

اثرات محافظتی مصرف برگ گیاه بادرنجبویه بر اختلالات یادگیری ناشی از تجویز استات سرب در دوران قبل و بعد از تولد در رت

نرگس غیور¹، دکتر مرتضی بهنام رسولی^{2*}، دکتر مجید افشاریان³، دکتر مریم طهرانی پور⁴، محمد باقر غیور⁵

- 1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران
- 2- استاد، دکترای فیزیولوژی جانوری و علوم اعصاب، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران
- 3- استادیار، دکترای بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مشهد، مشهد، ایران
- 4- استادیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران
- 5- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت 88/6/10، تاریخ پذیرش 88/6/17

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های ملکولی احتمالی در نورو توکسیسیته سرب است. از طرف دیگر گیاه بادرنجبویه یا ملیس که به صورت گسترده در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است. در این تحقیق اثرات محافظت کنندگی ملیس بر اثرات ناشی از سمیت سرب بر قابلیت یادگیری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی 40 رت ماده باکره از نژاد ویستار پس از آمیزش به گروه‌های کنترل، کنترل مثبت (سرب و ویتامین C)، کنترل منفی (سرب 0/2 درصد در آب آشامیدنی) و گروه‌های آزمایشی شامل سه گروه سرب و ملیس تقسیم شدند. ملیس در سه دوز 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت خوراکی تجویز شد. تیمار از هفتمین روز بارداری رت‌ها شروع و طی دوران حاملگی و شیردهی ادامه یافت. زاده‌های گروه‌های مختلف در سن سه ماهگی از نظر قابلیت یادگیری و حافظه توسط ماز آبی موریس مورد ارزیابی قرار گرفته و با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها: فرارگیری در معرض سرب طی دوران جنینی و پس از آن موجب بروز اختلالات یادگیری می‌شود. در حالی که تجویز هم‌زمان ملیس و سرب و هم‌چنین ویتامین C و سرب تا حد زیادی اثرات زیانبار سرب بر یادگیری را جبران می‌کند. **نتیجه‌گیری:** از آنجا که بین گروه کنترل و گروه‌های ملیس و سرب و ویتامین C و سرب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که ملیس دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی معادل با ویتامین C می‌باشد. بنابراین ملیس مشابه با ویتامین C می‌تواند اثرات نورو توکسیسیته سرب را تعدیل کند.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، استات سرب، یادگیری، بادرنجبویه

*نویسنده مسئول: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست شناسی

مقدمه

ملیس دارای اثرات آرام بخشی و تسکین دهنده‌گی است و در هموژن تهیه شده از مغز طبیعی ضمن اینکه به طور قابل توجهی به هر دو گیرنده نیکوتینی و موسکارینی استیل کولین متصل می‌شود، اثرات آنزیم کولین استراز را مهار می‌کند (21-23). بدین ترتیب و از طریق تنظیم سیستم کولینرژیک در درمان آلزایمر و تنظیم خلق و خو و فرآیندهای ادراکی موثر است (24-27). عصاره آبی-الکلی ملیس دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی است و این اثرات را از طریق رز مارینیک اسید و بنزودیوکسول موجود در عصاره اعمال می‌کند (28، 29).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات محافظتی مصرف برگ گیاه بادرنجبویه بر اختلالات یادگیری فضایی ناشی از تجویز استات سرب در دوران جنینی و شیر خواری رت‌ها بوده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی از 40 رت ماده باکره سفید از نژاد ویستار (Wistar) با سن حدود 2/5-2 ماه و وزن تقریب 140-170 گرم که از محل موسسه واکسن و سرم سازی رازی مشهد تهیه شده بود، استفاده شد. این حیوانات در شرایط استاندارد حیوان خانه پرورش یافته بودند. برای آمیزش هر یک از رت‌های ماده به همراه یک رت نر در قفس‌های مخصوص جفت‌گیری قرار داده شدند و روز مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. پس از انجام آمیزش، رت‌ها به صورت تصادفی به 6 گروه به صورت زیر تقسیم شدند و مورد تیمار قرار گرفتند:

گروه کنترل: غذای معمولی رت و آب دیونیزه.

گروه کنترل مثبت: غذای معمولی رت و آب دیونیزه حاوی استات سرب با غلظت 0/2 درصد (3، 15، 16) به علاوه ویتامین C خالص معادل با دوز 300 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (30).

گروه کنترل منفی: غذای معمولی رت و آب دیونیزه حاوی استات سرب با غلظت 0/2 درصد.

از زمان‌های بسیار قدیم سرب (pb) یکی از فلزات پر مصرف بوده و امروزه نیز کاربرد وسیعی در صنایع مختلف دارد. بنابراین این عنصر به طور ناخواسته وارد سیستم‌های حیاتی شده و طی تجمع افزایشی در زنجیره غذایی وارد بدن جانوران عالی‌تر از جمله انسان می‌شود. اثرات سمیت با سرب حتی با مقادیر کم بر ساختارهای بیوشیمیایی و فرآیندهای فیزیولوژیک و رفتاری اثرات سوء بر جای می‌گذارد (5-1). در این رابطه وجود سرب در دوره تکامل مغز موجب بروز اثرات غیر قابل برگشت بر تکثیر و تمایز سلولی و سیناپتوزن می‌شود (6، 7). موضوعی که اهمیت آلودگی با سرب در دوران جنینی را تشدید می‌کند آن است که جذب سرب در دوره تکوین و تمایز ارگانسیم پنج برابر بیشتر از سایر مراحل زندگی است (8) و موجب بروز تغییرات رفتاری و نوروشیمیایی از جمله تغییر در سیستم‌های دوپامینرژیک (9، 10)، کولینرژیک (11، 12) و نیز تغییر در تراکم گیرنده‌های پس سیناپسی در دوران شیرخواری و بزرگسالی رت‌ها می‌شود (11، 13). یکی از مکانیسم‌های ملکولی احتمالی در نوروتوکسیسیته سرب بر هم خوردن تعادل آنتی اکسیدانی / پرواکسیدانی است (14-16) که می‌تواند موجب آسیب مغز در جریان استرس اکسیداتیو و بیوملکول‌های حیاتی مثل لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA شود (17).

بادرنجبویه یا ملیس (*Melissa officinalis*)

گیاهی است علفی و پایا که به طور وسیعی در مرکز و جنوب اروپا تا آسیای صغیر و ایران رویش دارد و به خاطر خواص خوراکی آن در سرتاسر دنیا نیز پرورش می‌یابد (18). این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان یک گیاه دارویی دارای کاربردهای وسیعی است و به عنوان کاهش دهنده ضربان قلب، ضد میکروب، ضد التهاب، ضد ویروس، آنتی اکسیدان، عامل نوروتروپیک، عامل ضد درد محیطی، خواب آور و نیز عامل اتصال یابنده به گیرنده‌های کولینرژیک و هم‌چنین در مسمومیت با قارچ مورد استفاده قرار می‌گیرد (20).

تیمار مربوط به هر گروه از روز 6 بارداری شروع و تا روز 21 پس از زایمان ادامه یافت. پس از آن یعنی از روزی که زاده ها به سن 22 روزگی رسیدند تیمار مزبور حذف و زاده‌ها از مادرانشان جدا شدند. سپس همه زاده‌ها توسط آب و غذای معمولی تغذیه و تحت شرایط محیطی مشابه نگهداری شدند. زاده‌های نر و ماده مربوط به هر مادر در 30 روزگی از یکدیگر جدا و تا سن 3 ماهگی در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. سپس در هر گروه تجربی و از زاده‌های متعلق به کلیه مادرها به طور تصادفی، 6 رت نر انتخاب و توسط ماز آبی موریس مورد ارزیابی حافظه و یادگیری قرار گرفتند (31).

تمامی مراحل آزمون ماز برای کلیه گروه‌های مورد بررسی در شرایطی کاملاً یکسان انجام پذیرفت. لازم به ذکر است که تمامی مراحل آزمایش با رعایت کامل موازین اخلاقی انجام گرفت.

برای تجزیه و تحلیل آماری، بر روی یافته‌های به دست آمده از هر کارآزمایی ابتدا با استفاده از نرم افزار SPSS آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one-way) با در نظر گرفتن سطح معنی‌دار $p < 0/05$ انجام شد و سپس در صورت معنی‌دار بودن نتایج برای مقایسه دوگانه بین گروه‌ها از آزمون LSD (Low Significant Differences) استفاده شد. نمودارهای مربوطه نیز توسط نرم افزار Excel رسم گردید.

یافته‌ها

داده‌های مربوط به میانگین زمان سپری شده و مسیر طی شده برای یافتن سکوی پنهان در کلیه گروه‌ها و در روزهای اول تا پنجم در نمودار 1 و شکل 1 ارایه گردیده است. از آنجا که نتیجه آزمون ANOVA معنی‌دار بود گروه کنترل و آزمایشی با یکدیگر نیز مقایسه شدند. براین اساس در رت‌های گروه کنترل منفی میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان در روزهای اول تا چهارم طولانی‌تر از سایر گروه‌ها بود (نمودار 1) ($p < 0/05$). این در حالی است که بین کلیه گروه‌های تجربی و کنترل مثبت با

گروه تجربی 1 (Pb و M25): جیره غذایی حاوی 4 گرم برگ خشک گیاه بادرنجبویه در هر کیلوگرم غذای رت (به طور تقریب معادل با 25 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره) و آب دیونیزه حاوی 0/2 درصد استات سرب.

گروه تجربی 2 (M50 و Pb): جیره غذایی حاوی 8 گرم برگ خشک گیاه بادرنجبویه در هر کیلوگرم غذای رت (به طور تقریب معادل با 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره) و آب دیونیزه حاوی 0/2 درصد استات سرب.

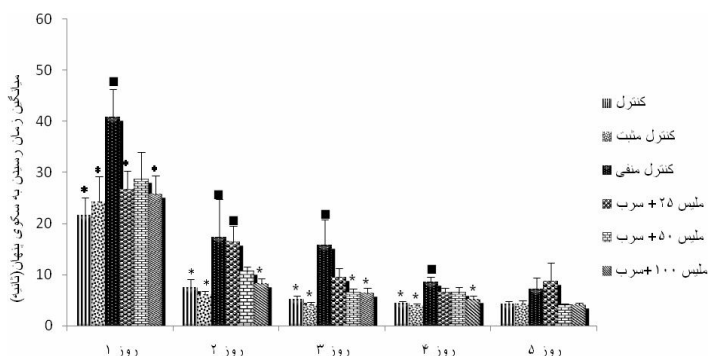
گروه تجربی 3 (M100 و Pb): جیره غذایی حاوی 15 گرم برگ خشک گیاه بادرنجبویه در هر کیلوگرم غذای رت (به طور تقریب معادل با 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره) و آب دیونیزه حاوی 0/2 درصد استات سرب.

در این پژوهش تجویز دو ماده استات سرب (Merk, Germany) و بادرنجبویه به صورت خوراکی انجام گرفت. این انتخاب به دلیل کاهش میزان مرگ و میر احتمالی و نیز کاهش میزان استرس وارده به حیوان بود. با توجه به اینکه استات سرب در آب جاری غیر قابل حل بوده و رسوب هیدروکسید تولید می‌کند، در این تحقیق از آب دیونیزه به عنوان آب آشامیدنی برای کلیه گروه‌ها استفاده شد. برای تهیه آب آشامیدنی حاوی 0/2 درصد استات سرب، به ازای هر لیتر آب دیونیزه 2 گرم استات سرب اضافه شد و پس از حل شدن مورد استفاده قرار گرفت. رت‌های گروه کنترل مثبت با استات سرب و ویتامین C با درجه خلوص 99/5 درصد (Bayer, Germany) محلول در آب آشامیدنی تیمار شدند.

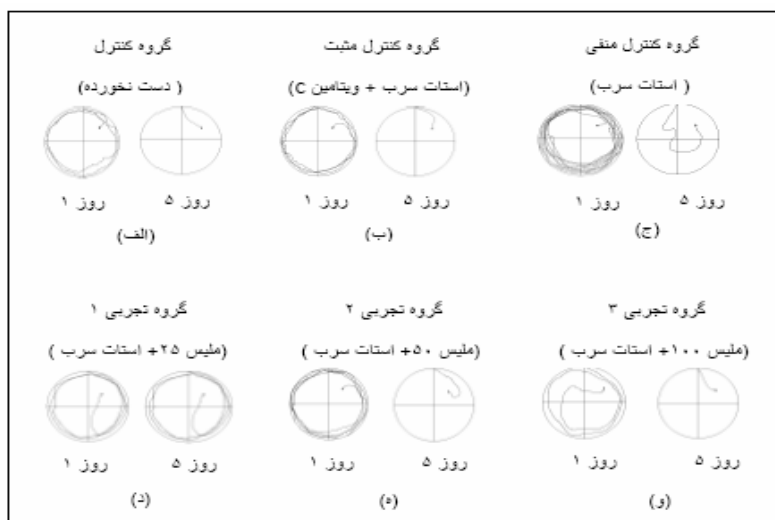
برای تهیه جیره‌های غذایی مورد نظر، ابتدا گیاه بادرنجبویه از محل کورت گیاهان دارویی پارک علم و فن آوری مشهد تهیه شد. برگ‌ها در سایه و تحت تهویه مناسب خشک و سپس توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمد. با توجه به اینکه بازده عصاره‌گیری آبی از برگ خشک گیاه 5 درصد می‌باشد میزان پودر برگ مورد نیاز به هر کدام از جیره‌های غذایی مورد نظر اضافه شد. این مقدار پودر برگ گیاه جایگزین یونجه جیره استاندارد گردید.

بود و در گروه تجربی 2 در روز سوم آزمون کاهش معنی داری در میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده شد ($p < 0/05$).

گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در روز دوم آزمون زمان سپری شده برای رسیدن به سکوی پنهان در گروه آزمایشی 1 نسبت به گروه کنترل و کنترل مثبت بیشتر



نمودار 1. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در گروه‌های کنترل، کنترل مثبت، کنترل منفی، ملیس 25، ملیس 50 و سرب و ملیس 100 و سرب در 5 روز متوالی آزمایش * اختلاف معنی دار با گروه کنترل منفی ($P < 0/05$) ■ اختلاف معنی دار با گروه کنترل



شکل 1. نمایش مسیر حرکت از نقطه شروع تا نقطه نهایی (سکوی پنهان) در روزهای اول و پنجم در رت‌های گروه کنترل (الف)، کنترل مثبت (ب)، کنترل منفی (ج)، تجربی 1 (د)، تجربی 2 (ه) و تجربی 3 (و).

که در دوران جنینی و شیرخوارگی استات سرب دریافت کرده‌اند سرعت یادگیری به طور معنی داری کاهش یافته و میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان به طور چشم گیری افزایش می‌یابد (نمودار 1). علاوه بر این مسافت طی شده توسط رت‌های این گروه در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد (شکل 1). این

بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که استات سرب بر فرآیند یادگیری فضایی در رت‌ها اثرات منفی اعمال می‌کند. مقایسه نتایج حاصل از آزمون ماز آبی حاکی از آن است که در مقایسه با گروه کنترل، کنترل مثبت و گروه‌های آزمایشی، در رت‌های گروه کنترل منفی

مشاهدات با نتایج سایر مطالعات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد (3، 11، 12).

سرب به صورت بارز فعالیت سیناپسی استیل کولین استراز را در سه ناحیه کورتکس، هیپوکامپ و مخچه مهار می‌کند (3، 11، 12، 17). در مقایسه با کورتکس مغز و مخچه، سیناپس‌های کولینرژیک بیشتر در ناحیه هیپوکامپ واقع شده‌اند که این وضعیت ممکن است دلیلی برای فعالیت بالاتر استیل کولین استراز در ناحیه هیپوکامپ در مقایسه با کورتکس مغز و مخچه باشد (32). این موضوع احتمالاً بیان‌گر ارتباط مستقیم بین اثرات پاتولوژیک ناشی از تجویز سرب در مراحل اولیه تکامل و آسیب‌های هیپوکامپی و همچنین نارسایی در سیستم کولینرژیک است. از آنجا که فعالیت سیستم کولینرژیک در بروز شاخص‌های رفتاری موثر است بنابراین صدمات سیستم کولینرژیک ناشی از تجویز سرب می‌تواند موجب نقایص عملکردی در فرآیندهای لوکوموتور و ادراکی شود (11، 12).

بر اساس بررسی‌های انجام شده در رابطه با استرس اکسیداتیو و نقایص عملکردی در فرآیندهای ادراکی و لوکوموتوری، یکی از مکانیسم‌های احتمالی نوروتوکسیسته ناشی از سرب ممکن است استرس اکسیداتیو باشد. استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز استات سرب می‌تواند از مهار 5-آمینو لولینیک اسید دهیدراتاز، پراکسیداسیون غشاهای زیستی، افزایش سطح کلسیم درون سلولی و در نتیجه آسیب به عملکرد میتوکندری و کاهش آنزیم‌های برداشت‌کننده رادیکال آزاد و گلو تاسیون ناشی شود (14، 15). سرب به راحتی از سد خونی-مغزی عبور می‌کند و طی تکامل اولیه در هیپوکامپ تجمع (33، 34) و احتمالاً مسیر فیبرهای خزه‌ای را تحت تاثیر قرار می‌دهد (35).

گیاه بادرنجبویه دارای اثرات آنتی اکسیدانتی بالقوه است (29) و مشابه با ویتامین C این اثرات را از طریق حذف رادیکال‌های آزاد اعمال می‌کند. اثرات آنتی اکسیدانی رزمارینک اسید و بنزودیوکسول موجود در عصاره ملیس حتی تا ده برابر قوی‌تر از اثرات آنتی اکسیدان ویتامین‌های B و C است (28، 29). برگ گیاه بادرنجبویه

حاوی 0/1 تا 0/25 درصد اسانس روغنی است و ترکیبات موجود در آن علاوه بر آن که دارای اثرات آنتی اکسیدان قابل ملاحظه‌ای هستند تمایل بالایی به رسپتورهای نیکوتینی و موسکارینی در کورتکس مغز نیز دارند. مکانیسم اخیر در تنظیم سیستم کولینرژیک موثر است و نقش اساسی در بهبود فعالیت‌های ادراکی خصوصاً درمان آلزایمر ایفا می‌نماید (21، 22).

نتیجه گیری

با توجه به اثرات زیان بار سرب بر سیستم‌های آنتی اکسیدانی بدن، استرس اکسیداتیو یک مکانیسم احتمالی برای کاهش قدرت یادگیری و حافظه می‌باشد. متقابلاً اثرات آنتی اکسیدان قوی در ترکیبات شیمیایی موجود در برگ بادرنجبویه احتمالاً می‌تواند موجب تعدیل این اثرات مخرب بر حافظه و یادگیری فضایی شود. عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین زمان سپری شده برای رسیدن به سکو در گروه‌های آزمایشی 1، 2 و 3 با گروه کنترل و کنترل مثبت نشان می‌دهد که برگ ملیس دارای اثرات آنتی اکسیدان معادل با ویتامین C بوده و می‌تواند به عنوان عامل محافظت‌کننده در برابر اختلالات یادگیری فضایی ناشی از استات سرب مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پروژه پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری می‌باشد. نویسندگان مقاله از مدیریت محترم موسسه واکسن و سرم سازی رازی مشهد و همچنین مساعدت و یاری کلیه پرسنل آن مرکز در انجام این پروژه صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1. Tong S, von Schirnding YE, Parapamontol T. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. Bull World Health Organ 2000; 78(9): 1068-77.

2. Movits K, Zharkovsky T, Romantchik O, Merisalu E, Heidmets LT. Developmental lead exposure impairs contextual fear conditioning and reduces adult hippocampal neurogenesis in the rat brain. *Int J Devel Neurosci* 2005; 23:627-35.
3. Heidmets LT, Zharkovsky T, Jurgenson M, Jaako-Movits K, Zharkovsky A. Early post-natal, low- level lead exposure increases the number of PSA-NCAM expressing cells in the dentate gyrus of adult rat hippocampus. *NeuroToxicology* 2006; 27(1): 39-43.
4. Wang M, Chen WH, Zhu DM, She JQ, Ruan DY. Effects of carbachol on lead-induced impairment of the long term potentiation/depotential in rat dentate gyrus in vivo. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 412-8.
5. Chen X, Yang Q, Smith G, Krewski D, Walker M, Wen S. Environmental lead level and pregnancy-induced hypertension. *Environ Res* 2006; 100(3):424-43.
6. Burdette LJ, Goldstein R. Long term behavioral and electrophysiological changes associated with lead exposure at different stages of brain development in the rat. *Brain Res* 1986; 394(1): 101-10.
7. Schneider JS, Anderson DW, Wade TV, Smith MG, Leibrandt P, Zuck L, et al. Inhibition of progenitor cell proliferation in the dentate gyrus of rats following Post- weaning lead exposure. *Neurotoxicology* 2005; 26(1): 141-5.
8. lockitch G. Perspectives on lead toxicity. *Clin Biochem* 1993; 26(5): 371-81.
9. Lasley SM, Lane JD. Diminished regulation of mesolimbic dopaminergic activity in rat after chronic inorganic lead exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 95: 474-83.
10. Nour Eddine D, Miloud S, Abdelkader A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in the rat brain. *Toxicology* 2005; 207(3): 363- 68.
11. Reddy GR, Devi BBC, Chety CS. Developmental lead neurotoxicity: alterations in brain cholinergic system. *Neurotoxicology* 2007; 28(2): 402-7.
12. Reddy GR, Riyaz Basha MD, Bhuvanewari Ddevi C, Suresh A, Baker JL, Shafteek A, et al. Lead induced effects on acetylcholinesterase activity in cerebellum and hippocampus of developing rat. *Int J Dev Neurosci* 2003; 21(6): 347-52.
13. Zhu ZW, Yang RL, Dong GJ, Zhao ZY. Study on the neurotoxic effects of low- level lead exposure in rats. *JZUS-B* 2005; 6(7): 686-92.
14. Adonaylo VM, Oteiza PL. Pb²⁺ promotes lipid oxidation and alteration in membrane physical properties. *Toxicology* 1999; 132(1): 19-32.
15. Moreira EG, Rosa GJ, Barros SB, Vassilief VS, Vassilief I. Antioxidant defense in rat brain regions after developmental lead exposure. *Toxicology* 2001; 169(2):145-51.
16. Hermes- linia, M, Pereira B, Bechara EJH. Are free radicals involved in lead poisoning?. *Xenobiotica* 1991; 21(8): 1085-90.
17. Lidsky TI, Schneider JS. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain* 2003; 126(1): 5-19.
18. Zargari AI. Medicinal plants. Vol 1. Tehran: Tehran University Press; 1990.
19. Anonymous. Iranian herbal pharmacopoeia. Vol 1. Tehran: Ministry of Health Publication. 2002.
20. Naghibi F, Mosadegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani AB. [Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2005; 2: 63-79.
21. Drachman DA, Leavitt J. Human memory and the cholinergic system. *Arch Neorol* 1974; 30(2): 113-21.
22. Kennedy DO, Scholey AB, Tildesley NT, Pery EK, Wesnes KA. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of single doses of Melissa officinalis (lemon balm). *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 72(4): 953-64.
23. Perry EK, Pickering AT, Wang WW, Houghton PJ, Perry NSL. Medicinal plants and Alzheimer's disease: integrating ethnobotanical and contemporary scientific evidence. *J Altern Complement Med* 1998; 4: 419-28.
24. Peirce A. The American Pharmaceutical Association practical guide to natural medicines . New York: William Marrow; 1999.
25. Kennedy DO, Little W, Scholey, AB. Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of Melissa

- officinalis (lemon balm). *Psychosom Med* 2004; 66: 607-13.
26. Kennedy DO, Scholey AB. The psychopharmacology of european herbs with cognition-enhancing properties. *Curr Pharm Des* 2006; 12(35): 4613-23.
27. Akhondzadeh Sh, Noroonzian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. Melissa officinalis extract in the treatment of patient with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74: 863-6.
28. Tagashira M, Ohtake Y. A new antioxidative 1, 3-benzodioxole from Melissa officinalis. *Planta Med* 1998; 64:555-8.
29. Dastmalchi K, Damien Dorman HJ, Oinonen PP, Darwis Y, Laakso I, Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract *Food Sci Technol Bull* 2008; 41(3): 391-400.
30. Tariq SA. Role of Ascorbic acid in scavenging free radicals and lead toxicity from biosystems. *Mol Biotechnol* 2007; 37(1): 62-5.
31. Haghpeyma Z, Moghimi A, Behnam-Rassouli M, Moghimian M. [The effect of vitamin A deprivation on spatial learning and memory of Wistar rats]. *Journal Science Ferdowsi University* 2003; 5:1-9.
32. Ehlerl FJ, Kolska N, Fairhurst AS. Altered (3H)-quinuclidinyl benzilate binding in the striatum of rats following chronic cholinesterase inhibition with diisopropyl fluorophosphates. *Mol Pharmacol* 1980; 17: 24-30.
33. Bayer SA, Altman J. Hippocampal development in the rat: cytogenesis and morphogenesis examined with autoradiography and low – level X-irradiation. *J Comp Neurol* 1974; 158: 55-80.
34. Dufly CJ, Teyler TJ. Development of potentiation in the dentate gyrus of rat physiology and anatomy. *Brain Res Bull* 1978; 3: 425-30.
35. Fjerdningstad EJ. Hippocampus selective concentration of lead in the normal rat brain. *Dev Brain Res* 1974; 80(2): 350-4.

The protective effects of *Melissa officinalis* leaves usage on learning disorder induced by lead acetate administration during pre and postnatal periods in rats

Ghayoor N¹, Rasouli B^{2*}, Afsharian M³, Tehranipour M⁴, Ghayoor M⁵

1- MSc student, Animal Physiology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Professor, PhD in Animal Physiology and Neurology, Department of Biology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, PhD of Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Mashhad, Iran

4- Assistant Professor, PhD of Animal Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

5- MSc of Animal physiology, Department of Biology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received 1 Sep, 2009 Accepted 8 Sep, 2009

Abstract

Background: Oxidative stress is one of the probable molecular mechanisms involved in lead (Pb) neurotoxicity. On the other hand, lemon balm (*Melissa officinalis*) which is widely used in traditional medicine, has a high antioxidant activity. In this study, the protective impacts of *Melissa officinalis* on the adverse effects of Pb toxicity on learning ability were investigated.

Materials and Methods: In this experimental-clinical trial, 40 virgin Wistar rats were mated and divided into control, control positive (vitamin C+Pb), control negative (Pb), and 3 Pb and *Melissa* experimental groups. *Melissa* was orally administered in three doses including + 25, 50 and 100 mg/kg of body weight daily. Treatment started from 7th day of gestation and continued through pregnancy and lactation periods. The three month- old offsprings in each group were assessed in terms of memory and learning ability by Morris water maze test and the results were compared between the groups.

Results: Exposure to Pb during and after gestation leads to learning disorders. While concomitant administration of Pb and *Melissa*, as well as vitamin C can, to a large degree, reduce the adverse effects of Pb on learning abilities.

Conclusion: Since no significant differences were obtained from the comparison of results in the control, Pb+M and vitamin C+Pb groups, it can be concluded that *Melissa* has antioxidant impacts equal to vitamin C. Therefore, similar to vitamin C, *Melissa* can decrease the neurotoxic effects of Pb.

Keywords: Antioxidants, Lead acetate, Learning, *Melissa*

*Corresponding author:

Email: behnam@um.ac.ir

Address: Department of Biology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran