Archive of SID

بررسی اثر عصاره بذر گیاه دارویی خار مریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) بر روند تشکیل آب مروارید در چشم موش صحرایی ناشی از تجویز گالاکتوز

حسن فلاح‌حسینی[1*]، علی بمان زارعی[2]، علی بابایی زارچ[3]، رامین حشمت[4]

۱- استادیار پژوهش، گروه فارماکولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
۲- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)
۳- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۴- دستیار اپیدمیولوژی، گروه اپیدمیولوژی و آمار حیاتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان قدس، خیابان بزرگمهر، پلاک ۹۷
پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: ۱۴۴۶-۱۳۱۴۵
تلفن: ۶۴۶۲۱۷۹ (۰۲۱)، نمابر: ۶۴۶۵۵۵۴ (۰۲۱)
پست الکترونیک: huseini_fallah@yahoo.com

چکیده

افزایش غلظت رادیکال آزاد اکسیژن و کاهش غلظت گلوتاتیون در عدسی چشم بیماران مبتلا به دیابت از عوامل مهم در ایجاد و تسریع روند شکل‌گیری آب مروارید شناخته شده است. در تحقیقات آزمایشگاهی تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش غلظت گلوتاتیون موجب مهار پیشرفت آب مروارید شده است. با توجه به مطالب فوق در این تحقیق عصاره بذر گیاه دارویی خار مریم (سیلی‌مارین) به دلیل خواص آنتی اکسیدانی جهت مهار پیشرفت آب مروارید در چشم موش صحرایی ناشی از تجویز گالاکتوز (مدل دیابتی) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۰ رأس موش صحرایی به شکل تصادفی در سه گروه تقسیم‌بندی شدند. یک گروه از موش‌ها با غذای حیوانخانه و گروه کنترل و سیلی‌مارین با غذای حاوی ۳۰ درصد گالاکتوز تغذیه شدند. به گروه سیلی‌مارین روزانه یک بار سیلی‌مارین با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراکی و به گروه کنترل بطور مشابه دارونما تجویز شد. مراحل تشکیل آب مروارید در چشم موش‌های هر سه گروه روزانه به وسیله افتالموسکوپ و نیز چشم غیر مسلح مورد آزمایش قرار گرفت. به علاوه غلظت گلوتاتیون و لیپیدپراکسیداز در عدسی یکی از چشم همه موش‌ها در هر سه گروه در روز ۲۰ اندازه‌گیری شد. نتیجه آنکه در عدسی چشم موش‌های گروه غذای حیوانخانه هیچ‌گونه تغییری حاصل نشد. در گروه کنترل مرحله اول تشکیل آب مروارید به طور میانگین بعد از ۷ الی ۹ روز شروع و مرحله چهارم تشکیل آب مروارید در روز ۱۹ الی ۲۳ شروع مشاهده شد. در گروه سیلی‌مارین کلیه مراحل تشکیل آب مروارید به طور معنی‌داری به تاخیر افتاد و مرحله اول در روز ۳۰ الی ۳۳ به بعد و مرحله چهارم فقط در ۶۰ درصد موش‌ها و در روز ۳۷ الی ۴۳ مشاهده شد. در عدسی چشم حیوانات گروه سیلی‌مارین در مقایسه با گروه کنترل غلظت گلوتاتیون به طور معنی داری افزایش و لیپید پراکسیداز به طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج این تحقیق بیانگر آن است که احتمالاً خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، افزایش غلظت گلوتاتیون سلولی سیلی‌مارین روی سلول‌های عدسی چشم موش‌ها در مهار پیشرفت آب مروارید ناشی از گالاکتوز موثر واقع شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

گل‌واژگان: آب‌مروارید، سیلی‌مارین، داروی گیاهی، گالاکتوز، آنتی‌اکسیدان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آب مروارید یکی از علل اصلی نابینایی در اکثر کشورها می‌باشد. در گزارشی از سازمان بهداشت جهانی از حدود ۴۲ میلیون نابینا در جهان۱۷ میلیون نفر آنان را نابینایان ناشی آب مروارید تشکیل می‌دهند [۲،۱]. در انسان طول عمر مخصوصاً بالای ۵۰ سال، دیابت، امواج الکترومگنتیک، سابقه اسهال بیش از حد و غیر عادی، اختلالات کلیوی و استفاده بیش از حد تعدادی از داروها از علل ایجاد یا تسریع کننده تشکیل آب مروارید می‌باشند [۳،۴،۵،۶]. گزارش‌های منتشر شده حاکی از آن است که استرس اکسیداتیو از مکانیسم های موثر در تشکیل و تسریع‌کننده آب مروارید می باشد [7]. تاثیر مداوم نور خورشید روی اکسیژن موجود در عدسی چشم منجر به تولید رادیکال آزاد اکسیژن می شود. این رادیکال آزاد اکسیژن به پروتئین های کریستالین عدسی آسیب می‌رساند و همچنین با تاثیر روی آنزیم پروتیولیتک از دفع این پروتئین های آسیب‌دیده از عدسی جلوگیری می کند [۶،۷]. این عمل یکی از مکانیسم های شروع تشکیل آب مروارید شناخته شده است. در بدن دفاع طبیعی در مقابل اکسیداسیون و رادیکال آزاد توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو مانند گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و همچنین ویتامین های E و C انجام می شود [۸،۹،۱۰]. تجویز آنتی‌اکسیدان ها موجب تقویت سیستم دفاعی بدن علیه استرس اکسیداسیون و در نتیجه کاهش آسیب ناشی از اثر رادیکال آزاد در روند تشکیل آب‌مروارید می‌شود. در این راستا تجویز ویتامین E با خواص آنتی‌اکسیدانی به حیوانات آزمایشگاهی موجب مهار تشکیل آب‌مروارید ناشی از تجویز گالاکتوز شده است [۱۱]. خواص آنتی‌اکسیدانی در شماری از گیاهان دارویی از جمله گیاه خارمریم گزارش شده است. سیلی‌مارین عصاره بذر گیاه خارمریم مخلوطی از فلاونوییدها با خواص آنتی‌اکسیدانی حتی قوی‌تر از ویتامین E است [۱۲]. گزارش شده است که سیلی‌مارین علاوه بر اثر آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضدالتهابی، افزایش دهنده غلظت گلوتاتیون و مهار اختلال در نفوذپذیری غشای سلولی است که همگی در روند تشکیل آب مروارید دخیل هستند [۱۲،۱۳،۱۴]. با توجه به مطالب فوق در این تحقیق تغذیه موش صحرایی با غذای حاوی گالاکتوز به عنوان عامل ایجاد کننده آب مروارید (مدل دیابتی) و تجویز سیلیمارین به عنوان آنتی اکسیدان و مهارکننده استرس اکسیداسیون انتخاب شد و تاثیر این داروی گیاهی در روند تشکیل آب مروارید بررسی شد.

روش کار

تهیه مواد و حیوان

۳۰ رأس موش صحرایی سالم از نوع ویستار به وزن ۷۰ الی ۸۰ گرم و سن ۴۵ روزه از جنس نر از موسسه تحقیقات رازی کرج خریداری شد.

قرص (۱۶ میلی‌گرمی) داروی گیاهی سیلی‌مارین و دارونما (غذای حیوانخانه) از پژوهشکده گیاهان دارویی دریافت گردید.

غذای حیوانات که مخلوطی از ۳۰ درصد گالاکتوز و ۷۰ درصد غذای تهیه شده طبق روش آقای گوپتا و همکارانشان بود در پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه شد [۱۵].

گروه‌های مورد مطالعه

۳۰ رأس موش صحرایی به طور تصادفی در سه گروه مساوی تقسیم شدند. موش‌ها در قفس‌های جداگانه و در شرایط محیطی مشابه نگهداری شدند. جهت ایجاد آب مروارید در چشم موش ها به دو گروه از این حیوانات غذای مشابه که حاوی ۳۰ درصد گالاکتوز بود، به مدت ۴۰ روز داده شد. مقدار مصرف غذای حاوی گالاکتوز در روز برای هر موش حدود ۲۰ گرم بود. یک گروه از موش‌ها با غذای حیوانخانه تغذیه شد.

در این تحقیق، گروهی از موش ها که با غذای حیوانخانه تغذیه می شدند و نیزگروهی از موش ها که با غذای حاوی ۳۰ درصد گالاکتوز تغذیه می‌شدند به عنوان گروه‌های کنترل انتخاب گشته و دارونما دریافت نمودند. به گروه سوم همزمان با شروع تغذیه غذای حاوی ۳۰ درصد گالاکتوز، داروی گیاهی سیلی‌مارین تجویز و به عنوان گروه سیلی‌مارین انتخاب شد. داروی گیاهی سیلی‌مارین با دوز خوراکی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روزی یک بار (روزی یک عدد قرص) یک ساعت قبل از غذا به مدت ۴۰ روز به موش های گروه سیلی‌مارین تجویز گردید. به گروه های کنترل به طور مشابه قرص دارونما تجویز شد. روش تجویز سیلی‌مارین و انتخاب دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم طبق گزارش‌های قبلی و طبق نتایج در آزمایش پایلوت به دست آمد [۱۶].

سنجش مراحل تشکیل آب مروارید

عدسی چشم موش‌ها در هر گروه روزانه با چشم غیر مسلح و همچنین افتالموسکوپ توسط فردی که از نوع گروه حیوانات اطلاعی نداشت معاینه و روند تشکیل آب مروارید به چهار مرحله تقسیم‌بندی شد [۱۵]: ۱- در اوایل تشکیل آب مروارید حباب‌های کوچک و تغییراتی در اطراف عدسی چشم رخ می‌دهد که با افتالموسکوپ و بعداً با چشم قابل رؤیت است. ۲- در مرحله دوم یک شکاف سه گوش که اطراف آن را حباب‌های کوچک احاطه کرده است در مرکز عدسی ظاهر می‌شود. ۳- در مرحله سوم عدسی در مرکز شیری رنگ شده و شفافیت خود را از دست داده

www.SID.ir

Archive of SID

و شکاف سه گوش ناپدید می‌شود. ۴- در مرحله چهارم یا آب مروارید کامل، عدسی کاملاً شفافیت خود را از دست می‌دهد و کدر می‌شود.

اندازه‌گیری غلظت گلوتاتیون (glutathione)(GSH) و لیپید پراکسید (lipid peroxides)(LPO):

در روز ۲۰ پس از شروع مطالعه عدسی چشم چپ تمامی موشها را در هر ۳ گروه بعد از بیهوشی (با ترزیق پنتوباربیتول) بیرون آورده و در محلول سرد KCl ۰/۱۵ M وmM EDTA۱/۰ هموژنیز کرده و میزان غلظت GSH وLPO آن اندازه‌گیری شد. غلظت GSH طبق روش DTNB و غلظت LPO طبق روش تیوباربوریک اسید اندازه‌گیری شد [۱۷،۱۸].

آنالیز داده ها

برای تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده کامپیوتر از نرم‌افزارspss ویرایش ۱۱/۵ استفاده شد. برای مقایسه متغیرها در دو گروه کنترل و سیلی‌مارین با توجه به کمی بودن نوع آنها و عدم تبعیت از توزیع نرمال، از آزمون غیر پارامتریک Mann-Whitney-U test استفاده گردید. برای بررسی اختلافات، سطح معنی‌داری برابر $p< ۰/۰۵$ ، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

مراحل تشکیل آب مروارید

در هیچ یک از موش های که با غذای حیوانخانه تغذیه می‌شدند مراحل تشکیل آب مروارید مشاهده نشد. در تمام موش‌های گروه کنترل مرحله اول تشکیل آب مروارید بسیار سریع و بعد از ۷ الی ۹ روز شروع و آب مروارید کامل بعد از ۲۹ الی ۳۵ روز مشاهده شد. در گروه سیلی‌مارین مرحله اول تشکیل آب مروارید با تاخیر و در روز ۱۹ الی ۲۳ شروع و آب مروارید کامل فقط در ۶۰ درصد موش‌ها بعد از ۳۷ الی ۴۱ روز مشاهده شد. نتایج معاینات روزانه عدسی چشم موش‌ها در جدول شماره ۱ نشان داده است. آنالیز آماری نشان داد که کلیه مراحل تشکیل آب مروارید در گروه سیلی‌مارین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۰۱$) به تاخیر افتاده است.

غلظت GSH و لیپید پراکسید LPO

میانگین غلظت GSH و LPO در عدسی چشم موش‌ها در روز ۲۰ در جدول شماره ۲ آمده است.

میانگین غلظت GSH وLPO در عدسی چشم موش‌های گروه کنترل با گروه سیلی‌مارین مقایسه شد. آنالیز آماری نشان داد که میزان غلظت GSH در گروه سیلی‌مارین به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است. به علاوه آنالیز آماری نشان داد که میزان غلظت LPO در گروه سیلی‌مارین به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۰۱$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است.

جدول شماره ۱- میانگین مدت زمان و انحراف معیار تشکیل مراحل مختلف آب مروارید در چشم موش‌های صحرایی در گروه کنترل و سیلی‌مارین

گروه موش ها (۱۰ رأس)	مرحله تشکیل آب مروارید			
	۱	۲	۳	٤
سیلی‌مارین ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۲۱/۰ ± ۱/۴*	۲۵/۰ ± ۰/۸*	۳۱/۷ ± ۱/۳*	۴۳/۲ ± ۵/۱*
کنترل با دارونما	۸/۰ ± ۰/۸	۱۱/۰ ± ۰/۸	۱۹/۰ ± ۱/۴	۳۱/۰ ± ۱/۸

* میزان تغییرات با $P< ۰/۰۵$ معنی دار بود.

جدول شماره ۲- میانگین غلظت گلوتاتیون و لیپید پراکسیداز بعد از ۲۰ روز در عدسی چشم موشهای صحرایی در گروه کنترل و سیلی‌مارین(نتایج گروه کنترل با گروه سیلی‌مارین مقایسه و مورد آزمون آماری قرار گرفت).

گروه موش‌ها (۱۰ رأس)	غلظت گلوتاتیون (nmol/lens)	غلظت لیپید پراکسیداز (pmol/lens)
تغذیه غذای حیوانخانه	۱۴۰/۸ ± ۱۲/۳	۳۰/۴±۳/۲
کنترل	۶۰/۴±۷/۳	۶۰/۸±۵/۳
سیلی‌مارین ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۷۵/۳±۱۱/۲*	۴۵/۶±۴/۲*

* میزان تغییرات با $p< ۰/۰۵$ معنی‌دار بود.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

سیلی‌مارین مجموعه‌ای از فلاونوییدهای موجود در عصاره بذر گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) می‌باشد که دارای طیف وسیعی از اثرات بیوشیمیایی روی سیستم های مختلف بدن موجود زنده است [۱۲]. سیلی‌مارین موجب افزایش غلظت گلوتاتیون سلولی به مقدار ۳۵ درصد شده و با تثبیت غشای سلولی اختلال در متابولیسم و نفوذپذیری سلول‌ها را مهار می‌نماید و به علت آنکه یک آنتی اکسیدان قوی می باشد با مهار رادیکال های آزاد اکسیژن از اختلالات متابولیسمی توسط این مواد پیشگیری می‌کند [۱۲،۱۳،۱۴].

با توجه به آنکه کاهش غلظت گلوتاتیون، افزایش غلظت لیپید پراکسیداز و اختلال در نفوذپذیری غشا سلول های عدسی چشم حیوانات دیابتی عامل مهم در ایجاد آب مروارید شناخته شده است [۶،۷،۸]. سیلی‌مارین با مهار اختلالات فوق جهت پیشگیری از آب مروارید ناشی از گالاکتوز انتخاب شد.

در تحقیق حاضر تجویز روزانه ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلی‌مارین به موش صحرایی تحت رژیم غذایی گالاکتوز موجب شد که کلیه مراحل پیشرفت آب مروارید به تاخیر افتد و آب مروارید کامل در ۴۰ درصد از موش ها ایجاد نشود. به علاوه تجویز این عصاره منجر به افزایش غلظت گلوتاتیون و کاهش غلظت پراکسید لیپید در عدسی چشم موش‌ها شد.

با توجه به آنکه مکانیسم اثر سیلیمارین بر روند تشکیل آب‌مروارید مشخص نیست، احتمالاً خواص آنتی‌اکسیدانی و دیگر اثرات سیلی‌مارین روی اختلالات متابولیسمی ناشی از گالاکتوز روی سلول های عدسی چشم می‌تواند موثر باشد. گزارش تحقیقات متعدد حاکی از آن است که استرس اکسیداسیون با ایجاد اختلال در متابولیسم و نیز نفوذپذیری غشای عدسی عامل مهمی در ایجاد و پیشرفت آب مروارید در چشم حیوانات دیابتی می‌باشند [۹،۱۹]. کاهش غلظت گلوتاتیون عدسی و افزایش غلظت لیپید پراکسیداز در عدسی چشم حیواناتی که با رژیم غذایی گالاکتوز تغذیه می شوند حاکی از تاثیر استرس اکسیداسیون در ایجاد آب مروارید در عدسی چشم حیوانات دیابتی می‌باشد [۷،۸]. افزایش غلظت رادیکال آزاد اکسیژن در عدسی با تاثیر بر اسیدهای چرب اشباع نشده موجب تولید لیپید پراکسیداز می‌شود [۲۰]. سیلی‌مارین به عنوان یک آنتی اکسیدان مهارکننده اکسیداسیون لیپید و خنثی کننده رادیکال آزاد اکسیژن شناخته شده است [۱۳،۱۴].

این اثر احتمالاً می‌تواند در کاهش روند تشکیل آب‌مروارید موثر واقع شود. در مراحل تشکیل آب مروارید رادیکال آزاد اکسیژن با تاثیر بر آنزیم‌های متعدد در عدسی چشم به پروتئین‌های کریستالین عدسی آسیب می‌رساند و با اختلال در نفوذپذیری غشای سلول های عدسی موجب تجمع پروتئین های آسیب دیده در عدسی چشم می‌شود. این تجمع پروتئین‌ها موجب اختلال در متابولیسم سلول های عدسی شده و به عنوان هسته تشکیل آب مروارید عمل می‌کنند [۲۱]. سیلی مارین احتمالاً با خنثی نمودن رادیکال های آزاد اکسیژن و با افزایش غلظت گلوتاتیون و کاهش غلظت لیپید پراکسیداز در عدسی چشم حیوانات دیابتی از آسیب وارده به پروتئین‌های عدسی پیشگیری نموده و موجب مهار تشکیل آب‌مرواریدی شود. گزارش شده است که مهار تشکیل آب‌مروارید در حیوانات آزمایشگاهی توسط ویتامین E و همچنین عصاره زردچوبه نیز به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی این دو ماده می‌باشد [۱۱،۲۲].

اختلال در غشای سلولی ناشی از استرس اسمزی نیز نقش مهمی در تشکیل و پیشرفت آب مروارید در چشم حیوانات دیابتی دارد [۲۳]. یکی از اثرات مهم سیلی‌مارین نیز تاثیر آن روی غشای سلول ها و نفوذپذیری آن می باشد [۱۲]. سیلی‌مارین به گیرنده‌های غشای سلول‌های بدن که مسؤول جذب مواد مختلف می‌باشند متصل و با تغییر در ترکیبات آنها اختلالات نفوذپذیری غشاء سلولی را اصلاح می‌نماید. در نتیجه احتمالاً سیلی‌مارین با اصلاح اختلالات نفوذپذیری غشای سلولی، استرس اسمزی ناشی از دیابت را مهار می‌کند و در پیشگیری روند تشکیل آب مروارید موثر می‌باشد.

نتیجه کلی آنکه مشاهده مهار پیشرفت آب مروارید در گروه درمان شده با سیلی‌مارین حاکی از آن است که اثر آنتی اکسیدانی و تثبیت غشای سلولی ضدالتهابی، افزایش غلظت گلوتاتین سلولی توسط عصاره بذر گیاه خارمریم در عدسی چشم حیوانات دیابتی احتمالاً در مهار پیشرفت آب مروارید نقش عمده‌ای ایفا کرده است.

منابع

1. Taylor HR and Keeffe JE. World blindness: a 21st century perspective. *Br J. Ophthalmol.* 2001; 85(3): 261-6.

2. Roodhooft JM. Leading causes of blindness worldwide. Bull Soc Belge. *Ophtalmol*. 2002; 283: 19-25.

www.SID.ir

Archive of SID

3. Harding JJ. Recent studies of risk factors and protective factors for cataract. *Opin Ophthalmol*. 1997; 8(1): 46-9.

4. West SK and Valmadrid CT. Epidemiology of risk factors for age-related cataract. *Surv Ophthalmol*. 1995; 39(4): 323-34.

5. Rotimi C, Daniel H, Zhou J, Obisesan A, Chen G, Chen Y and Amoah A. Prevalence and determinants of diabetic retinopathy and cataracts in West African type 2 diabetes patients. *Ethn Dis*. 2003; 13 (2 Suppl 2): S110-7.

6. Boileau TW, Bray TM and Bomser JA. Ultraviolet radiation modulates nuclear factor kappa B activation in human lens epithelial cells. *Biochem. Mol. Toxicol.* 2003; 17(2): 108-13.

7. Giblin FJ. Glutathione: a vital lens antioxidant. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2000;16(2): 121-35.

8. Srivastava SK, Lal AK, Ansari NH. Defense system of the lens against oxidative damage: effect of oxidative challenge on cataract formation in glutathione peroxidase deficient-acatalasemic mice. *Exp. Eye. Res.* 1980; 31(4): 425-33.

9. Richer S. Antioxidants and the eye. *Int. Ophthalmol. Clin.* 2000; 40(4): 1-16.

10. Wu SY and Leske MC.Antioxidants and cataract formation: a summary review. *Int. Ophthalmol. Clin.* 2000 Fall; 40(4):71-81. Exp. Eye. Res. 1999; 68(6): 747-55.

11. Ohta Y, Torii H, Yamasaki T, Niwa T, Majima Y and Ishiguro I. Preventive action of vitamin E-containing liposomes on cataractogenesis in young adult rats fed a 25% galactose diet. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 1997; 13(6): 537-50.

12. Vogle G. Studies on pharmacodynamics, site and mechanism of action of silymarin the antihepatotoxic principale from silybum marianum (L.) Gaert. *Arzneim Forsch*. 1979; 25: 179-185.

13. Campos R, Garrido A. Silybin dihemsuccinate protects against glutathioine depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Plant. Meidca.* 1998; 55: 417-429.

14. Muzes G, Deak M. Effect of the bioflavonoids silybumarin on the in vitro activity and expression of superoxide dismutase (SOD) enzyme. *Acta. Physiol. Hungarica.* 1991; 78: 3-9.

15. Gupta SK, Joshi S, Tandon R, Mathur P. Topical aspirin provides protection against galactosemic cataract. *Indian. J. Ophthalmol.* 1997; 45(4): 221-5.

16. Skottova N, Krecman V, Walterova D and Ulrichova J. Effect of silymarin on serum cholesterol levels in rats. *Acta. Univ. Palacki. Olomuc. Fac. Med.* 1998; 141: 87-90.

17. Sedlak J and Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25(1): 192-205.

18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarburic acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95: 351-358.

19. Gerster H. Antioxidant protection of the ageing macula. Age Ageing, 1991; 20: 60-69.

20. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lipids.* 1987; 44: 227-253.

21. Gerster H. Antioxidant vitamins in cataract prevention. Z. *Ernahrungswiss* 1989; 28: 56-75.

22. Palla S, Kamala K, Bhanuprakash GR. Effect of curcumin on galactose-induced cataractogenesis in rats. *Molecular Vision* 2003; 9:223-230.

23. Ohta Y, Yamasaki T, Niwa T, Goto H, Majima Y. Ishiguro I. Cataract development in 12-month-old rats fed a 25% galactose diet and its relation to osmotic stress and oxidative damage. *Ophthalmic Res.* 1999; 31(5): 321-31.

www.SID.ir