Ctl) هیچ دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد (Sham) دریافت کننده ی یک میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲۱ روز، گروه تجربی ۱ کم کاری تیروئید (Hypo) که داروی متیمازول به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بصورت گاوژ به مدت ۱۰ روز دریافت کرد، گروه تجربی ۲ دریافت کننده ی دوسین به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز، گروه های تجربی ۳ و ۴ که علاوه بر القای هیپوتیروئیدیسم به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز بصورت گاوژ دریافت کردند. اختلالات حافظه و یادگیری در حیوانات با آزمون ماز آبی موریس ارزیابی شد.

**نتایج:** در ماز آبی موریس، زمان و مسیر طی شده برای رسیدن به سکو در گروه تجربی ۱ (Hypo) نسبت به گروه کنترل (Ctl) در روزهای سوم و چهارم بیشتر بود. زمان و مسیر طی شده در گروه تجربی ۳ و ۴ در روز سوم به طور معنی داری از گروه تجربی ۱ کمتر بود. نتایج حافظه فضایی نشان داد که میانگین زمان سپری شده در ربع هدف در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافته است. همچنین افزایش معنی داری در میانگین زمان و مسافت سپری شده در ربع هدف در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه تجربی ۱ مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهد که درمان با عصاره دوسین ممکن است اثرات مضر کم کاری تیروئید را بر یادگیری و حافظه

بهبود بخشد.

**کلمات کلیدی:** دوسین، هیپوتیروئیدیسم، حافظه، یادگیری، رت

مقدمه:

که دارای خواص بیولوژیکی مختلف، از جمله اثرات آنتی اکسیدانی قوی میباشد. عسل به عنوان یک محصول دارای ترکیبات اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها از واکنش اتواکسیداسیون جلوگیری کرده و اثر مهارکنندگی قوی بر روی رادیکالهای آزاد با مکانیسمهای مختلف دارند(۱۱). تا کنون مطالعات متعددی بر روی اثرات محافظتی نورونی(۱۲)، ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی(۱۳) عسل نشان داده شده است. همچنین مطالعاتی متعددی جهت ارزیابی تاثیرگذاری عسل بر بهبود عملکردهای شناختی و حافظه صورت گرفته است(۱۴). حقیقتاً تاکنون در زمینه ی استفاده از مخلوط ترکیب سیاهدانه و عسل جهت بهبود اختلالات عملکرد حافظه، مطالعه ای انجام نگرفته است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر ترکیب سیاهدانه و عسل (دوسین) بر روی یادگیری و حافظه در موش صحرایی نر مبتلا به کم کاری تیروئید بود.

### مواد و روش ها :

تحقیق حاضر از نوع مداخله ای- تجربی بود. در این مطالعه، از ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۲۵ g و سن ۳-۲/۵ ماه استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه شد. درجه حرارت محیط  $23 \pm 2$  درجه سانتیگراد در طول شبانه روز بود و در شرایط نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. این مطالعه در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی با اختصاص کد IR.IAU.IAUG.REC.1399.002 به تأیید رسیده است. برای القای مدل کم کاری تیروئید، از داروی متی مازول (سیگما آلدریج، آلمان) بصورت خوراکی با روش

در بررسی های مورفولوژیک و رفتاری نشان داده شده است که کم کاری تیروئید می تواند سبب اختلالات حافظه و یادگیری و کاهش عملکرد شناختی میشود(۱). یکی از نواحی مغزی که در جریان هیپوتیروئیدسم تحت تاثیر قرار میگیرد تشکیلات هیپوکامپی است(۲). هیپوکامپ نقش حیاتی در فرآیندهای شناختی از جمله یادگیری و حافظه دارد. مطالعات نشان دادند که هیپوتیروئیدسم در هیپوکامپ باعث کاهش تکثیر نورونی و افزایش مرگ سلولی میشود(۳). مطالعات بالینی نشان داده که درمان موفق اختلالات شناختی در طول هیپوتیروئیدسم زمانی حاصل میشود که سطوح هورمون های تیروئید در بافت های محیطی به حد طبیعی برسد که این امر هم نیازمند به درمان جایگزین هورمون های تیروئیدی میباشد(۴). امروزه استقبال گسترده ای از طب سنتی و گیاهان دارویی حاوی مواد آنتی اکسیدانی در زمینه های مختلف علوم پزشکی به خصوص در درمان برخی از بیماری ها صورت گرفته است.

در این بین، سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دارویی متعلق به خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) میباشد(۵) که دارای خواص فارمولوژیکی متنوعی از جمله آنتی اکسیدان(۶)، کاهشدهنده فشار خون(۷) و ضد التهاب(۸) است. در طب سنتی از سیاهدانه (*N. Sativa*) به عنوان دارویی شفابخش برای درمان بیماری های مختلف مانند آسم، سردرد، عفونت ها، چاقی، کمردرد و مشکلات گوارشی استفاده می شده است(۹). همچنین در مطالعات اخیر نشان داده شده است که سیاهدانه با اثرات محافظت عصبی باعث بهبودی در عملکرد حافظه و یادگیری میگردد(۱۰). از طرف دیگر دامنه گسترده ای از ترکیبات طبیعی نیز در محیط وجود دارد

حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ تیمار دارویی دریافت نکرد. گروه شاهد یک میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروه تجربی ۱، (هیپوتیروئیدسم): حیوانات این گروه داروی متی مازول با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاوآژ دریافت کردند.

گروه تجربی ۲، عصاره دوسین را با میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روزانه به صورت گاوآژ به مدت ۲۱ روز دریافت کرد. گروههای تجربی ۳ و ۴ هم حیوانات این دو گروه همزمان با القای هیپوتیروئیدسم، عصاره دوسین را به ترتیب با مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg روزانه به صورت گاوآژ دریافت کردند و تا ۲۱ روز بعد از القاء ادامه داشت.

#### مطالعه رفتاری (آزمون یادگیری و حافظه فضایی)

برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی حیوانات، از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. ماز آبی، از یک تانک دایره ای شکل با قطر ۱۳۰ و ارتفاع ۶۰ سانتی متر تشکیل شده است که تا ارتفاع ۴۰ سانتیمتری از آب پر میشود و به طور فرضی به ۴ ربع دایره تقسیم میگردد. در اطراف تانک، نشانه هایی مثل تابلو قرار دارد. یک سکوی پنهان (به قطر ۱۰ و ارتفاع ۳۸ سانتیمتری) در ۲ سانتیمتری زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع دایره های فرضی (در سمت شمال شرقی) تانک قرار دارد. آزمون از دو مرحله تشکیل شده بود:

در مرحله اول که در روزهای ۱۷ تا ۲۰ انجام گرفت و آموزش نام داشت، موشها هر روز ۴ بار متوالی از نقاط مختلفی به تانک آبی وارد شده و ۹۰ ثانیه اجازه داشتند تا با رؤیت نشانه های اطراف تانک، سکوی پنهان را بیابند و بر روی آن بنشینند. در پایان ۹۰ ثانیه و یا پس از یافتن سکو، هر

گاوآژ و به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در ۱ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۰ روز استفاده گردید (۱۵). برای اطمینان از القای هیپوتیروئید شدن حیوانات، ۱۰ روز بعد از تجویز دارو از دم موشها خونگیری به عمل آمد و غلظت هورمونهای تیروئیدی شامل تیروکسین (T4)، هورمون های تری یدوتیرونین (T3) و هورمون محرکه تیروئیدی (TSH) با استفاده از کیت ELIZA (فینیکس، فرانسه) اندازه گیری و سپس میزان این هورمونها نسبت به گروههای کنترل و شاهد مقایسه گردید و هیپوتیروئیدسم شدن تایید گردید.

#### روش تهیه عصاره هیدروآلکلی سیاهدانه

برای آماده سازی عصاره سیاهدانه ۲ کیلوگرم سیاهدانه از منطقه شهرستان کازرون در استان فارس خریداری گردید. سپس در شرایط مناسب آن را آسیاب نموده تا به پودر تبدیل شود. در این مطالعه برای تهیه عصاره هیدروآلکلی سیاهدانه به ازای ۲۰۰ گرم پودر گیاه، ۸۰۰ میلی لیتر الکل اتانول ۷۰٪ استفاده شد. پودر خشک گیاه مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا خیسبندگی شود، سپس ۲ بار از صافی عبور داده شد و محلول به دست آمده به روش ماسراسیون با استفاده از دستگاه روتاری عصار گیری شد. در مرحله آخر در آون (انکوباتور)، با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شد که یک شیره زرد رنگ غلیظ باقی بماند. عصاره بدست آمده را با مقدار ۱/۵ کیلوگرم عسل مخلوط میشود.

عصاره هیدروآلکلی سیاهدانه و عسل (دوسین) در یخچال قرار داده میشود و روزانه مقادیر لازم از آن را برداشته و به موش ها به صورت خوراکی برای ۲۱ روز خوراندند. موش مخلوط سیاهدانه و عسل در گروه داروسازی دانشگاه شیراز ساخته شد. دوزهای مخلوطی سیاهدانه و عسل در این مطالعه بر اساس طب سنتی ایران انتخاب شد (۱۶).

## اثر عصاره دوسین بر یادگیری فضایی در موشهای

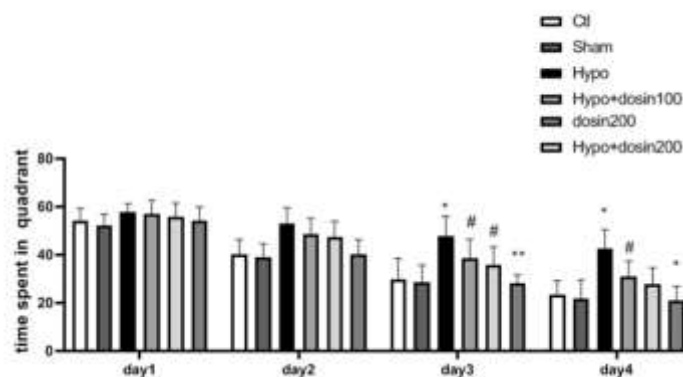
### هیپوتیروئید

تجزیه و تحلیل نتایج یادگیری فضایی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (Two Way ANOVA) همراه با پس آزمون بن فرونی انجام شد. در ۴ روز اول تست، یادگیری فضایی حیوانات بررسی گردید. مدت زمان برای یافتن سکو در روزهای اول و دوم در گروه‌های مورد پژوهش تفاوت معنی‌دار نداشت. در روز سوم و چهارم افزایش معنی‌داری در زمان رسیدن به ربع هدف در گروه Hypo (۴/۷)  $\pm ۴۲/۵۶$ ,  $۳/۲ \pm ۴۷/۸۹$ ) نسبت به کنترل (۱۸۳/۸  $\pm ۲۳/۳۶$ ,  $۵/۷ \pm ۲۹/۷۹$ ) دیده شد ( $p < ۰/۰۵$ ). در روزهای سوم و چهارم تست، در گروه Hypo درمان شده با عصاره دوسین در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در زمان رسیدن به ربع هدف نسبت به گروه Hypo مشاهده شد ( $۳۰/۹۲ \pm ۵/۴$ ,  $۳۸/۷۹ \pm ۴/۶$ ) ( $p < ۰/۰۵$ ). در گروه Hypo درمان شده با عصاره دوسین دوز ۲۰۰ نیز در فقط در روز سوم به ربع هدف دیده شد در حالی که در روز چهارم در دوز ۲۰۰ تفاوت معناداری نشان نداد (نمودار ۱).

موش ۲۰ ثانیه اجازه داشت تا بر روی سکو بنشیند. در صورت پیدانکردن سکو نیز به سمت آن هدایت میشد. مدت زمان (بر حسب ثانیه) و مسافت سپری شده (بر حسب سانتیمتر) برای رسیدن به سکوی پنهان توسط دوربین به نرم افزار MazeRouter انتقال یافته و ثبت میشد. در مرحله دوم از آزمایش که آزمون پروب نام داشت و در روز ۲۱ انجام گرفت، سکوی پنهان برداشته شد و هر حیوان از مکان مشخصی به تانک وارد شده و به مدت ۶۰ ثانیه در آب شنا میکرد. مدت زمان (ثانیه) و مسافت شنا شده (سانتی متر) در ربع دایره هدف (ربع دایره‌های که سکوی پنهان را در روزهای آموزش در خود جای داده بود)، ثبت شد.

مطالعات آماری با استفاده از نرم افزار prism5 GraphPad انجام شد. در آزمایش مازآبی موريس تاخیر فرار و مسافت طی شده با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه با اندازه گیری مکرر و پس آزمون بن فرونی و بقیه داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و پس آزمون توکی انجام شد. داده‌ها به صورت Mean  $\pm$  SE ارائه شد  $p < ۰/۰۵$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

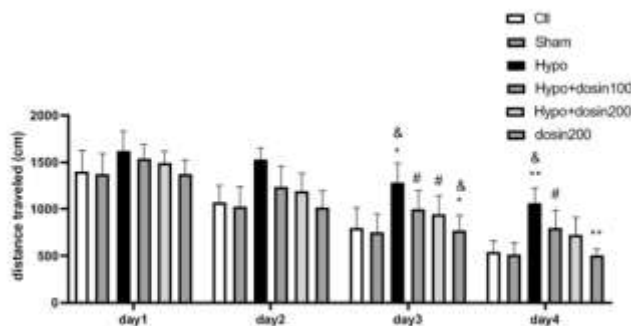
### نتایج



نمودار ۱. مسافت طی شده برای رسیدن به ربع هدف در آزمون مازآبی موريس (میانگین  $\pm$  SE، n=10) در گروه‌های مختلف. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه با اندازه‌های تکراری همراه با پس آزمون بن فرونی انجام شد. \* ( $p < ۰/۰۵$ ) تفاوت معنی‌دار با گروه Ctl، # ( $p < ۰/۰۵$ ) تفاوت معنی‌دار با گروه Hypo را نشان می‌دهد.

چهارم (۱۹۷/۳۹ ± ۷۹۸/۸، ۲۰۶/۶ ± ۱۰۰۱/۹) تفاوت معنی داری با گروه Hypo داشت (p<۰/۰۵). در گروه Hypo درمان شده با دوز ۲۰۰ دوسین (۱۲۲/۲۷ ± ۹۴۴/۷۷) کاهش معنی داری در مسافت طی شده برای رسیدن به ربع هدف در روز سوم نسبت به گروه Hypo نشان داد (p<۰/۰۵) در حالی که در روز چهارم در دوز ۲۰۰ تفاوت معناداری نشان نداد (نمودار ۲).

مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در ربع هدف در روز های اول و دوم در گروه های مورد مطالعه تفاوت معنی دار نداشت. افزایش معنی داری در مسافت طی شده برای رسیدن به ربع هدف در روز های سوم و چهارم در گروه Hypo (۱۴۳/۶۹ ± ۱۰۶۰ ± ۱۲۶/۶، ۱۲۸۶ ±) نسبت به کنترل (۷۹۶/۶۷ ± ۱۸۳/۱۷، ۵۴۷/۷۰ ±) دیده شد (p< ۰/۰۱). مسافت طی شده به ربع هدف در گروه Hypo (p<۰/۰۵) درمان شده با عصاره دوسین در دوز ۱۰۰ در روز سوم و



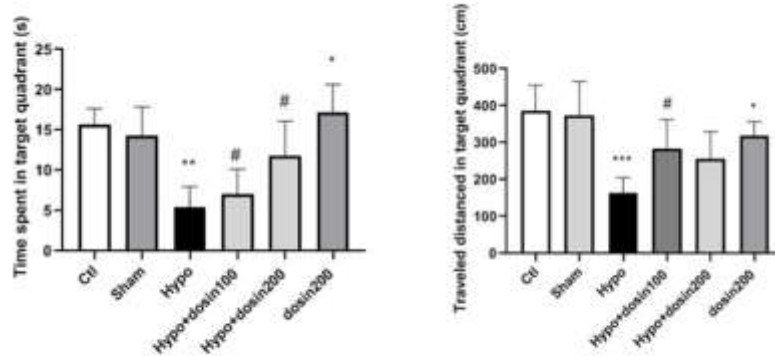
نمودار ۲. مسافت طی شده برای رسیدن به ربع هدف در آزمون مازآبی مورس (میانگین ± SE، n=10) در گروه های مختلف. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه با اندازه های تکراری همراه با پس آزمون بن فرونی انجام شد. \* (p<۰/۰۵) تفاوت معنی دار با گروه Ctl، # (p<۰/۰۵) تفاوت معنی دار با گروه Hypo را نشان میدهد.

گروه Hypo مشاهده شد (۱۱/۷۷ ± ۱/۷۶، ۷/۱۰ ± ۱/۰۲) (p<۰/۰۵) (نمودار ۳).

همانطور که در نمودار ۳ نشان داده شده است، مسافت شنا شده در ربع هدف در حیوانات گروه Hypo (۱۴/۱ ± ۱۶۳/۱) در مقایسه با گروه کنترل (۲۵/۸ ± ۳۸۷)، کاهش معنی داری یافت (p<۰/۰۰۱). حیوانات در گروه ۱۰۰ دوسین موجب افزایش معنادار مسافت طی شده در ربع هدف نسبت به گروه Hypo شد (۲۹/۳ ± ۲۸۴/۶، p<۰/۰۵).

### اثر عصاره دوسین بر حافظه فضایی در موش های صحرائی به دنبال القای هیپوتیروئیدیسم

تجزیه و تحلیل داده ها با آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی انجام شد. نتایج نشان می دهد که میانگین زمان سپری شده در ربع هدف در گروه Hypo (۰/۸۴ ± ۵/۴۵) کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل دارد. (p<۰/۰۱، ۱۵/۶۷ ± ۰/۷). همچنین افزایش معنی داری در میانگین زمان سپری شده در ربع هدف در گروه Hypo درمان شده با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره دوسین نسبت به



نمودار ۳. زمان و مسافت طی شده در ربع هدف در آزمون مازآبی موریس در گروه های مختلف (میانگین  $\pm$  SE, n=10). تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) همراه با پس آزمون توکی انجام شد. \*\*\* $(p < 0.001)$  و \* $(p < 0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه Ctl. # $(p < 0.05)$  تفاوت معنی دار با گروه Hypo را نشان میدهد.

هفته ای متمازول به موش ها باعث افزایش فعالیت NOS،

بحث:

سطوح گونه های اکسیژن فعال (ROS) و پراکسیداسیون لیپیدی در آمیگدال و هیپوکامپ می شود (۱۹). همچنین گزارش شده که اختلالات یادگیری و حافظه ناشی از کم کاری تیروئید با سطح بالایی از متابولیت های اکسید نیتریک (NO) هیپوکامپ همراه می باشد (۱۸، ۱۹). در واقع یکی از مکانیسم های اصلی درگیر در اثرات سمی NO در سیستم عصبی مرکزی (CNS)، ترشح بیش از حد گلوتامات و فعال شدن گیرنده های N-متیل-D-آسپاراتات است که به طور قابل توجهی کلسیم داخل سلولی را بالا می برد و سنتز نیتریک اکسید سنتاز (NOS) را تحریک می کند. مطالعات نشان دادند که گلوتامات می تواند با ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری و تشکیل گونه های اکسیژن فعال (ROS) باعث مرگ سلولی در هیپوکامپ شود (۲۰). در مطالعه Farimah Beheshti نشان داده شد که اختلالات یادگیری و حافظه مرتبط با کم کاری تیروئید با استرس اکسیداتیو در بافت های مغز همراه می باشد. این اثرات در غلظت های بالاتر MDA در

هیپوتیروئیدیسم، یکی از عوامل خیلی مهم بر روی یادگیری و حافظه از طریق سیستم عصبی ارگانیک های زنده می باشد. مطالعاتی که تا کنون بر روی اثرات کاهش هورمون تیروئیدی بر روی رفتارهای شناختی در موجودات زنده انجام گرفته است، نشان داده که در کم کاری تیروئید، اختلالات شناختی و زوال عقلی افزایش میابد (۱۷). در مطالعه ی حاضر کاهش هورمون های تیروئیدی از طریق تجویز متی مازول باعث کاهش حافظه فضایی و یادگیری در مقایسه با گروه های کنترل شد؛ در واقع در این مطالعه کمبود هورمون های تیروئید که با اختلالات حافظه و یادگیری همراه بود، در عملکرد حیوانات در تست ماز آبی، با به کار بردن زمان و مسافت بیشتری برای پیدا کردن سکوی پنهان داخل ماز به خوبی منعکس شد. این یافته ها با مطالعه سایرین مطابقت داشت، که نشان دادند که اختلال حافظه فضایی و یادگیری در موش های صحرائی بالغ مبتلا به کم کاری تیروئید ناشی از متمازول می باشد (۱۸). در مطالعه ای نشان داده شد که تجویز ۳

سیاهدانه دارای اثرات مفیدی بر اختلالات یادگیری و حافظه میباشد که با اثرات آنتی اکسیدانی در مغز همراه است (۲۷).  
 . Imam و همکارانش نشان دادند که درمان موش‌ها با روغن سیاهدانه، فراموشی ناشی از اسکوپولامین را با تغییر آسیب‌های بافت‌شناسی کاهش میدهد (۲۸). عسل غنی از آنتی اکسیدان‌های مختلف از جمله کاتالاز، اسید آسکوربیک، فلاونوئیدها و مواد فنولی میباشد. مواد فنولی و فلاونوئیدها بالا در عسل سلول‌های عصبی را در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (۲۹). Wan Muhammad Hilmi و همکارانش نشان دادند که درمان با عسل به طور قابل توجهی سبب محافظت عصبی بالایی در برابر استرس اکسیداتیو و رسوب آمیلوئید ناشی از لیپولی ساکارید در هیپوکامپ میشود (۳۰). در برخی از مطالعات گزارش شده است که عسل، رادیکال‌های آزادی مانند اکسید نیتریک، رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های پراکسیل و پراکسید هیدروژنی را از سلول حذف می‌کند (۳۱). به نظر می‌آید در مطالعه حاضر اثرات مفید ترکیب عسل و سیاهدانه (دوسین) از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد در هیپوکامپ باشد که برای اثبات این مطلب مطالعات بیوشیمیایی نیازمند است. Mahmoud در سال ۲۰۲۱ نشان داد که درمان سلول‌های سرطان کبد با ترکیب عسل و سیاهدانه منجر به کاهش قابل توجهی در تعداد سلول‌های سرطانی، بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و القای مرگ آپوپتوز در این سلول‌ها میگردد (۳۲). مطالعه Mohtashami هم در سال ۲۰۱۵ نشان داد که مکمل‌های N. sativa بر پایه عسل می‌تواند باعث بهبود علائم قابل توجهی در بیماران مبتلا به سوء هاضمه عملکردی شود (۳۳).

### نتیجه گیری

بافت‌های هیپوکامپ و قشر مغز در موش‌های هیپوتیروئید نشان داده شد (۱۸). به طور خلاصه، یافته‌های این مطالعه نشان داد که آسیب اکسیداتیو ایجاد شده در بافت‌های مغز ناشی از متی مازول یکی از مکانیسم‌های احتمالی دخیل در اثرات مضر کم‌کاری تیروئید بر یادگیری و حافظه است.  
 در مطالعات پیشین، آنتی اکسیدان‌ها اثرات مفیدی را در پیشگیری از اختلال حافظه تحت شرایط مختلف تجربی نشان داده اند (۲۱). عسل ماده ای غنی از فنولیک اسیدها و فلاونوئیدهاست که اثرات بیولوژیکی گسترده ای را نشان می‌دهد و به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی در پیشگیری از آسیب‌های نورولوژیک بسیار حائز اهمیت است (۲۲). گیاه سیاه دانه هم سرشار از فلاونوئید و تیموکینون (TQ) میباشد که دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی میباشد (۲۳). TQ موجود در این گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز از مغز و سیستم عصبی محافظت می‌کند (۲۴). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که تجویز عصاره دوسین (ترکیب سیاهدانه و عسل) در رت‌ها، به دنبال القای کم‌کاری تیروئید باعث بهبودی در اختلال یادگیری و حافظه می‌گردد. در مطالعات متعددی نشان داده شده است که سیاهدانه و عسل فعالیت آنتی اکسیدان‌ها و ظرفیت مهار اکسیدان‌ها را نیز افزایش می‌دهد (۲۵).  
 Azzubaidi در مطالعه اش اثرات مفید سیاهدانه بر روی حافظه و شناخت در مطالعات تجربی نشان داد (۲۶) و گزارش کرد که اثرات مفید N. sativa بر عملکرد حافظه فضایی و عصبی ممکن است به خواص آنتی اکسیدانی این گیاه مربوط میباشد. همچنین Vafae و همکارانش در مطالعه شان از طریق تست ماز آبی نشان دادند که عصاره هیدروالکلی



این پژوهش در فضای آزمایشگاهی و تحقیقاتی دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شده است. نویسندگان از همکاری مسئولین محترم تشکر می نمایند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند تعارض منافی در ارائه این مقاله ندارند.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می توان نتیجه گیری کرد که هیپوتیروئیدسم باعث اختلالات شناختی و حافظه میگرد در حالیکه درمان با عصاره دوسین توانست اثرات مضر کم کاری تیروئید را بر یادگیری و حافظه بهبود بخشد. در حقیقت محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو بافت های مغز به خصوص هیپوکامپ ممکن است توسط اثرات مفید آنتی اکسیدانی سیاهدانه و عسل باشد.

### تشکر و قدردانی

### فهرست منابع

- Salazar P, Cisternas P, Martinez M, Inestrosa NC. Hypothyroidism and cognitive disorders during development and adulthood: implications in the central nervous system. *Molecular Neurobiology*. 2019;56:2952-63.
- Koromilas C, Liapi C, Schulpis KH, Kalafatakis K, Zarros A, Tsakiris S. Structural and functional alterations in the hippocampus due to hypothyroidism. *Metabolic brain disease*. 2010;25:339-54.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature reviews neuroscience*. 2010;11(5):339-50.
- Biondi B, Cooper DS. Thyroid hormone therapy for hypothyroidism. *Endocrine*. 2019;66(1):18-26.
- Ghedira K. La nigelle cultivée: *Nigella sativa* L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*. 6-220:(5)4;2006.
- Ashraf SS, Rao MV, Kaneez FS, Qadri S, Al-Marzouqi AH, Chandranath IS, et al. *Nigella sativa* extract as a potent antioxidant for petrochemical-induced oxidative stress. *Journal of chromatographic science*. 2011;49(4):321-6.
- Vaz NP, De Oliveira DR, Abouelella GA, Khater H. The black seed, *Nigella sativa* (Ranunculaceae), for prevention and treatment of hypertension. *JN Govil and Bhardwaj N*. 2018;48:221-44.
- Al-Ghamdi M. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *Journal of ethnopharmacology*. 2001;76(1):45-8.
- Abd El-Hack ME, Alagawany M, Farag MR, Tiwari R, Karthik K, Dhama K. Nutritional, healthical and therapeutic efficacy of black cumin (*Nigella sativa*) in animals, poultry and humans. *Int J Pharmacol*. 2016;12(3):232-48.
- Sahak MKA, Kabir N, Abbas G, Draman S, Hashim NH, Hasan Adli DS. The role of *Nigella sativa* and its active constituents in learning and memory. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016;2016.
- Kassim M, Achoui M, Mustafa MR, Mohd MA, Yusoff KM. Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti-



inflammatory activity. *Nutrition research*. 2010;30(9):650-9.

12. Qaid EYA, Zakaria R, Yusof NAM, Sulaiman SF, Shafin N, Othman Z, et al. Tualang honey ameliorates hypoxia-induced memory deficits by reducing neuronal damage in the hippocampus of adult male Sprague dawley rats. *Turkish journal of pharmaceutical sciences*. 2020;17(5):555.

13. Nooh HZ, Nour-Eldien NM. The dual anti-inflammatory and antioxidant activities of natural honey promote cell proliferation and neural regeneration in a rat model of colitis. *Acta Histochemica*. 2016;118(6):588-95.

14. Othman Z, Zakaria R, Nik Hussain NH, Hassan A, Shafin N, Al-Rahbi B, et al. Potential role of honey in learning and memory. *Medical Sciences*. 2015;3(2):3-15.

15. Ai J, Zarifkar A, Takhshid M, Alavi J, Moradzadeh M. The effect of thyroid activity on adult rat spermatogenesis. 2007.

16. Ibn-e-Sina A. *Al-qanun fit-tib* [The canon of medicine]. Beirut, Lebanon: Alaalami Beirut lib Press; 2005.

17. Accorroni A, Chiellini G, Origlia N. Effects of thyroid hormones and their metabolites on learning and memory in normal and pathological conditions. *Current Drug Metabolism*. 2017; 18(3):225-36.

18. Beheshti F, Hosseini M, Shafei MN, Soukhtanloo M, Ghasemi S, Vafae F, et al. The effects of *Nigella sativa* extract on hypothyroidism-associated learning and memory impairment during neonatal and juvenile growth in rats. *Nutritional neuroscience*. 2017;20(1):49-59.

19. Hosseini M, Dastghaib SS, Rafatpanah H, Hadjzadeh MA-R, Nahrevanian H, Farrokhi I. Nitric oxide contributes to learning and memory deficits observed in hypothyroid rats during neonatal

and juvenile growth. *Clinics*. 2010;65(11):1175-81.

20. Hölscher C, Rose SP. An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. *Neuroscience Letters*. 1992;145(2):165-7.

21. Rahigude A, Bhutada P, Kaulaskar S, Aswar M, Otari K. Participation of antioxidant and cholinergic system in protective effect of naringenin against type-2 diabetes-induced memory dysfunction in rats. *Neuroscience*. 2012;226:62-72.

22. Iftikhar A, Nausheen R, Muzaffar H, Naeem MA, Farooq M, Khurshid M, et al. Potential Therapeutic Benefits of Honey in Neurological Disorders: The Role of Polyphenols. *Molecules*. 2022;27(10):3297.

23. Hannan MA, Zahan MS, Sarker PP, Moni A, Ha H, Uddin MJ. Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) and its bioactive constituent, thymoquinone against kidney injury: An aspect on pharmacological insights. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):9078.

24. Gülşen İ, Ak H, Çölçimen N, Alp HH, Akyol ME, Demir I, et al. Neuroprotective effects of thymoquinone on the hippocampus in a rat model of traumatic brain injury. *World Neurosurgery*. 2016;86:243-9.

25. Kolayli S, Kazaz G, Özkök A, Keskin M, Kara Y, Demir Kanbur E, et al. The phenolic composition, aroma compounds, physicochemical and antimicrobial properties of *Nigella sativa* L.(black cumin) honey. *European Food Research and Technology*. 2023;249(3):653-64.

26. Azzubaidi MS, Saxena AK, Talib NA, Ahmed QU, Dogarai BB. Protective effect of treatment with black cumin oil on

spatial cognitive functions of rats that suffered global cerebrovascular hypoperfusion. *Acta neurobiologiae experimentalis*. 2012;72(2):154-65.

**27.** Vafae F, Hosseini M, Hassanzadeh Z, Edalatmanesh MA, Sadeghnia HR, Seghatoleslam M, et al. The effects of *Nigella sativa* hydro-alcoholic extract on memory and brain tissues oxidative damage after repeated seizures in rats. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2015;14(2):547.

**28.** Imam A, Ajao M, Ajibola M, Amin A, Abdulmajeed W, Lawal A, et al. Black seed oil ameliorated scopolamine-induced memory dysfunction and cortico-hippocampal neural alterations in male Wistar rats. *Bulletin of faculty of pharmacy, cairo university*. 2016;54(1):49-57.

**29.** Kishore RK, Halim AS, Syazana MN, Sirajudeen K. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition research*. 2011;31(4):322-5.

**30.** Wan Yaacob WMH, Long I, Zakaria R, Othman Z. Tualang honey and its methanolic fraction ameliorate lipopolysaccharide-induced oxidative stress, amyloid deposition and neuronal loss of the rat hippocampus. *Advances in Traditional Medicine*. 2021;21:121-9.

**31.** Boukraâ L. Healing properties of honey. *Honey in traditional and modern medicine*. 2014:37-52.

**32.** Hassan MI, Mabrouk GM, Shehata HH, Aboelhussein MM. Antineoplastic effects of bee honey and *Nigella sativa* on hepatocellular carcinoma cells. *Integrative cancer therapies*. 2012;11(4):354-63.

**33.** Mohtashami R, Huseini HF, Heydari M, Amini M, Sadeqhi Z, Ghaznavi H, et al. Efficacy and safety of honey based formulation of *Nigella sativa* seed oil in functional dyspepsia: A double blind randomized controlled clinical trial. *Journal of ethnopharmacology*. 2015;175:147-52.



## The effect of the combination of black seed and honey (docin) on memory and learning following induction of hypothyroidism in adult male rats

Parisa Poorzal<sup>1</sup>, Mokhtar Mokhtari<sup>2</sup>, Mehrdad Shariati<sup>3</sup>

1- Phd candidate, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2- Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. Corresponding

Author: [mo.mokhtari246@gmail.com](mailto:mo.mokhtari246@gmail.com)

3- Associated Professor, Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received:2023.01. 04

Accepted: 2023.03.09

### Abstract

**Background & Aim:** Hypothyroidism causes memory and learning disorders and reduced cognitive function. This study was conducted in order to determine the effect of dosin (*Negilla sativa* and honey) on learning and memory in adult male rats after induction of hypothyroidism.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 60 adult male Wistar rats with an approximate weight of 225-200 g and an age of about 2.5-3 months were divided into six groups of ten. The control group (Ctl) did not receive any drug. Sham group receiving one milliliter of distilled water for 21 days, Experimental group 1 of hypothyroidism (Hypo) who received methimazole in the amount of 25 mg/kg by gavage for 10 days. Experimental group 2 receiving Dosin at the rate of 100 mg/kg for 21 days, experimental groups 3 and 4, in addition to inducing hypothyroidism, received 100 and 200 mg/kg respectively for 21 days by gavage. Memory and learning disorders in animals were evaluated by the Morris water maze test.

**Results:** : In the Morris water maze, the time and distance traveled to reach the platform in the experimental group 1 (Hypo) was higher than the control group (Ctl) on the third and fourth days. The time and the route traveled in experimental groups 3 and 4 on the third day were significantly less than the experimental group 1. Spatial memory results showed that the average time spent in the target quadrant in experimental group 1 decreased significantly compared to the control group. Also, the average time and distance spent in the target quadrant in experimental group 3 showed a significant increase compared to experimental group 1.

**Conclusion:** The results suggest that treatment with dossin extract may ameliorate the deleterious effects of hypothyroidism on learning and memory.

**Keywords:** : Dosin, Hypothyroidism, Memory, Learning, Rat