

The effect of Silymarin on learning and histological changes of hippocampal regions of rats

P. Yaghmaei* K. Parivar** M. Darab*** S. Oryan****
E. Abbasi*****

*Associate Professor of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Professor of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*** MSc. of Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**** Professor of Biology, Faculty of Science, Teacher Training University, Tehran, Iran

*****Instructor of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Abstract

Background: Silymarin, an extract from seeds of milk thistle (*Silybum marianum*), is known to have hepato-protective, anticarcinogenic, antioxidant and estrogenic effects.

Objective: The aim of the present study was to test the effect of silymarin on passive avoidance learning in rats.

Methods: This was an experimental study carried on Wistar rats in Arak University, Iran. The animals were provided with silymarin (from day 7 of gestational age to 4 weeks after birth) at 2 doses of 180 mg/kg in the experimental group 1 (Exp1) and 90mg/kg in the experimental group 2 (Exp2) while the sham group received saline and the control group with regular food and water. The memory retention and duration of step-through latency in male offsprings was determined by passive avoidance apparatus. Neuronal density in hippocampus was established by histopathological methods. Memory and learning indices were investigated by analysis of variance (ANOVA) and a p value less than 0.05 was considered as significant.

Findings: Both experimental groups showed significantly longer step-through latency compared to control group ($p < 0.05$). The average number of pyramidal cells in hippocampal CA1 and granular cells in hippocampal DG were remarkably higher in Exp1 and Exp2 groups compared to control group. The difference between Exp1 and Exp2 for pyramidal cells was found to be significant ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively).

Conclusion: Silymarin produced a significant increase in learning and memory. Also, our results indicate that silymarin is a dose dependent component. These data may lay a background for application of silybin in treatment of memory impairment diseases.

Keywords: Silymarin, Passive Avoidance Learning, Wistar Rat, Hippocampus, CA1, Dentate Gyrus.

Corresponding Address: Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

E-mail: yaghmaei_p@yahoo.com

Tel: +98 09122010222

Received: 2009/04/30

Accepted: 2010/06/20

اثر عصاره گیاهی خارمریم بر یادگیری و تغییرات بافت شناسی هیپوکامپ موش‌های صحرایی

دکتر پرچهر یغمایی* دکتر کاظم پریور** مهراوه داراب*** دکتر شهربانو عربان** اسماعیل عباسی****

* دانشیار گروه زیست شناسی جانوری واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
 ** استاد گروه زیست شناسی جانوری واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
 *** کارشناس ارشد فیزیولوژی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
 **** مربی فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۱۰۲۲۲، E.mail: yaghmaei_p@yahoo.com
 تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳۰

* چکیده

زمینه: سیلیمارین از دانه گیاه خارمریم استخراج می‌شود و خواص حفاظت کننده کبدی، ضد سرطانی، آنتی اکسیدانی و استروژنیک دارد. استروژن نیز سبب افزایش و تسهیل میزان یادگیری می‌شود.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره گیاهی خارمریم بر یادگیری و تغییرات بافت‌شناسی هیپوکامپ زاده‌های نر موش صحرایی انجام شد.
مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه اراک انجام شد. موش‌های صحرایی از روز ۷ بارداری و نوزادان آنها تا ۴ هفته پس از تولد در ۲ دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه تجربی ۱) و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه تجربی ۲)، سیلیمارین را از طریق گاوژ دریافت کردند. گروه شم محلول سالین و گروه شاهد بدون تیمار آب و غذای معمولی دریافت کردند. هر گروه شامل ۶ موش بود. ارزیابی یادگیری و حافظه به وسیله دستگاه شاتل تعیین و تراکم نورون‌ها در ناحیه هیپوکامپ با استفاده از روش‌های بافت‌شناسی انجام شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: مدت زمان ماندن در قسمت روشن در هر دو گروه تجربی، بیش‌تر از گروه‌های شاهد بود ($p < 0.05$). میانگین سلول‌های پیرامیدال در ناحیه شاخ آمون (CA1) هیپوکامپ به ترتیب در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ ($p < 0.01$ و $p < 0.05$) و سلول‌های گرانولار در ناحیه شکنج دندان‌های هیپوکامپ در گروه‌های تجربی ($p < 0.01$ و $p < 0.05$) افزایش معنی‌داری را نشان دادند.
نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها سیلیمارین باعث افزایش حافظه و یادگیری می‌شود که اثرات آن وابسته به دوز است. این داده‌ها ممکن است زمینه‌ای برای استفاده سیلیمارین در درمان بیماری‌های اختلال حافظه و شناختی باشد.

کلید واژه‌ها: سیلیمارین، یادگیری احترازی غیر فعال، موش صحرایی، هیپوکامپ، شاخ آمون، شکنج دندان‌های

* مقدمه :

ساختاری آن با استرادیول سبب اتصال سیلیمارین به گیرنده‌های استروژنی در پستانداران می‌شود. سیلیمارین را جزء استروژن‌های ضعیف با فعالیت زیست‌شناختی ۱۰-۲ تا ۱۰-۳ از ۱۷-بتا استرادیول طبقه‌بندی می‌کنند.^(۳و۴) به دلیل شباهت ساختاری آن با هورمون‌های استروئیدی، می‌تواند وارد هسته شده و با اثر بر روی آنزیم‌های RNA پلیمرز، شکل‌گیری ریبوزوم‌ها را برای انجام عمل پروتئین‌سازی تسریع بخشد.^(۶-۴) از طرف دیگر اثرات استروژن بر روی یادگیری و حافظه در نمونه‌های حیوانی و مطالعه‌های انسانی اثبات شده است.^(۷و۸) تیمار با استروژن، تراکم خارهای دندرتی در نورون‌های پیرامیدال

عصاره بذر گیاه دارویی خارمریم به سیلیمارین معروف است. سیلیمارین دارویی گیاهی با خواص محافظت کبدی، آنتی اکسیدانی، تثبیت غشای سلولی و افزایش گلوکوتایون خون است که تأثیر مثبت آن در بهبود بیماری‌های متعددی از جمله چربی بالا گزارش شده است. همچنین اثرات ضدالتهابی و حفاظت سلولی آن نیز به اثبات رسیده است.^(۳-۱) سیلیمارین از ۶ فلاولیگاند مهم تشکیل شده است که عبارتند از: سلیمین (BoA)، ایزوسلیمین (BoA)، سیلی کریستین و سلیدیانین. سلیمین جزء مهم و اساسی سیلیمارین به حساب می‌آید. شباهت

ساعت روشنایی نگه‌داری شدند. در مدت آزمایش، آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار داشت و دمای محیط نیز در حد ۲۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. به منظور انجام آزمایش، موش‌ها به چهار گروه شش تایی زیر تقسیم شدند و از روز هفتم بارداری تیمار به صورت خوراکی و از طریق گاواژ انجام شد.

گروه تجربی اول، ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیمارین که معادل با وزن یک کپسول از داروی سیلیمارین تهیه شده از کارخانه تولید دارو ایران بود، گاواژ شدند.

گروه تجربی دوم، ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، معادل نصف وزن یک کپسول، داروی سیلیمارین دریافت کردند.

گروه شم شامل موش‌هایی بودند که تحت تیمار با محلول سالیین قرار گرفتند.^(۴)

گروه شاهد شامل موش‌هایی بودند که تحت تیمار قرار نگرفتند و آب و غذای کافی در اختیار داشتند. از نوزادان متولد شده در هر گروه آزمایشی، ۶ نوزاد نر به طور تصادفی انتخاب و علامت‌گذاری شدند و از ۷ روز پس از تولد تا یک ماه، تیمار به همان میزان ذکر شده در بالا در آنها اعمال شد. پس از گذشت ۳ تا ۴ روز، مراحل آموزش با استفاده از دستگاه شاتل و شیوه یادگیری احترازی غیر فعال انجام شد.^(۱۱)

اساس این نوع یادگیری برقراری ارتباط بین محرک شرطی و محرک غیر شرطی در دستگاه شاتل است.

ابتدا همه گروه‌های آزمایشی با دستگاه آشنا شدند؛ به این ترتیب که ۵ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه، در باز می‌شد و بلافاصله پس از ورود غریزی حیوان به قسمت تاریک، حیوان از دستگاه خارج و به قفس باز گردانده می‌شد. ۳۰ دقیقه بعد حیوان را دوباره در بخش روشن دستگاه قرار داده و به محض ورود به بخش تاریک در بسته شده و یک شوک الکتریکی ملایم ولی آزار دهنده به شدت 0.1 ± 0.5 میلی‌آمپر و با بسامد ۵۰ هرتز به کف دست و پای حیوان وارد می‌شد که به عنوان محرک غیر شرطی آزار دهنده بود. عدم ورود

ناحیه شاخ آمون (CA1) هیپوکامپ را افزایش می‌دهد.^(۹) سیلیمارین اثرات حفاظت عصبی و رشد نورونی دارد، سیلیمارین بازدارنده فعالیت عامل هسته‌ای کاپا B است و ساخت نیتریک اکساید را کاهش می‌دهد.^(۱۰) به علاوه در شرایط تنش اکسیداتیو القاء کننده آپوپتوز، بر روی نورون‌های هیپوکامپی اثر حفاظتی دارد و در عفونت‌های ویروسی که به آماس مغزی منجر می‌شوند، به عنوان تنظیم کننده نورونی عمل می‌کند.^(۱۱) همچنین سیلیمارین تمایز سلول‌های نورونی را در محیط کشت افزایش می‌دهد و آپوپتوز را صرف نظر از عملکرد عامل رشد نورونی متوقف می‌کند.^(۱۲)

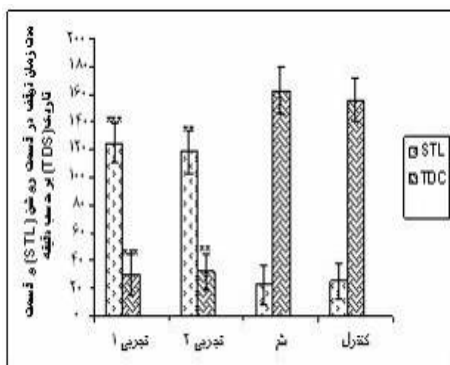
امروزه نقش هیپوکامپ در شکل‌گیری مراحل حافظه از جمله حافظه فضایی، تعیین محل اشیاء در محیط و یادآوری آگاهانه وقایع و حوادث ضمنی به خوبی روشن است.^(۱۳) نواحی شکنج دندان‌ه ای (DG) و شاخ آمون (CA1)، دو قسمت مهم در تشکیلات هیپوکامپی هستند. در قسمت شکنج دندان‌ه‌ای، نورون‌های اصلی تحریکی را سلول‌های گرانولار تشکیل می‌دهند. هیپوکامپ محلی برای عبور اطلاعات از حافظه کوتاه مدت به حافظه دراز مدت و پردازش این اطلاعات است.^(۱۴)

با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، استروژنیک و حفاظت پروتئینی عصاره گیاهی خارمریم، این مطالعه با هدف تعیین تأثیر این عصاره بر یادگیری و تغییرات بافت‌شناسی هیپوکامپ در زاده‌های نر موش صحرایی انجام شد.

* مواد و روش‌ها :

این مطالعه در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد. برای انجام پژوهش از ۲۵ سر موش صحرایی ماده بالغ و ۱۰ نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. پس از آمیزش و مشاهده درپوش واژنی، حاملگی مشخص شد. سپس موش‌های حامله در قفس‌های جداگانه با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲

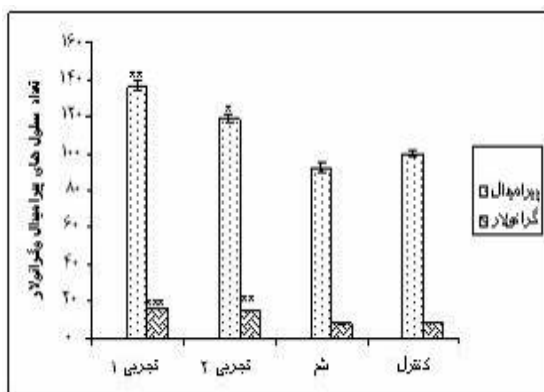
نمودار ۱- مقایسه مدت زمان توقف در منطقه‌های تاریک و روشن (میانگین \pm SEM) در گروه‌های مورد مطالعه



$P < 0.01$ ** $P < 0.001$ *** (در مقایسه با گروه شاهد)

تعداد سلول‌های گوانولار در گروه‌های تیمار شده با سیلیمارین نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرد. همچنین دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌ترین تأثیر را نشان داد ($P < 0.01$). در مقایسه تعداد سلول‌های پیرامیدال (CA1) بین گروه‌های شاهد و شم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی تعداد این سلول‌ها در گروه‌های تیمار شده با سیلیمارین افزایش معنی‌دار ($P < 0.01$) نسبت به گروه شاهد داشت (نمودار شماره ۲ و شکل شماره ۱).

نمودار ۲- مقایسه سلول‌های گرانولار و پیرامیدال هیپوکامپ (میانگین \pm SEM) در گروه‌های مورد مطالعه



$P < 0.001$ *** و $P < 0.01$ ** و $P < 0.05$ *

(در مقایسه با گروه شاهد)

حیوان به ناحیه تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان یادگیری موفق در نظر گرفته شد.

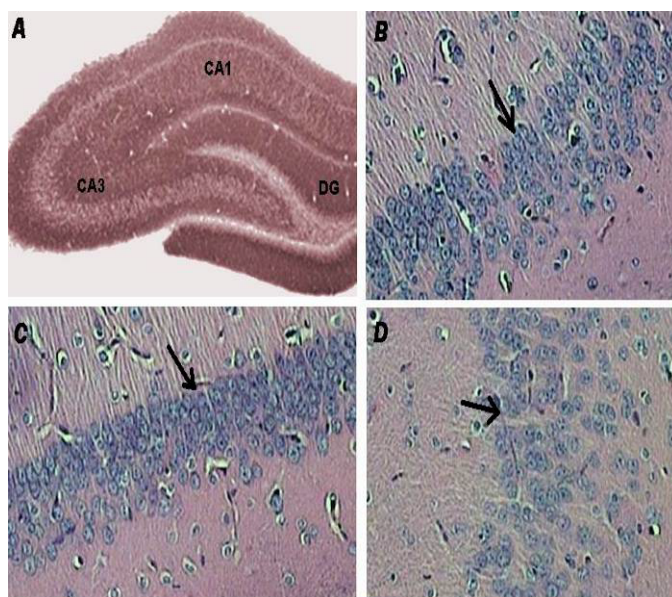
پس از مطالعه‌های رفتاری، در مرحله بعدی حیوان را در اتاقک روشن گذاشته و مدت زمان تأخیر آن در ورود به اتاق تاریک ثبت می‌شد. سپس حیوان‌ها با کلروفورم بی‌هوش و مغز آنها جهت بررسی‌های بافت‌شناسی خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شد.^(۱۱) پس از مراحل آب‌گیری و قالب‌گیری از هر گروه مورد آزمایش، ۱۰ لام با برش‌های سریالی ۵ تا ۷ میکرومتری تهیه شد و به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد. هدف از تهیه برش‌های مغزی، بررسی تغییرات بافتی مغز و شمارش سلول‌های پیرامیدال و گرانولار در ناحیه هیپوکامپ بود. به طور کاملاً تصادفی ۵ مقطع، از مقاطع بافتی از گروه‌های مختلف مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. شمارش سلول‌ها با کمک گراتیکول انجام شد.^(۱۱) نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار آماری SPSS پردازش و با استفاده از آزمون آماری واریانس یکطرفه تحلیل شدند. سطح معنی‌داری در مقایسه میانگین‌ها کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

* یافته‌ها :

در مقایسه بین مدت زمان ماندن در منطقه تاریک یا روشن دستگاه، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه شاهد و شم مشاهده نشد. ولی اختلاف این زمان بین گروه‌های شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده سیلیمارین معنی‌دار بود؛ یعنی، موش‌های دریافت‌کننده سیلیمارین طی مدت زمان بیش‌تری منطقه روشن را ترک کرده و وارد محفظه تاریک می‌شدند. در مقایسه بین تعداد سلول‌های گرانولار در ناحیه هیپوکامپ بین گروه‌های شاهد و شم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۱).

از آنجا که سلیمارین می‌تواند از جفت عبور کند، بنابراین ممکن است باعث تغییراتی در ناحیه هیپوکامپ شود.^(۱۹،۱۸) فعالیت قوی آنتی اکسیدانی سلیمارین سبب افزایش گلوتاتیون سلولی و تحریک تولید سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در مغز موش‌های صحرایی می‌شود.^(۱۱) ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد مثل سوپر اکسید، رادیکال هیدروکسیل پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های ایجاد شده در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها سبب آسیب در بافت عصبی و ایجاد بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله صرع، اسکیزوفرنی، پارکینسون و آلزایمر می‌شود.^(۱۰،۳) بافت مغز و به طور کلی سیستم عصبی به علت سرشار بودن از آهن و چربی، بیش‌تر از سایر بافت‌های بدن در معرض آسیب رادیکال‌های آزاد قرار می‌گیرد.^(۳) بنابراین، سلیمارین با خواص آنتی اکسیدانی خود، مغز و سایر بافت‌های بدن را از آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند^(۱۰،۷) و کاهش دهنده تنش اکسیداتیو و نیز محافظ سلول‌ها در مقابل آپوپتوز است.^(۷)

سلیمارین می‌تواند سبب افزایش ساخت پروتئین شود.^(۵،۶) در ساختارهای مغزی از جمله در دندریتها، مقادیر زیادی پروتئین وجود دارد و میزان ساخت پروتئین در هنگام شکل‌گیری حافظه افزایش پیدا می‌کند که می‌تواند تأییدی بر یافته‌های مطالعه حاضر باشد.^(۱) به علاوه سلیمارین سبب تثبیت غشای سلول می‌شود و می‌تواند گیرنده‌هایی را روی غشای اشغال کند و در نتیجه سبب بلوکه کردن عملکردهای ایمنی‌شناسی شود. بنابراین، غشای سلول با نگهداری گلوتاتیون در داخل، سلول را محافظت می‌کند.^(۲۰) توانایی سلیمارین برای اتصال به زیرواحد استرادیول واقع بر روی زیرواحد RNA پلیمراز I که تحریک‌کننده ساخت RNA ریپوزومی است، سبب حفظ ساختار پروتئین و جلوگیری از آسیب به آنزیم در داخل هسته سلول‌ها می‌شود.^(۴) تنش اکسیداتیو سبب غیر فعال شدن و حتی مرگ نورون‌ها در شرایط نامساعد عصبی حاد و مزمن می‌شود. برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند



شکل ۱- توزیع سلول‌های عصبی در ناحیه پیرامیدال (CA1) هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های بیمار شده با سلیمارین و شاهد A: نمای از مناطق CA1 و DG در هیپوکامپ موش‌های صحرایی، B: نمای از مقطع CA1 سلول‌های پیرامیدال در گروه بیمار شده با دوز ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلیمارین (بزرگ‌نمایی $\times 40$) C: نمای از مقطع CA1 سلول‌های پیرامیدال در گروه بیمار شده با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلیمارین (بزرگ‌نمایی $\times 40$) و D: نمای از مقطع CA1 در گروه شاهد (بزرگ‌نمایی $\times 40$)

* بحث و نتیجه‌گیری:

این بررسی نشان داد که دریافت سلیمارین از روز ۷ بارداری در موش‌های صحرایی و سپس نوزاد آنها تا مدت زمان ۴ هفته، سبب افزایش تراکم سلول‌های عصبی در ناحیه گرانولار و پیرامیدال در نوزادان می‌شود و حافظه و یادگیری را ارتقا می‌بخشد. به طوری که مدت زمان قرار گرفتن در قسمت روشن دستگاه شاتل در این موش‌ها افزایش پیدا کرد. هیپوکامپ در روند شکل‌گیری حافظه از جمله حافظه فضایی، تعیین مکان اشیاء در محیط و یادآوری، نقش اساسی دارد.^(۱۳-۱۶) بررسی‌های گذشته نشان داده‌اند که روزهای ۱۳ تا ۱۹ بارداری مهم‌ترین زمان برای پیشرفت سیستم عصبی در هیپوکامپ است.^(۱۷)

- lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *J Pharmacol Exp Ther* 2002 Jul; 302(1): 138-44
2. Kren V, Walterova D. Silybin and silymarin—new effects and applications. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2005 Jun 149(1): 29-41
3. Manna SK, Mukhopadhyay A, Van NT, Aggarwal BB. Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF-Kappa B, c-Jun N-Terminal kinase, and apoptosis. *J Immunol* 1999 Dec 15; 163(12): 6800-9
4. Pardhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res* 2006 Nov; 124(5): 491-504
5. Kummer V, Maskova J, Canderle J, et al. Estrogenic effects of silymarin in ovariectomized rats. *Vet Med-Czech* 2001 46(1): 17-23
6. Girhari L, Guptu and A.C. Rana., Plant *Withania somnifera* (Ashwagandha): A Review. *Pharmacology Rev* 2007; 1(1):129-36
7. Kittur S, Wilasrusmee S, Pedresen WA, et al. Neurotrophic and neuroprotective effect of milk thistle (*Silybum marianum*) on neurons in culture. *J Mol Neurosci* 2002 Jan 18(3): 265-9
8. Wang MJ, Lin WW, Chen HL, et al. Silymarin protects dopaminergic neurons against lipopolysaccharide-induced neurotoxicity by inhibiting microglia activation. *Eur J Neurosci* 2002 Dec; 16(11): 2103-12
9. Farr S, Banks W, and Morley J., Potential use of estrogen-like drugs for the prevention Alzheimers disease(2000) *J. Brain Res* . 842(2) : 263

که سلیمارین سبب افزایش رشد نورون‌ها و تقویت عملکرد عامل تغذیه‌ای PC12 برای جلوگیری از آپوپتوز سلول‌ها در اثر تنش اکسیداتیو در نورون‌های هیپوکامپی می‌شود. در واقع سلیمارین باعث اثرات رشد نورونی و حفاظت عصبی بر روی سیستم عصبی می‌شود.^(۷)

سلیمارین اثرات استروژنیک دارد و شباهت ساختار آن با استرادیول سبب اتصال آن به گیرنده‌های استروژنی در پستانداران می‌شود.^(۲۴،۹) از آنجا که استرادیول سبب افزایش آزادسازی استیل کولین و در نتیجه تسهیل یادگیری می‌شود، سلیمارین را جزء استروژن‌های ضعیف با فعالیت زیست‌شناختی 10^{-2} تا 10^{-5} از 10^{-7} - بتا استرادیول طبقه‌بندی می‌کنند.^(۹،۲) بنابراین سلیمارین می‌تواند همانند 10^{-7} بتا استرادیول با اثر گذاشتن بر گیرنده‌های آلفا بر یادگیری مؤثر باشد.

سلیمارین به دلیل شباهت ساختاری با هورمون‌های استروئیدی توانایی ورود به هسته و تأثیر بر روی بیان ژن و در نتیجه تغییر در تولید پروتئین‌ها را دارد.^(۱۰، ۲۱) اثرات مثبت استروژن بر روی حافظه و یادگیری به اثبات رسیده است. داده‌های اخیر بیان می‌کند که کاهش حاد و مزمن استروژن در ناحیه پیرامیدال هیپوکامپ مراحل تشکیل سیناپس را مختل می‌کند و این اختلال با درمان مزمن استروژنی اصلاح می‌شود^(۲۱) و می‌تواند تغییراتی در شکل‌گیری سیناپس و خاردندریتی هیپوکامپ ایجاد کند.^(۲۲،۹) نتایج پژوهش حاضر نیز مؤید آن است که علاوه بر حضور گیرنده‌های استروژنی، که در هیپوکامپ اثرات ایمنی را فعال می‌کنند،^(۲۳) به کار بردن سلیمارین باعث ارتقای حافظه و یادگیری شده است. برای روشن شدن دقیق و کامل مکانیسم‌های مولکولی در این اثر به مطالعه‌های پیش‌تری نیاز است.

* مراجع:

1. Kong JS, Jeon YJ, Kim HM, et al. Inhibition of inducible nitric-oxide synthase expression by silymarin in

10. Imwalle, D., scordalakes, E and Rissman, E., Individual difference in estrogen receptor α in select brain nuclei are associated with individual difference in aggression (2002). *Horm Behave*, 42(4); 484
11. Jahanshahi, M., Sadeghi, Y., Hosseini, A., Nashdi, N., The effect of spatial learning on the number of astrocytes in rat dentate gyrus. *J. Neuroanatomy*, 6:51-53 (2007)
12. Yang, Z., zhang, J., Effect of antisense oligonucleotide of noggin on spatial learning and memory. *J Acta pharmacol*; 24(5) : 394 – 397 (2003)
13. Carrer, H., Araque, A., and Buno, W. Overectomy-induced disruption of long-term synaptic depression in the hippocampal CA1 region in vivo is attenuated with chronic estrogen replacement. *J. Neurobiology of learning and memory* (2004). 83(1); 13-21
14. Svagera Z; skottova N; vana P; vecera R; Urbanek K; Belejova M; kosina P and simanek V. plasma lipoproteins in transport of silibinin, an antioxidant flavonolignan from *Silybum marianum*. *Phytother. Res.* 2003; 17: 524-530
15. G. Schuster, J. C. Cassel and B. Will. Silymarin-A hepatoprotective agent. *Neurobiol Learn Mem.* 68, 86-91 (1997)
- 16- Y. T. Kim, Y. J. Yi, M. Y. Kim, Y. Bu, Z. H. Jin, H. Choi, S. Dore, et al. Natural antioxidants in chemoprevention. *Am J Chin Med* 36, 287-99 (2008)
17. A. J. Bayer S The Rat Nerves System Academic Press, San Diego, CA (1995)
18. C. Reid, J. Edward, M. Wang, Y. Manybeads, L. Mike, N. Martinez, L. La Grange, et al. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Planta Med* 65, 241-4 (1999)
19. S. Neese, L. La Grange, E. Trujillo and D. Romero. The use of silymarin in the treatment of liver disease. *BMC Complement Altern Med* 4, 4 (2004)
20. P. Kidd and K. Head. Biochemical effect of the flavolignan Silibin on RNA, protein and DNA synthesis in rat liver. *Altern Med Rev* 10, 193-203 (2005)
21. M. Day and M. Good. silibinin, modulates steroid secretion in human pathological adrenocortical cells. *Neurobiol Learn Mem* 83, 13-21 (2005)
22. C. S. Wooley, E. Gould, M. Frankfurt and B. S. McEwen. Antioxidant properties of the flavonoids. *J Neurosci* 10, 4035-9 (1990)
23. S. M. Fernandez, M. C. Lewis, A. S. Pechenino, L. L. Harburger, P. T. Orr, J. E. Gresack, G. E. Schafe, et al. Inhibition of transformation in cultured rat tracheal epithelial cells by potential chemopreventive agents. *J Neurosci* 28, 8666-7 (2008)
24. A. Ziolkowska, A. S. Belloni, G. G. Nussdorfer, M. Nowak and L. K. Malendowicz. Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in mouse skin model. *Int J Mol Med* 18, 1165-8 (2006)
25. G. Kempermann, S. Jessberger, B. Steiner and G. Kronenberg. Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA. *Free Radical Trends Neurosci* 27, 447-52 (2004)