

## اثر یک دوره تمرین استقامتی شنا به همراه مصرف مکمل سیلیمارین در دوران بارداری بر تغییرات سطوح فاکتور رشد سلول کبدی در بافت کبد نوزادان موش‌های باردار

دکتر شادمهر میردار هریجانی<sup>۱</sup>، حسین علی اصغرزاده اولیایی<sup>۲</sup>،

### چکیده

**زمینه و هدف:** رشد و تکامل جنینی به تعادل پیچیده مواد مغذی، فعالیت بدنی و فاکتورهای رشدی در زمان‌های دقیق در طی بارداری بستگی دارد. در این تحقیق اثر یک دوره تمرین استقامتی شنا به همراه مصرف مکمل سیلیمارین در دوران بارداری بر تغییرات سطوح پروتئین فاکتور رشد سلول کبدی در بافت کبد نوزادان موش‌های صحرایی باردار مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ۴۰ سر موش صحرایی باردار نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 200$  گرم به ۵ گروه: ۱. کنترل؛ ۲. حلال؛ ۳. تمرین؛ ۴. سیلیمارین؛ ۵. تمرین - سیلیمارین تقسیم شدند. موش‌های گروه تمرین از روز اول بارداری تا روز زایمان در استخر ویژه‌ای وادار به شنا شدند. سیلیمارین به صورت زیرپوستی (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) ۳ بار در هفته به آزمودنی‌ها تزریق شد. نمونه‌گیری بافتی از کبد نوزادان ۲ روز پس از تولد انجام و سطوح فاکتور رشد سلول کبدی با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد ( $\alpha = 0.05$ ).

**یافته‌ها:** سطوح HGF کبد نوزادان در گروه‌های تمرین - سیلیمارین، تمرین و سیلیمارین نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۵۴۷ درصد ( $p = 0.001$ )، ۳۱۳ درصد ( $p = 0.001$ ) و ۲۱۳ درصد ( $p = 0.041$ ) افزایش یافت. همچنین وزن هنگام تولد نوزادان نیز در گروه‌های سیلیمارین ( $p = 0.012$ ) و تمرین - سیلیمارین ( $p = 0.005$ ) افزایش معنی‌دار نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه در ترکیب با مکمل سیلیمارین احتمالاً باعث افزایش رشد و نمو کبد نوزادان می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** فاکتور رشد سلول کبدی، تمرین شنا، سیلیمارین، نوزاد، کبد.

## مقدمه

انجام فعالیت‌های ورزشی در دوران بارداری، به دلیل شرایط فیزیولوژیکی خاص بدن می‌تواند نتایج متفاوتی برای مادر و نوزاد به همراه داشته باشد. تعداد زیادی از مطالعات حاکی از آنند که انجام فعالیت‌های ورزشی در طول بارداری افزایش رشد جنین را نشان می‌دهند (۱-۳). تمرینات منظم و مداوم ورزشی در دوران بارداری حجم پلاسمای استراحتی مادر (و شاید جنین)، برون ده قلب و عملکرد جفت را افزایش می‌دهد. این تغییرات، کاهش حد در تحویل اکسیژن و مواد مغذی در طول فعالیت ورزشی را خنثی می‌کند و احتمالاً تحویل مواد مغذی را به مدت ۲۴ ساعت در جفت افزایش می‌دهد (۳). تمرینات ورزشی منظم تغییرات مطلوبی در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی نیز ایجاد می‌کند (۴) و بافت کبد نیز با رهاسازی عوامل آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای رشدی مانند فاکتور رشد سلول کبدی ۱ (HGF) به درون گردش خون نقشی حیاتی را در رشد و بقای سلولی را در این میان ایفا می‌کند (۵-۷). HGF به عنوان یک فاکتور هتروداایمر برای اندام‌زایی و مرفوژنز در بسیاری از بافت‌ها و اندام‌های مختلف مهم می‌باشد (۸). پژوهشگران معتقدند HGF از جمله فاکتورهای رشدی است که به عنوان هپاتوتروپیک و هپاتوتروفیک عمل می‌کند و نقشی ضروری در رشد و هموستاز کبد بازی می‌کند (۹). در بررسی اثرات فعالیت ورزشی در آزمودنی‌های فعال انسانی محققین نشان دادند پس از انجام فعالیت‌های ورزشی سطوح HGF سرم ورزشکاران افزایش می‌یابد (۱۰) برخی دیگر نیز نتیجه گرفتند که یک جلسه انقباضات عضلات کششی منجر به افزایش HGF می‌شود که برای فعال سازی سلول‌های ماهواره‌ای کافی است و ممکن است هم شامل پاسخ سیستمیک HGF و هم موضعی آن به آسیب ناشی از انقباضات باشد (۱۱). سیلیمارین نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و یک ترکیب ضد التهابی است و تاثیر مثبت آن بر بقا و رشد تا کنون در رده‌های سلولی مختلفی به اثبات رسیده است. سیلیمارین با ورود به هسته و عمل بر آنزیم‌های RNA پلیمراز ۱ و رونویسی tRNA، به افزایش تشکیل ریبوزومی منجر می‌شود (۱۲) این عمل به نوبه خود سنتز پروتئین و DNA را تسریع می‌کند (۱۳) که دستگاه بیوسنتز را در سیتوپلاسم افزایش می‌دهد و بنابراین به افزایش میزان سنتز پروتئین‌های ساختاری و عملکردی منجر می‌شود (۱۳). در همین راستا آشتیانی و همکاران (۱۳۸۹) در پژوهشی گزارش کردند تیمار سلول‌ها با سیلیمارین در مدت زمان مشخص، می‌تواند با افزایش میزان بقای سلول‌های بنیادی و همچنین افزایش سرعت رشد، کارایی این سلول‌ها در حیطه بالینی را افزایش دهد (۱۴). به علاوه در بررسی اثرات داروی لیوومارین (حاوی ماده موثر سیلیمارین) بر رشد و نمو جنینی موش‌های نژاد NMRI، نشان داده شده است که استفاده از این دارو در طی ۳ روز حساس حاملگی باعث هیچ گونه ناهنجاری جنینی و جفتی نشد و به علاوه معیارهای ریخت‌شناسی و ظاهری شامل وزن، طول، انحنای جنین، اندام‌های حرکتی و نیز فاکتورهای میکروسکوپی را در هیچ یک از گروه‌ها تغییری نداد (۱۵). با توجه به اثرات گزارش شده انجام فعالیت‌های ورزشی و مکمل سیلیمارین بر رشد و نمو جنینی، نویسندگان این مطالعه بر آن شدند تا اثرات تمرین‌شنای اسقامتی زیربیشینه به همراه مصرف مکمل سیلیمارین در طی بارداری را بر سطوح HGF بافت کبد نوزادان را بررسی نمایند.

## مواد و روش ها:

در این پژوهش از ۴۰ سر موش صحرایی ماده با میانگین وزنی  $20 \pm 200$  گرم استفاده شد. موش‌ها به صورت گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای  $2 \pm 23$  درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته نگهداری شدند. در طی دوره پژوهش غذای استاندارد به صورت پلت و آب به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. یک هفته پس از انتقال به آزمایشگاه و سازگاری با محیط جدید، جهت آشنایی با آب و کاهش استرس شنا و سازگاری با شرایط تمرینی، حیوانات به استخر شنا منتقل شده و تمرین شنا را به مدت یک هفته انجام دادند. طی این یک هفته تمرین با ۱۰ دقیقه آغاز و با افزایش پنج دقیقه تمرین در هر روز تا پایان هفته به ۳۰ دقیقه رسید. سپس هر دو موش ماده با یک موش نر جهت جفت‌گیری در یک قفس قرار گرفتند و پس از ۴۸ ساعت با مشاهده پلاک واژنی بر واژینال، روز اول بارداری مشخص شد (۱۶). سپس موش‌ها به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل ۲. گروه حلال ۳. گروه تمرین ۴. گروه سیلیمارین ۵. گروه تمرین-سیلیمارین.

اندازه‌گیری وزن نوزادان بلافاصله پس از تولد انجام شد. کلیه مراحل تمرین و اجرای پژوهش مطابق با دستورالعمل موسسه سلامت و تغذیه در مورد مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه مازندران انجام شد.

**برنامه تمرینی:** موش‌های باردار گروه تمرین یک بار در روز و پنج روز در هفته در استخر ویژه‌ای به ابعاد ۵۰ × ۵۰ × ۱۰۰ سانتی‌متر که توسط میزدار و همکاران (۲۰۱۲) در دانشکده تربیت بدنی دانشگاه مازندران ساخته شده بود به شنا پرداختند. برنامه اصلی تمرین شنا پس از بارداری با ۳۰ دقیقه آغاز شد که این مدت با افزایش پنج دقیقه روزانه به زمان تمرین در هفته دوم به ۶۰ دقیقه رسید. زمان ۶۰ دقیقه تا پایان هفته سوم ثابت بود. اضافه بار تمرینی از طریق تنظیم قدرت و سرعت آب هنگام شنا انجام می‌شد که در هفته سازگاری با تمرین، ثابت و در هفته‌های تمرین در طی دوران بارداری با ثابت ماندن زمان ۶۰ دقیقه، سرعت و قدرت جریان آب از ۷ به ۱۵ لیتر در دقیقه افزایش می‌یافت (۱۷).

نحوه تهیه و تزریق سیلیمارین و حلال سیلیمارین ( اتانول مطلق و آب مقطر): پروتکل تزریق سیلیمارین و حلال سیلیمارین ( اتانول مطلق و آب مقطر)، هفته ای ۳ روز و به مدت ۳ هفته ادامه داشت. برای تهیه محلول سیلیمارین ابتدا ۱/۶ گرم سیلیمارین با ۴ سی سی اتانول مطلق حل شده و سپس با آب مقطر به حجم ۱۶ سی سی رسانده شد. دوز سیلیمارین، ۱۰۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن آزمودنی‌ها بود که هفته‌ای ۳ روز در طول دوران بارداری به صورت زیرپوستی به آنها تزریق می‌شد (۱۸). حلال سیلیمارین هم به همان صورت تهیه (۴ سی سی اتانول مطلق + ۱۲ سی سی آب مقطر) و به آزمودنی‌های گروه حلال تزریق شد.

بافت‌برداری و تحلیل آزمایشگاهی: نوزادان دو روز پس از تولد با زایلوزین (۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده (۱۹) و سپس با قیچی سر بریده شده و بافت کبد آن‌ها خارج شد. نمونه‌های بافت کبد در میکروتیوپ قرار گرفت و به وسیله نیتروژن مایع، فریز شده و در یخچال در دمای  $-80$  درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از جمع‌آوری کلیه نمونه‌ها، بافت‌های یخ زده پودر شدند و هموژنیزاسیون بافت‌ها به وسیله محلول سالین بافرشده با فسفات انجام گرفت. سطوح HGF با استفاده از کیت Rat

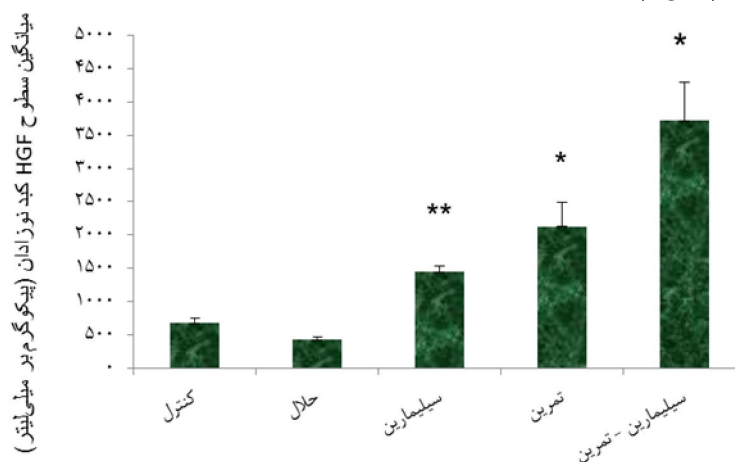
China Hepatocyte Growth Factor (HGF), CUSABIO BIOTECH, Wuhan, و با حساسیت ۴ pg/ml روش الایزا تعیین گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل یافته‌های این پژوهش از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح خطای ( $\alpha \leq 0/05$ ) استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS.21 انجام گرفت.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از پژوهش مبین این است که یک دوره تمرین استقامتی شنا با شدت زیربیشینه موجب افزایش معنی‌دار ۳۱۳ درصدی در سطوح HGF کبد نوزادان در مقایسه با گروه کنترل شده است ( $P=0/001$ ) (شکل ۱). علاوه بر این استفاده از این مکمل افزایش ۲۱۳ درصدی سطوح HGF کبد نوزادان ( $P=0/041$ ) را در پی داشته است (شکل ۱). در عین حال یافته‌های پژوهش در طی اثر ترکیبی دو عامل تمرین استقامتی شنا به همراه مکمل سیلیمارین حاکی از افزایش معنی‌دار ۵۴۷ درصدی سطوح HGF کبد نوزادان در مقایسه با گروه کنترل بود ( $P=0/001$ ) (شکل ۱).

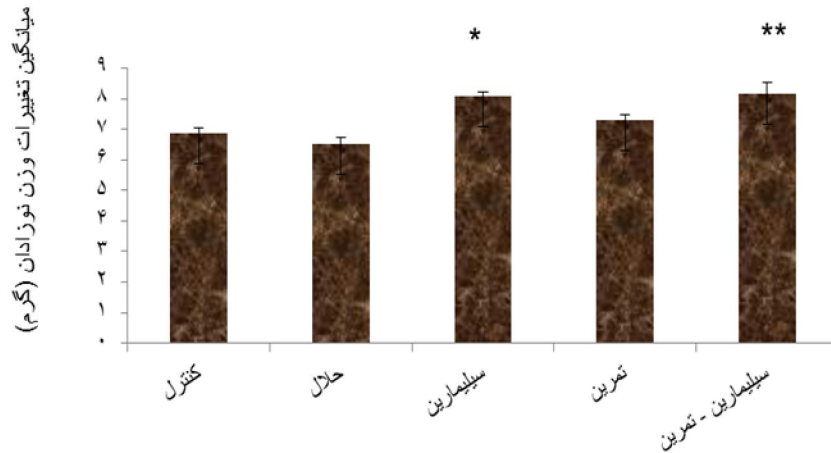


شکل ۱. میانگین سطوح HGF کبد نوزادان گروه‌های مختلف (پی‌کی‌گرم بر میلی‌لیتر).

علامت \* نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل ( $p = 0/001$ ) و \*\* نشانه معناداری نسبت به کنترل ( $p = 0/041$ ) می‌باشد.

تأثیر تمرین استقامتی شنا و مکمل سیلیمارین بر تغییرات وزن هنگام تولد نوزادان: با بررسی‌های صورت گرفته مشخص گردید انجام تمرین استقامتی شنا موجب افزایش وزن نوزادان شد که از  $6/88 \pm 0/53$  در گروه کنترل به  $7/29 \pm 0/59$  گرم در گروه تمرین رسید ( $P=0/932$ ). اما چنانچه انتظار می‌رفت مصرف مکمل سیلیمارین موجب افزایش وزن هنگام تولد نوزادان گروه سیلیمارین  $8/08 \pm 0/42$  ( $P=0/012$ ) و تمرین -

سیلیمارین  $1/04 \pm 1/17$  (P=0/005) نسبت به گروه کنترل شد که به ترتیب افزایش ۱۱ و ۱۲ درصدی را نشان می‌دهند (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات وزن هنگام تولد نوزادان گروه‌های مختلف (گرم).

علامت \* نشان معناداری نسبت به گروه کنترل (p = 0/012) و \*\* نشان معنی‌داری نسبت به کنترل (p = 0/005) می‌باشد.

### بحث و نتیجه‌گیری:

یافته اصلی پژوهش حاضر افزایش بیش از ۵ برابری سطوح HGF کبد نوزادان گروه تمرین - سیلیمارین بود. در تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر تمرین استقامتی شنا و مکمل سیلیمارین بر سطوح HGF کبد و وزن هنگام تولد نوزادان موش‌های صحرایی و جهت رعایت اصل اضافه بار تمرینی به منظور ایجاد سازگاری با شرایط تمرین از برنامه تمرینی زیربیشینه و پیشرونده استفاده شد. بر اساس نتایج پژوهشگران سطوح HGF بعد از فعالیت استقامتی افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد نوع فعالیت و سطح آمادگی ورزشکاران باعث ترشح و تعدیل فاکتورهای رشدی و سایتوکاین‌ها می‌شود. موریسی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی فعالیت ورزشی فوق بیشینه پاروزنی بر نمونه‌های خون‌ساز مشاهده کردند که فعالیت ورزشی فاکتورهای رشدی یعنی HGF و فاکتور رشد اندوتلیال عروق<sup>۲</sup> (VEGF) را اندکی پس از فعالیت افزایش داد که در پژوهش آن‌ها فعال‌سازی آنژیوژنز به وسیله افزایش در HGF و VEGF نقش احتمالی هاپیوکسی را در تعدیل پاسخ مشاهده شده پس از فعالیت فوق بیشینه حمایت می‌کند (۱۰). برای ایجاد سازگاری‌ها در اثر تمرینات استقامتی، عوامل مختلفی باید به صورت موضعی و سیستمی باهم فعالیت کنند. هاپیوکسی موضعی ناشی از تمرینات استقامتی از ابتدایی ترین محرک‌ها برای ایجاد سازگاری‌هایی مثل افزایش چگالی مویرگی و ظرفیت اکسیداتیو می‌باشد. سازوکارهایی که نسبت به استرس‌های اکسیژنی حساس می‌باشند، در اثر تمرینات استقامتی می‌توانند نسبت به تغییرات ایجاد شده سازگار شوند (۱۷).

۱. Morici

۲ Vascular endothelial growth factor

ویژگی آنتی‌اکسیدانی و بازسازی سلولی به عنوان نتیجه افزایش سنتز پروتئین‌ها مهم‌ترین ویژگی سیلیمارین است به دلیل این که سیلیمارین از سد جفت عبور میکند و به میزان قابل توجهی در بافت‌هایی مانند کبد جنین حضور می‌یابد و مقدار انتقال آن در سراسر جفت به دوزی که به مادر داده می‌شود مربوط است (۲۰). به نظر می‌رسد که یکی از علل افزایش وزن بوجود آمده توسط سیلیمارین به علت تنظیم افزایشی HGF در بافت‌های مختلف از جمله جفت و کبد باشد. جفت به‌عنوان یک میانجی تغذیه‌ای و ایمونولوژیک بین مادر و جنین عمل می‌کند و هورمون‌های رشدی، سایتوکاین‌ها و مولکول‌های علامت‌دهنده که رشد جفت و جنین را تحریک می‌کنند، تولید می‌کند (۲۱). پراتر<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی اثرات پیچیده کورستین را در رشد اسکلتی جنین و جفت بررسی و عنوان کردند کورستین موجب تنظیم سطوح HGF، محافظت از ساختمان عروقی جفت و اسکلت جنین می‌شود (۲۱). بر اساس نتایج بدست آمده در پژوهش کوچ اصفهانی (۱۳۸۸) و همکاران مصرف خوراکی لیوومارین تعداد عروق خوی جفت و تعداد سلول‌های هوف بوئر جفت افزایش داد که به دنبال آن وزن و قطر جفت نیز افزایش یافت. آن‌ها دلیل این افزایش را به تشابه اسکلت کربنی فلاونوئید سیلیمارین به استروژن‌ها عنوان کردند و افزایش جریان خون رحمی را ناشی از آزاد کردن هیستامین و پروستاگلاندین توسط سیلیمارین بیان کردند و در همین راستا عدم کاهش سلول‌های هوف بوئر را دلیلی بر غیر آنتی ژنیک بودن سیلیمارین و افزایش ضریب ایمنی جفت در نظر گرفتند (۱۵).

با توجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، سیلیمارین موجب افزایش معنی‌دار بیش از ۲ برابری در سطوح HGF کبدی نوزادان نسبت به گروه کنترل شد. به منظور ایجاد توده مطلوب مرتبط با اندازه بدن، کبد مکانیسم‌های هیپرپلازی جبرانی را القا می‌کند. سیلیمارین چندین فاکتور رشدی را برای تنظیم چرخه سلولی و سنتز DNA تحریک می‌کند (۲۲). در تنها پژوهشی که در آن اثر سیلیمارین بر سطوح HGF بررسی شد گزارش گردید که درمان با ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن سیلیمارین به مدت ۷ روز به صورت خوراکی، سطوح پروتئین HGF کبد را در موش‌ها تا ۷۲ ساعت پس از هپاتکتومی جزئی کبد افزایش داد (۲۲). سیلیمارین با افزایش پروتئین‌های تنظیم‌کننده کلیدی مرحله G1 به S در چرخه سلولی (E2F, pRb, Cyclin D1) و Cyclin E، بازسازی کبد را تسریع می‌کند (۲۲). شکل فعال HGF نیز یک محرک قوی سنتز DNA و تحرک سلول است (۲۲) و به عنوان یک فاکتور رشدی، روند پیشرفت چرخه سلولی از G0 به مرحله G1 را تحریک می‌کند (۲۲). پژوهشگران نقش HGF را به‌طور جدی در رشد کبد جنین پیشنهاد کرده‌اند و بیان HGF و گیرنده‌اش را در کبد در مقایسه با دیگر بافت‌ها بالا گزارش کرده‌اند. همچنین گفته شده است که HGF در رشد سلول‌های خون‌ساز کبد حضور دارد که ممکن است HGF را نه تنها در تشکیل کبد بلکه در خون‌سازی نیز درگیر کند (۲۳). با توجه به تاثیر تمرینات ورزشی بر افزایش سطوح فاکتورهای رشدی و همچنین اثرات نیرومند سیلیمارین بر افزایش سطوح پروتئین‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی، استفاده از این فلاونوئید در طی بارداری با رشد و تکثیر سلول‌های کبدی جنین همراه می‌شود و از آن جایی که کبد مولکول‌های فعال و فاکتورهای رشدی بیولوژیکی مانند HGF را به گردش خون رها می‌سازد (۵) می‌توان پیشنهاد کرد که تمرینات استقامتی زیربیشینه به همراه تزریق مکمل سیلیمارین در طی دوران بارداری با رشد بیشتر جنین همراه خواهد بود که یافته‌های پژوهش حاضر موید این مطلب می‌باشد.

## سپاسگزاری:

نویسندگان مقاله از زحمات سرکار خانم مرضیه میردار جهت همکاری در اجرای این پژوهش تشکر می‌نمایند.

## References:

1. Kramer MS, McDonald SW. 2006. Aerobic exercise for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 3:1-6.
2. Hatch MC, Shu X-O, McLean DE, Levin B, Begg M, Reuss L, Susser M. 1993. Maternal exercise during pregnancy, physical fitness, and fetal growth. *Am J Epidemiol*. 137:1105-1114.
3. Clapp JF, 3rd. 2003. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and fetoplacental growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 110 Suppl 1:S80-85.
4. Surmen-Gur E, Ozturk E, Gur H, Punduk Z, Tuncel P. 1999. Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers: with special reference to haemoconcentration effect. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* .79:472-478.
5. Aoi W, Ichiishi E, Sakamoto N, Tsujimoto A, Tokuda H, Yoshikawa T. 2004. Effect of exercise on hepatic gene expression in rats: a microarray analysis. *Life Sci*. 75:3117-3128.
6. Thatch KA, Katz MS, Haber MM, Schwartz MZ. 2010. Growth factor modulation of hepatic inflammation: a novel approach to the management of total parenteral nutrition-associated liver disease. *J Pediatr Surg*. 45:89-94.
7. Delgado JP, Vanneaux V, Branger J, Touboul T, Sentilhes L, Mainot S, et al. 2009. The role of HGF on invasive properties and repopulation potential of human fetal hepatic progenitor cells. *Exp Cell Res*. 315:3396-3405.
8. Bahadori MH, Azarnia M, Ghasemian F. 2011. The effect of hepatocyte growth factor on mouse oocyte in vitro maturation and subsequent fertilization and embryo development. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 13:26-30.
9. Khai NC, Takahashi T, Ushikoshi H, Nagano S, Yuge K, Esaki M, et al. 2006. In vivo hepatic HB-EGF gene transduction inhibits Fas-induced liver injury and induces liver regeneration in mice: a comparative study to HGF. *J Hepatol*. 44:1046-1054.
10. Morici G, Zangla D, Santoro A, Pelosi E, Petrucci E, Gioia M, et al. 2005. Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 289:R1496-1503.
11. O'Reilly C, McKay B, Phillips S, Tarnopolsky M, Parise G. 2008. Hepatocyte growth factor (HGF) and the satellite cell response following muscle lengthening contractions in humans. *Muscle Nerve*. 38:1434-1442.
12. Sonnenbichler J, Zetl I. 1986. Biochemical effects of the flavonolignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers. *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*, Buffalo, New York (USA). 22-26.
13. Radko L, Cybulski W. 2007. Application of silymarin in human and animal medicine. *J Pre-Clin Clin Res* 1:22-26.
14. Ahmadi Ashtiani Hr, Alameh A, Hamidipour N, Rastgar Hossein S. 2010. Increasing rate of human bone marrow mesenchymal stem cell proliferation in the presence of silymarin. *J. Med. Plants Res*. 9:156-164.
15. Mohseni Koochesfahani H, Parivar K, Razmjoo M. 2009. Effect of the herbaceous medicine livomarin on growth and development of the NMRI Mice. *Quarterly Journal of Biological Sciences*. 2:1-6.

16. Koumentaki A, Anthony F, Poston L, Wheeler T. 2002. Low-protein diet impairs vascular relaxation in virgin and pregnant rats. *Clinical Science*. 102:553-560.
17. Mirdar Sh, Arab A, Hedayati M, Hajizade A. 2012. The effect of pregnant rat swimming on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  levels of neonatal lung. *Tehran Univ Med J*. 69:754-760.
18. Fraschini F, Demartini G, Esposti D. 2002. Pharmacology of silymarin. *Clinical drug investigation*. 22:51-65.
19. Van Pelt L. 1977. Ketamine and xylazine for surgical anesthesia in rats. *J Am Vet Med Assoc*. 171:842.
20. La Grange L, Wang M, Watkins R, Ortiz D, Sanchez M, Konst J, Lee C, Reyes E. 1999. Protective effects of the flavonoid mixture, silymarin, on fetal rat brain and liver. *J. Ethnopharmacol*. 65:53-61.
21. M.R. Prater CLL, C. Liang, S.D. Holladay. 2008. Placental Oxidative Stress Alters Expression of Murine Osteogenic Genes and Impairs Fetal Skeletal Formation. *Placenta* .29:802-808.
22. Tsai CC, Wu JP, Lin YM, Yeh YL, Lin CC, Kuo CH, et al. 2013. The effect of *Elephantopus scaber* L. on liver regeneration after partial hepatectomy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
23. Zarnegar R, Michalopoulos GK. 1995. The many faces of hepatocyte growth factor: from hepatopoiesis to hematopoiesis. *J Cell Biol*. 129:1177-1180.