

اثرات سیلیبینین در افزایش عملکرد شناختی و تعدیل فاکتور نوروتروفیک مغز در مدل آلزایمری القا شده با آمیلوئید بتا در موش صحرایی

منیره عزیزی^۱، سجاد سالاری^۲، مریم باقری^{*۲}

^۱ گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. ایمیل: maryam.bagheri@medilam.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۴

چکیده

مقدمه: بیماری آلزایمر (AD)، شایع‌ترین علت زوال عقل است. داروهای گیاهی به‌طور فزاینده‌ای به‌عنوان درمان جایگزین با اثرات جانبی پایین‌تر شناخته می‌شوند.

اهداف: این مطالعه با هدف بررسی اثرات محافظتی سیلیبینین بر عملکرد شناختی و بیان عوامل نوروتروفیک در مدل موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر انجام شد.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۴۰ سر) به گروه شم، ضایعه (تزریق $A\beta_{1-40}$ به روش استریوتاکسی)، گروه تیمار (تزریق $A\beta_{1-40}$ و گاواژ سیلیبینین در دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه حلال تقسیم شدند. عملکرد شناختی گروه‌ها با استفاده از تست رفتاری ماز آبی موریس ارزیابی شد. سپس با تهیه بافت هموژنیزه مغزی میزان BDNF و VEGF به روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. همچنین برش‌های مغزی با تکنیک نیسل رنگ‌آمیزی شد و شمارش نورونی در ناحیه هیپوکمپ انجام گرفت.

نتایج: میانگین تعداد نورون‌های ناحیه CA1 در گروه ضایعه‌دیده نسبت به شم کاهش معنی‌داری داشته است ($P = 0/004$), در حالی‌که درمان با سیلیبینین باعث افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌ها در این نواحی نسبت به گروه ضایعه‌دیده شده است ($P = 0/002$). همچنین درمان با سیلیبینین توانست باعث افزایش میزان فاکتورهای نوروتروفیک BDNF و VEGF در گروه حیوانات درمان‌شده نسبت به گروه ضایعه شود ($P \leq 0/05$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مقاله پتانسیل سیلیبینین را در کاهش علائم مرتبط با آلزایمر و محافظت از نورون‌های هیپوکمپ در برابر آسیب‌های مرتبط با بیماری از طریق افزایش سطوح فاکتورهای رشد BDNF و VEGF در مغز نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: بیماری آلزایمر، سیلیبینین، پروتئین آمیلوئید بتا، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی

۱. مقدمه

است و به‌تدریج حافظه و مهارت‌های شناختی را از بین می‌برد. روند ایجاد این بیماری با انباشت پروتئین نامحلول آمیلوئید بتا و از دست دادن سیناپس‌ها و مرگ نورون‌ها همراه است (۲). تجمع غیرطبیعی پروتئین آمیلوئید بتا در خارج از سلول‌های عصبی رخ می‌دهد و باعث تشکیل پروتئین تاو در داخل نورون‌های عصبی می‌گردد. مکانیسم‌هایی که باعث ایجاد بیماری AD می‌شوند هنوز به‌خوبی درک نشده‌اند. فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) brain-derived neurotrophic factor پروتئینی است که نقش مهمی در بقاء، نگهداری و رشد نورون‌ها ایفا می‌کند. همچنین این پروتئین در تنظیم شکل‌پذیری (پلاستیسیته) سیناپسی که برای

بیماری‌های نورودژنراتیو مغزی بیماری‌های مغزی هستند که باعث ایجاد آسیب‌های اجتماعی و اقتصادی زیادی در جامعه می‌شوند (۱). امروزه نزدیک به ۴۴ میلیون نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر (AD) مبتلا هستند. تخمین زده می‌شود که شیوع AD و بیماری‌های زوال عقل مرتبط با آن به بیش از ۱۰۷ میلیون نفر تا سال ۲۰۵۰ خواهد رسید، که می‌تواند هزینه‌ها و مشکلات فراوانی بر جوامع تحمیل کند. هر پنج سال یک‌بار، شیوع AD با افزایش سن تقریباً دو برابر می‌شود (۲). بیماری آلزایمر با تخریب پیشرونده نورون‌های مغزی مشخص می‌شود و یادگیری و حافظه را مختل می‌کند (۲). این بیماری به‌عنوان یک بیماری عصبی غیرقابل برگشت

۲. اهداف

در تحقیق حاضر اثر دوزهای مختلف عصاره سیلیبین بر بهبود حافظه و یادگیری و همچنین بیان فاکتورهای نوروتروفیک BDNF و vascular endothelial (VEGF) growth factor در مدل موش صحرایی آلزایمر مورد بررسی قرار گرفته است.

۳. مواد و روش‌ها

۱.۳. حیوانات

۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن (۳۲۰-۲۵۰) گرم به‌طور تصادفی به پنج گروه (۸ سر در هر گروه) تقسیم شدند. گروه ششم با تزریق استریوتاکسیک نرمال سالین (۴ میکرولیتر)، گروه ضایعه دریافت‌کننده $A\beta_{1-40}$ (A91-93) به روش استریوتاکسیک (۴ میکرولیتر)، گروه ضایعه-حلال تزریق $A\beta_{1-40}$ به روش استریوتاکسیک که به‌صورت روزانه با ۱ میلی‌لیتر حلال (نرمال سالین) به‌مدت دو هفته گاوژ می‌شد. در نهایت گروه‌های درمانی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیبین (۱۴) که درمان را به‌صورت گاوژ روزانه و به‌مدت دو هفته پس از تزریق $A\beta_{1-40}$ دریافت کردند. پروتکل حاضر پس از دریافت تاییدیه اخلاقی توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایلام به شماره IR.MEDILAM.REC.1398.036 انجام شد.

۲.۳. جراحی

پس از بیهوشی با کتامین/گزیلازین (۴۰/۱۰) میلی‌گرم بر کیلوگرم)، موه‌های سر حیوان ابتدا تمیز شد و در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت. پوست سر برداشته و ضد عفونی شد. بر اساس Paxinos Watson Atlas (۱۵) مختصات محل تزریق هیپوکمپ ($DV=2/8, ML=\pm 2, AP=-2/5$) مشخص شد. ۴ میکرولیتر از $A\beta_{1-40}$ رقیق شده (۱۶) با استفاده از سرنگ همپتون به‌صورت دوطرفه به هیپوکمپ تزریق شد. تزریق به آرامی و طی ۴ دقیقه انجام شد، نیدل به آرامی در عرض ۵ دقیقه پس از تزریق خارج شد. حیوان پس از بهبودی کامل به قفس بازگردانده شد.

۳.۳. آماده‌سازی عصاره

اجزای هوایی سیلیبوم مریانوم از طبیعت شهرستان ایلام جمع‌آوری شد. اصالت این گیاه با نمونه کوپن با شماره (NO 485) به کمک دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام به اثبات رسیده است. برای استخراج فلاونوئیدگان ها، ۵۰ گرم پودر

یادگیری و حافظه ضروری است، نقش دارد. تحقیقات نشان داده است که کمبود BDNF ممکن است به شروع تخریب نورون‌ها در بیماری آلزایمر کمک کند. فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز به‌ویژه برای حفظ نورون‌ها در قشر انتورینال، ناحیه‌ای از مغز که در اوایل AD تحت تاثیر قرار می‌گیرد و با از دست دادن حافظه کوتاه‌مدت مرتبط است، مهم است. عواملی مانند عدم کفایت فاکتور رشد عصبی (NGF (nerve growth factor)، از دست دادن مونومرهای عملکردی آمیلوئید بتا ($A\beta$) و ظهور الیگومرهای سمی $A\beta$ (amyloid-beta) می‌توانند بر سطح BDNF تأثیر بگذارند. مونومرهای $A\beta$ که به‌طور طبیعی در مغز وجود دارند، می‌توانند با حفظ سطح BDNF و هموستاز گلوکز در نورون‌ها، عملکرد شناختی را حمایت کنند. با این حال، الیگومرهای $A\beta$ CREB پروتئین اتصال به عنصر پاسخ (cAMP) cyclic adenosine monophosphate حلقوی را که برای رونویسی و آزادسازی BDNF ضروری است، فعال نمی‌کنند (۳). مطالعات بالینی نشان داده است که سطح mRNA BDNF در بیماران آلزایمری کاهش می‌یابد (۴). کاهش سطح BDNF با اختلالات شناختی مرتبط است و سطوح بالای BDNF با کاهش خطر زوال شناختی در بیماران مبتلا به AD مرتبط است (۵). علاوه بر این، BDNF در فعالیت‌های محافظت‌کننده نورون‌ها نیز نقش دارد. اختلال در تنظیم سیگنال‌دهی BDNF می‌تواند منجر به تغییرات پاتولوژیک در مدارهای عصبی و سیناپس‌ها شود که مشخصه بیماری آلزایمر است (۴). علاوه بر این، سطوح سرمی BDNF به‌عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه در آلزایمر مورد مطالعه قرار گرفته است. مشاهده شده است که بیماران مبتلا به آلزایمر سطح سرمی BDNF کمتری نسبت به افراد سالم دارند و افراد با اختلال شناختی خفیف نیز سطح سرمی BDNF کمتری نسبت به افراد سالم دارند این نشان می‌دهد که BDNF می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر مفید برای تشخیص و پیشرفت بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود (۶).

در حال حاضر استفاده از گیاهان دارویی به‌دلیل عوارض جانبی کمتر توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. *Silybum marianum* یک گیاه دوسالانه بدون مو با ریشه‌های ضخیم است. عصاره خشک شده این گیاه حاوی ۱ تا ۴ درصد سیلیمارین است (۷). سیلیبینین اصلی‌ترین (۸۰-۷۰ درصد) و فعال‌ترین ترکیب سیلیمارین است (۸) و گفته می‌شود اثرات محافظت‌کننده نورونی، آنتی‌اکسیدانی (۹)، ضدسرطان و ضدالتهابی دارد (۱۰). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سیلیبینین می‌تواند اثر محافظتی عصبی را از طریق بهبود استرس اکسیداتیو و آبشار التهابی در آسیب مغزی ایجاد کند (۱۱، ۱۲) و همچنین اختلالات رفتاری را به‌دنبال آلزایمر بهبود بخشد (۱۳).

دانه خشک در دستگاه (Soxhlet extractor (HM6-500, UK) حاوی ۶۰۰ میلی لیتر استونیتریل در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شد. پس از تبخیر اتانول در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد، عصاره به دست آمده به مدت ۳ روز در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا خشک شود (۱۷).

۴.۳. تست رفتاری

۱.۴.۳. ماز آبی موريس

این دستگاه از یک استخر دایره ای باز به قطر ۱۴۰ سانتی متر و ارتفاع ۸۰ سانتی متر با سکوی مخفی در ربع اول آن تشکیل شده است. این آزمایش در نور کم انجام شد و تابلوهای رنگی مختلفی جهت علامت فضایی روی دیوارها نصب شد. تست رفتاری در طی ۵ روز متوالی انجام شده و به ترتیب شامل عادت کردن، آموزش دادن و روز آزمایش اصلی (پروپ) می شد. قبل از آموزش هر موش به مدت ۳ دقیقه در استخر قرار داده شد. سپس هر موش چهار بار در روز (به فاصله ۱۵ - ۱۰ دقیقه) برای مدت چهار روز متوالی در استخر قرار داده شد. در این مرحله سکو در ربع اول قرار داده شده بود. هر موش می توانست یک دقیقه شنا کند تا سکو را پیدا کند. زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت شنا در هر روز توسط دوربین متصل به کامپیوتر ثبت می شد. سپس در روز پنجم، ارزیابی یادگیری و حافظه در گروه های مختلف انجام گرفت. پروتکل روز آزمایش مشابه روزهای آموزش بود با این تفاوت که سکو از ماز خارج شده بود.

۲.۴.۳. پرفیوژن و همگن سازی بافت

در پایان آزمایش رفتاری، تمام موش ها با دوز بالای کتامین بیهوش شدند. جمجمه بلافاصله تمیز شد. مغز برداشته و در محلول سرد ایزوتونیک قرار داده شد. سپس هیپوکمپ به سرعت جدا شد و تا زمان انجام مطالعه در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. چهار حیوان در هر گروه تحت مطالعه بیوشیمیایی قرار گرفتند.

۳.۴.۳. تکنیک وسترن بلات

از تکنیک وسترن بلات برای ارزیابی اثرات غلظت های مختلف عصاره سیلیبینین ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم بر میزان بیان پروتئین های محافظ عصبی BDNF و VEGF در نمونه های بافت هیپوکمپ استفاده شد. ۳۰۰ میکرو گرم محلول بافر لیزینگ به بافت هموژنیزه اضافه شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. سوسپانسیون با سرعت ۱۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.

محلول نهایی تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. کیت Micro BCA (شرکت کره اینترون) برای اندازه گیری غلظت کل پروتئین در سلول ها استفاده شد. برای ژل الکتروفورز، ۷ میکرولیتر پروتئین از هر نمونه روی ژل پلی آکرل آمید ۵/۷ درصد قرار داده شد و با الکتروفورز جدا شد. پروتئین ها به یک غشای پلی وینیل دی فلوراید (PVDF) منتقل شدند و به مدت یک ساعت در دمای اتاق با استفاده از شیر پرچرب ۵ درصد، ۰/۱ % Tween20 و بافر نمک تریس مسدود شدند. غشاها سپس با آنتی بادی اولیه و آنتی بادی مزدوج IgG ثانویه انکوبه شدند. نتایج با استفاده از نرم افزار تصویربرداری Gel-pro Analyser (Bio-rad, USA) اندازه گیری شد. آنتی بادی های اولیه شامل BDNF (SAB 4300702)، سیگما) و VEGF (sc-53462) (1:1000) و آنتی بادی ثانویه ضد IgG خرگوش استفاده شد (Sigma, A9169) (1:16000). بوده است.

۴.۴.۳. شمارش میانگین تعداد نورون ها در نواحی

هیپوکمپ

نواحی CA3، CA1 (cornu ammonis) و dentate gyrus جهت شمارش نورونی مورد بررسی قرار گرفتند. برای شمارش تعداد نورون های هیپوکمپ، حیوانات گروه های مختلف با دوز بالای کتامین بیهوش شدند. نرمال سالین ۰/۹ درصد و پارافرمالدئید به عنوان محلول شستشو و تثبیت کننده به صورت ترانس کاردیال پرفیوژن شد. پس از پرفیوژن، مغزها برداشته شد و به مدت یک هفته در محلول فیکساتور نگهداری شد. مغزهای پارافینی تعبیه شده برش داده شد (۱۰ میکرون). سه تا پنج برش مغزی روی هر لام قرار داده شد و پروتکل رنگ آمیزی Nissl مورد بررسی قرار گرفت. از هر گروه ۴ حیوان به طور تصادفی برای رنگ آمیزی Nissl انتخاب شدند. تعداد نورون ها در CA3، CA1 و شکنج دنداندار (DG) در حداقل سه برش در هر حیوان/گروه شمارش شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی 40x، در هر سکنش مغزی ۴ میدان دید متوالی مورد بررسی و شمارش قرار گرفت و نتایج به صورت (mean $\pm$ SEM) بیان شده است (۱۶).

۵.۳. آنالیز آماری

از نرم افزار گراف پد پریسم (VIII) جهت آنالیز داده ها استفاده شد. در هر آزمون (mean $\pm$ SEM) مورد بررسی قرار گرفت و $P \leq 0/05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. همچنین از روش آزمون t و به دنبال آن آزمون کروسکال والیس جهت آنالیز استفاده گردید.

۴. نتایج

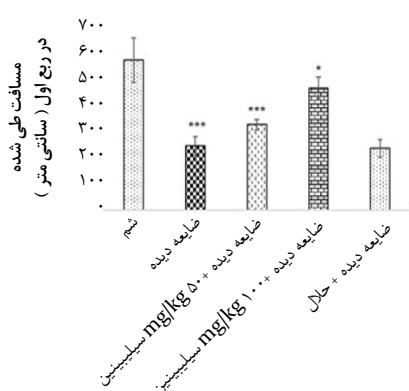
برای ارزیابی حافظه و یادگیری فضایی از ماز آبی موریس استفاده شد. در این آزمایش، مسافت طی شده و زمان سپری شده در ربع اول برای یافتن سکوی پنهان، تعداد دفعات ورود به ربع حاوی سکوی پنهان، میانگین سرعت حیوانات و کل مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۱.۴. مسافتی که در ربع اول برای پیدا کردن

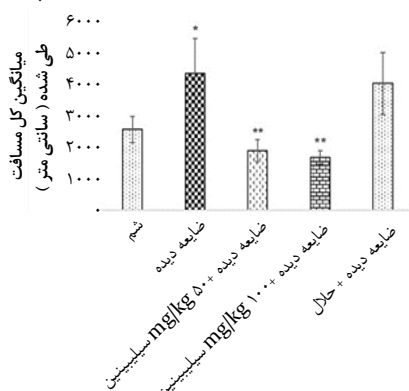
سکوی پنهان طی شد

همانطور که در تصویر ۱ الف نشان داده شده است، میانگین مسافت طی شده در ربع اول استخر ($560/5 \pm 83$) سانتی متر در گروه شم و ($240 \pm 35/7$) سانتی متر در گروه ضایعه بود که کاهش معنی داری نشان داد ($P \leq 0/0001$). از سوی دیگر، میانگین مسافت طی شده توسط گروه های تیمار با غلظت های مختلف تیمار (دوز کم و زیاد) به ترتیب ($18/5 \pm 320$)، ($457 \pm 39/7$) سانتی متر بود که افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه ضایعه نشان داد، به ترتیب ($P \leq 0/0001$)، ($P = 0/019$).

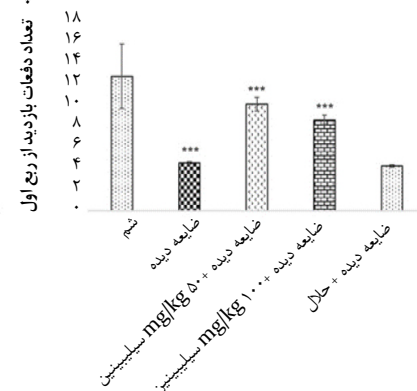
الف



ب



پ



تصویر ۱. الف، میانگین مسافت طی شده در ربع اول ماز آبی موریس گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی داری داشته است ($P < 0/0001$). گروه های تحت درمان با دوز کم در مقایسه با گروه ضایعه افزایش معنی دار ($P < 0/0001$) نشان داده است. گروه های تحت درمان با دوز زیاد در مقایسه با گروه ضایعه افزایش معنی داری نشان داده است ($P < 0/05$). ب، میانگین تعداد دفعات ورود به ربع اول در حیوانات گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی داری ($P < 0/0001$) داشتند. میانگین تعداد بازدید در حیوانات آسیب دیده تحت درمان با غلظت کم، ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم و غلظت زیاد، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم، از نظر آماری نسبت به گروه ضایعه افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0/0001$). پ، میانگین کل مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در گروه ضایعه نسبت به گروه شم افزایش معنی دار ($P < 0/05$) وجود داشته است. میانگین مسافت طی شده در گروه های تحت درمان با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم در مقایسه با موش های گروه ضایعه کاهش معنی دار نشان داد ($P < 0/01$).

۲.۱.۴. تعداد دفعات ورود به ربع اول

۱.۱.۴. میانگین کل مسافت طی شده برای پیدا کردن

سکوی پنهان

تعداد دفعات ورود به ربع حاوی سکوی پنهان در تصویر ۱ پ نشان داده شده است. میانگین تعداد ویزیت توسط حیوانات گروه شم ($12/89 \pm 3/1$) و در گروه ضایعه ($5/47 \pm 0/12$) بود که کاهش معنی داری در گروه ضایعه نشان داده است ($P \leq 0/0001$). علاوه بر این، میانگین تعداد بازدید از ربع مربوطه در گروه ضایعه-حلال در مقایسه با گروه ضایعه معنی دار نبود. میانگین تعداد بازدید در حیوانات آسیب دیده تحت درمان با غلظت کم، ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم ($10/2 \pm 0/65$) و در حیوانات تحت درمان با غلظت زیاد، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم، ($8/7 \pm 0/45$) بود که از نظر آماری نسبت به گروه ضایعه افزایش معنی داری نشان داد ($P \leq 0/0001$).

میانگین کل مسافت طی شده در تصویر ۱ ب، برای یافتن سکوی پنهان در گروه شم (2585 ± 721) و در گروه ضایعه (4379 ± 1302) سانتی متر بود که از نظر آماری با افزایش معنی دار در گروه ضایعه دیده همراه بوده است ($P = 0/03$). علاوه بر این، میانگین مسافت طی شده در موش های آسیب دیده دریافت کننده درمان با دوز پایین (1889 ± 353) سانتی متر و درمان با دوز بالا (1689 ± 224) سانتی متر بود. در مجموع، این عامل کاهش معنی داری را در تمام گروه های تحت درمان با دوزهای مختلف در مقایسه با موش های گروه ضایعه نشان داد ($P \leq 0/01$).

۳.۱.۴. میانگین سرعت

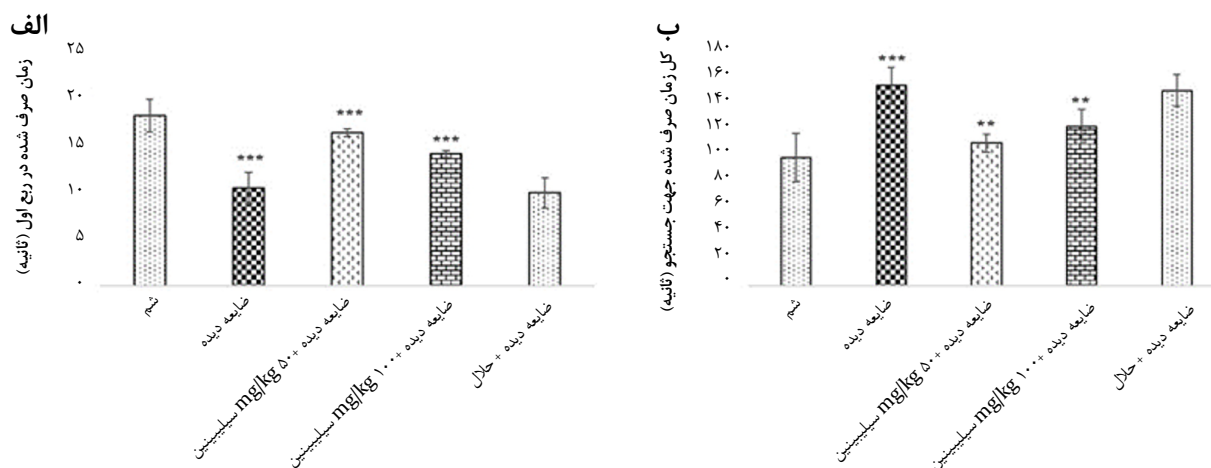
برای ارزیابی تأثیر درمان با حلال بر تحرک حیوانات، میانگین سرعت همه حیوانات در یافتن سکوی پنهان اندازه‌گیری شد. میانگین سرعت حیوانات در هیچ یک از گروه‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشته است و برابر با $23 \pm 3/2$ سانتی‌متر بر ثانیه بوده است.

۴.۱.۴. زمان صرف‌شده در ربع اول برای پیدا کردن سکوی

پنهان

تصویر ۲ الف زمان سپری‌شده جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. با

توجه به نتایج، میانگین زمان صرف‌شده در ربع اول توسط حیوانات ($17/88 \pm 1/7$) ثانیه در گروه شم بود و ($10/27 \pm 1/7$) ثانیه در گروه ضایعه بود که با کاهش معنی‌دار در گروه ضایعه همراه بود ($P = 0/0007$). از سوی دیگر، میانگین زمان صرف‌شده برای یافتن سکوی پنهان در ربع اول در حیوانات تیمارشده که غلظت‌های مختلف تیمار را دریافت کردند به ترتیب ($16/1 \pm 0/4$)، ($13/87 \pm 0/4$) ثانیه بود. قابل توجه است که تنها موش‌های تحت درمان با غلظت کم دارو (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به حیوانات آسیب‌دیده افزایش معنی‌داری نشان دادند ($P \leq 0/001$). شایان ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین گروه ضایعه و ضایعه-حلال وجود نداشت.



تصویر ۲. الف، میانگین زمان سپری‌شده در ربع اول ماز آبی موریس در گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی‌داری ($P < 0/001$) نشان داد. میانگین زمان صرف‌شده در موش‌های تحت درمان با غلظت کم دارو (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به حیوانات آسیب‌دیده افزایش معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/001$)؛ ب، میانگین کل زمان صرف‌شده برای یافتن سکوی پنهان در گروه ضایعه نسبت به گروه شم از نظر آماری افزایش معنی‌داری یافت شده است ($P < 0/001$). علاوه بر این، مقادیر این فاکتور در تمام موش‌های تحت درمان با دوزهای 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با حیوانات درمان نشده کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$).

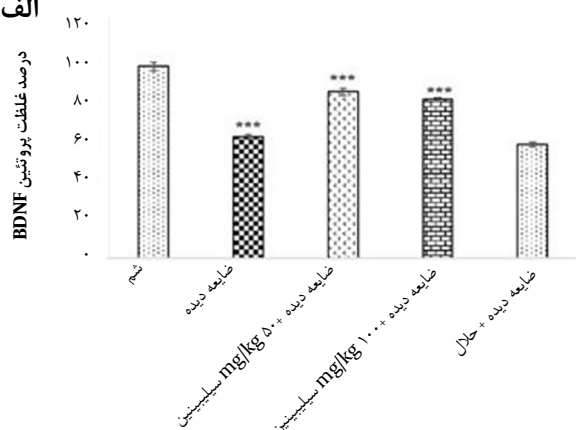
۲.۴. اندازه‌گیری پروتئین‌های FGEV و FNDB

از تکنیک وسترن بلات برای ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف (50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم) سیلیبینین بر بیان پروتئین‌های محافظت‌کننده عصبی BDNF و VEGF در نمونه‌های هیپوکمپ استفاده شد. همانطور که در **تصویر ۳ الف و ب** نشان داده شده است، سیلیبینین (50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم) منجر به افزایش معنی‌دار در بیان BDNF در هیپوکمپ حیوانات تحت درمان شد ($85-81$ درصد). علاوه بر این، 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیبینین توانست به‌طور معنی‌داری غلظت VEGF را در بافت هیپوکمپ حیوانات تحت درمان افزایش دهد (83 درصد) ($P \leq 0/05$).

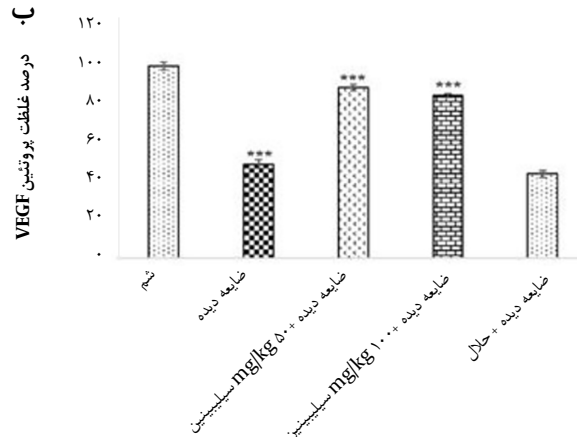
۵.۱.۴. کل زمان صرف‌شده برای پیدا کردن سکوی پنهان

میانگین کل زمان صرف‌شده برای یافتن سکوی پنهان در **تصویر ۲ ب** نشان داده شده است. در گروه شم ($97/2 \pm 18/23$) ثانیه و در گروه ضایعه ($142/2 \pm 23/4$) ثانیه بود که از نظر آماری افزایش معنی‌دار یافت ($P = 0/002$). علاوه بر این، میانگین زمان صرف‌شده برای یافتن سکوی پنهان در حیوانات تحت درمان با دوز کم ($108/2 \pm 6/8$) ثانیه و با دوز بالا ($120/8 \pm 13$) ثانیه بود. شایان ذکر است که این عامل در تمام موش‌های تحت درمان در مقایسه با حیوانات درمان نشده کاهش معنی‌داری نشان داد ($P \leq 0/01$). لازم به ذکر است که زمان صرف‌شده توسط حیوانات ضایعه-حلال در مقایسه با گروه ضایعه تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

الف



ب



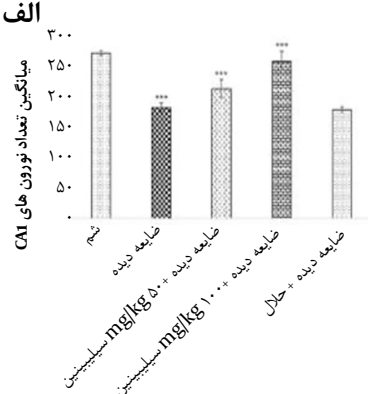
تصویر ۳. اثر غلظت‌های مختلف (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) سیلیبینین بر میزان درصد بیان پروتئین BDNF در قسمت الف و بر میزان درصد بیان پروتئین VEGF در قسمت ب نشان داده شده است. غلظت پروتئین BDNF در گروه ضایعه نسبت به شم کاهش معنی دار داشته است ($P < 0.001$). مقادیر مختلف درمان با سیلیبینین توانسته است محتوای پروتئینی BDNF را در حیوانات تحت تیمار نسبت به گروه ضایعه افزایش معنی دار دهد ($P < 0.001$). همچنین، میزان محتوای پروتئینی VEGF در گروه ضایعه نسبت به شم کاهش معنی دار داشته است ($P < 0.05$) در حالی که درمان با سیلیبینین محتوای این پروتئین را افزایش داده است ($P < 0.05$).

۳.۴. شمارش نورون‌های ناحیه هیپوکمپ

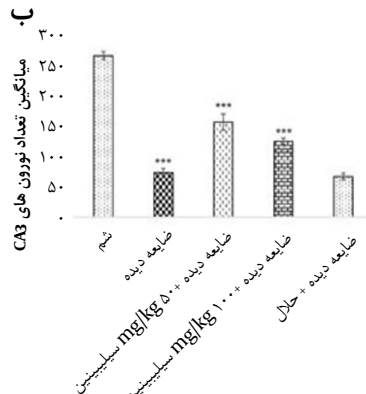
تصویر ۴ (الف، ب و پ) میانگین تعداد نورون‌ها را در همه گروه‌ها نشان می‌دهد. میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه CA1 در گروه شم ($272 \pm 3/8$) و در گروه ضایعه دیده (182 ± 8) بود که کاهش معنی دار نشان داده است ($P = 0.0004$). در حالی که این تعداد در حیوانات تحت درمان با غلظت بالای سیلیبینین (15 ± 259) و در گروه حیوانات تیمار شده با غلظت کم سیلیبینین (16 ± 213) بود (**تصویر ۴ الف**) و در مقایسه با گروه ضایعه دیده افزایش معنی داری نشان داد ($P = 0.0002$). میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه CA3 هیپوکمپ در قسمت (**تصویر ۴ ب**) نشان داده شده است. میانگین تعداد نورون‌ها

در گروه شم ($270 \pm 6/5$) بود در حالی که در گروه ضایعه با کاهش معنی داری همراه بوده است ($159 \pm 6/7$)، ($P = 0.0002$). همچنین، تعداد نورون‌ها در گروه درمان با غلظت کم ($13/9 \pm 159$) و در گروه درمان با غلظت بالا ($126/8 \pm 5/3$) بوده است و در مقایسه با گروه ضایعه دیده افزایش معنی داری نشان داده است ($P \leq 0.0001$). **تصویر ۴ پ** میانگین تعداد نورون‌ها را در ناحیه DG نشان می‌دهد. میانگین تعداد نورون‌ها در گروه شم ($11/2 \pm 279/2$) بوده است و در گروه ضایعه با این تعداد نورون ($7/9 \pm 173/5$) به طور معنی داری کاهش یافته است ($P \leq 0.01$). در گروه تیمار با غلظت کم ($264 \pm 7/4$) و در گروه تیمار با غلظت بالا ($274 \pm 3/8$) بوده است و در مقایسه با گروه ضایعه دیده افزایش معنی دار داشته است ($P > 0.0001$).

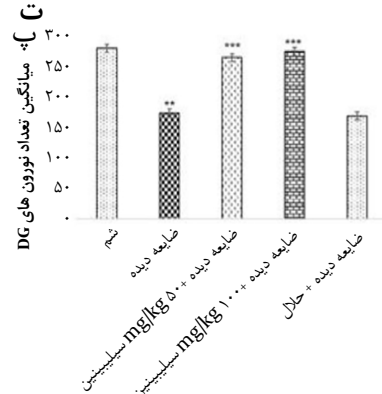
الف



ب



ت



تصویر ۴. میانگین تعداد نورون‌های شمارش شده در هیپوکمپ: میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه CA1، CA3 و DG به ترتیب در الف، ب و پ در همه گروه‌ها نشان می‌دهد. الف، میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه CA1 در گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی داری نشان داده است ($P < 0.001$). از طرفی در حیوانات تحت درمان با غلظت‌های مختلف سیلیبینین تعداد نورون‌ها افزایش معنی داری داشته است ($P < 0.001$). ب، میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه CA3 در گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی دار ($P < 0.001$) و در حیوانات تحت درمان با سیلیبینین نسبت به گروه ضایعه دیده افزایش معنی دار نشان داده است ($P < 0.001$). پ، میانگین تعداد نورون‌ها در ناحیه DG در گروه ضایعه نسبت به گروه شم کاهش معنی دار داشته است ($P < 0.01$). در حیوانات تحت درمان با دوزهای متفاوت سیلیبینین نسبت به گروه ضایعه دیده افزایش معنی داری در این فاکتور داشته‌اند ($P < 0.001$).

۵. بحث

شود. علاوه بر این، BDNF می‌تواند تنظیم ژن را با فعال کردن NF- κ B ایجاد کند، که این امر می‌تواند باعث ایجاد محافظت نورونی شود. نقش BDNF در التهاب عصبی به‌شدت با توانایی آن در القا NF- κ B مرتبط است (۲۳). در مطالعه ما، حیوانات با تزریق $A\beta_{1-40}$ کاهش سطح عوامل نوروتروفیک VEGF و BDNF را نشان دادند، در حالی که غلظت‌های مختلف سیلیبینین محتوای BDNF و VEGF را در بافت هیپوکمپ حیوان تحت درمان افزایش داد. همچنین، اثر مفید سیلیبینین در کاهش میزان نورودژنراسیون CA1، CA3 و DG را می‌توان از نتایج مهم فعالیت فاکتورهای نوروتروفیک دانست، زیرا مطالعات تجربی نشان می‌دهد که BDNF و گیرنده آن TrkB و VEGF باعث افزایش بقای سلول، تعدیل مثبت نوروپلاستیسیته و نورونز هیپوکمپ می‌شوند و سطوح غیرطبیعی BDNF ممکن است به‌دلیل شرایط التهابی نورون‌ها به‌صورت مزمن ایجاد شود (۲۳، ۲۴).

در حمایت از یافته‌های ما، Song و همکاران نشان دادند که سیلیبینین می‌تواند اثر محافظتی خود را در سمیت عصبی $A\beta$ از طریق تنظیم مسیر BDNF/TrkB و کاهش اتوفاجی در هیپوکمپ همراه با افزایش بیان BDNF و گیرنده تیروزینی در کنار وجود خواص ضدالتهابی اعمال کند (۲۵). همچنین اثرات حفاظتی سیلیبینین در مدل حیوانی بیماری پارکینسون نیز یافت شده است (۲۶). Yon و همکاران در ۲۰۱۹ گزارش داد که مکمل سیلیبینین می‌تواند اضطراب، یادگیری و رفتار مرتبط با حافظه را در موش‌های دیابتی با افزایش سطح BDNF بهبود بخشد (۲۷). در مطالعه دیگری که توسط Liu و همکارانش در سال ۲۰۲۳ انجام شد اثرات حفاظتی سیلیبینین بر نورون‌های هیپوکمپ در مدل اسپورادیک آلزایمر تایید شده است (۲۸). همچنین مطالعه دیگری اثرات حفاظتی سیلیبینین را در برابر سمیت ناشی از نوروتوکسین آمیلوئید بتا گزارش کرده‌اند که یافته‌های تحقیق حاضر را تایید می‌کند (۲۹). علاوه بر این دیده شده است سیلیبینین با تعدیل اتوفاجی و کاهش التهاب عصبی و همچنین استرس اکسیداتیو، کمبودهای حافظه ناشی از Abeta (۳۵-۲۵) را در موش‌های صحرایی کاهش داده است (۱۴).

۱.۵. محدودیت‌های پژوهش

طولانی شدن زمان تهیه مواد مصرفی محدودیت اصلی در انجام پژوهش حاضر بوده است.

به‌طور کلی، در این تحقیق نتیجه گرفتیم که سیلیبینین اثر حفاظتی خود را از طریق افزایش بیان فاکتور نوروتروفیک BDNF و VEGF در مدل آلزایمر $A\beta_{1-40}$ ایجاد می‌کند و ممکن است به‌عنوان یک نامزد بالقوه برای درمان AD عمل کند که نیازمند مطالعات آزمایشگاهی و بالینی گسترده‌تر است.

تیمار موش‌های صحرایی گروه $A\beta_{1-40}$ با سیلیبینین باعث کاهش میزان تخریب نورونی ناشی از توکسین و بهبود عملکرد یادگیری و حافظه در آزمون ماز آبی موریس شد و به‌نظر می‌رسد این اثرات از طریق بهبود عوامل فاکتور نوروتروفیک BDNF و محتوای VEGF صورت گرفته است.

تزریق یک‌طرفه یا دوطرفه نوروتوکسین $A\beta_{1-40}$ به ناحیه هیپوکمپ می‌تواند یک مدل قابل اعتماد از بیماری آلزایمر در موش صحرایی باشد که جهت بررسی مکانیسم‌های مختلف سلولی، مولکولی، فیزیولوژیکی و سایر مکانیسم‌های مربوط به انحطاط نورون‌های هرمی و قضاوت در مورد قدرت داروهای تازه یافت‌شده مناسب است (۱۸، ۱۹). میکروآینجکشن $A\beta_{1-40}$ به منطقه هیپوکمپ؛ CA1، CA3 یا DG در نهایت منجر به از دست دادن نورون هرمی، اختلال عملکرد سیناپسی و کاهش حافظه کاری، حافظه بلندمدت و ظرفیت حافظه فضایی می‌شود (۲۰). یافته‌های مشابهی در مطالعه ما نیز یافت شد، همانطور که در آزمون رفتاری ماز آبی در گروه ضایعه نشان داده شد. مکانیسم‌های مختلف، از جمله انتشار میتوکندری، تغییرات در نفوذپذیری غشاء، التهاب، اختلال عملکرد سیناپسی و سمیت سلولی (۲۱) به‌عنوان مکانیسم اصلی اثرات توکسیک $A\beta_{1-40}$ گزارش شده است.

سیلیبینین می‌تواند تولید $A\beta$ را با مهار ماده پیش‌ساز $A\beta$ ، که پروتئین پیش‌ساز β -آمیلوئید (APP) نامیده می‌شود کنترل کند. همچنین پلیمریزاسیون $A\beta$ را مهار می‌کند، که یک مرحله مهم در تشکیل پلاک‌های آمیلوئید است، و مشخصه مهم پاتولوژی آلزایمر است. مشخص شده است که سیلیبینین در برابر التهاب عصبی که نقش مهمی در پاتونز بیماری‌های عصبی مانند AD دارد، مقاومت می‌کند. سیلیبینین با مهار آزادسازی فاکتورهای التهابی و مواد سمی از آستروسیت‌ها و میکروگلیاهای فعال می‌تواند از تغییر شکل عصبی و آپوپتوز جلوگیری کند (۲۲).

سطح BDNF در مغز و گردش خون در بیماری‌های نورودژنراتیو کاهش می‌یابد (۲۳). سطح BDNF غیرطبیعی ممکن است به دلیل شرایط التهابی مزمن باشد. التهاب عصبی می‌تواند مسیرهای مختلف سیگنالینگ مرتبط با BDNF را نیز تحت تاثیر قرار دهد. از طرفی دیده شده است که گلیوز می‌تواند باعث افزایش سطح ROS شود که خود در ادامه می‌تواند منجر به نوروتوکسیسیته شود. اتصال BDNF به گیرنده TrkB منجر به مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مختلف می‌شود. فسفولیپاز C-gamma وابسته به (BDNF PLC- γ) نیز ممکن است منجر به افزایش سیگنالینگ و مهار آشبار آپوپتوز وابسته به التهاب با مهار گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ بتا (3 β -GSK) شود.

References

1. Mansergh FC, Wride MA, Rancourt DE. Neurons from stem cells: implications for understanding nervous system development and repair. *Biochem Cell Biol*. 2000;**78**(5):613-28. [PubMed ID:11103952].
2. Stix G. Alzheimer's: forestalling the darkness. *Sci Am*. 2010;**302**(6):50-7. [PubMed ID:20521480]. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0610-50>.
3. Giuffrida ML, Copani A, Rizzarelli E. A promising connection between BDNF and Alzheimer's disease. *Aging (Albany NY)*. 2018;**10**(8):1791-2. [PubMed ID:30082505]. [PubMed Central ID:PMC6128436]. <https://doi.org/10.18632/aging.101518>.
4. Gao L, Zhang Y, Sterling K, Song W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Transl Neurodegener*. 2022;**11**(1):4. [PubMed ID:35090576]. [PubMed Central ID:PMC8796548]. <https://doi.org/10.1186/s40035-022-00279-0>.
5. Xue B, Waseem SMA, Zhu Z, Alshahrani MA, Nazam N, Anjum F, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Connecting Link Between Nutrition, Lifestyle, and Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2022;**16**:925991. [PubMed ID:35692417]. [PubMed Central ID:PMC9177140]. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.925991>.
6. Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RC. Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2019;**20**(2). [PubMed ID:30634650]. [PubMed Central ID:PMC6358753]. <https://doi.org/10.3390/ijms20020257>.
7. Schulz V, Hänsel R, Tyler VE. *Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine*. East Sussex, England: Psychology Press; 2001.
8. Mateen S, Tyagi A, Agarwal C, Singh RP, Agarwal R. Silibinin inhibits human nonsmall cell lung cancer cell growth through cell-cycle arrest by modulating expression and function of key cell-cycle regulators. *Mol Carcinog*. 2010;**49**(3):247-58. [PubMed ID:19908243]. [PubMed Central ID:PMC3049548]. <https://doi.org/10.1002/mc.20595>.
9. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Homayonfar H, KhastKhodaei Z. [Protective effects of chronic administration of silymarin on blood glucose and lipids and oxidative stress in diabetic rats]. *koomesh*. 2009;**10**(2):e152232. Persian.
10. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Mafakheri M. Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat: involvement of estrogen receptors and oxidative stress. *Neurosci Lett*. 2010;**480**(3):206-10. [PubMed ID:20600617]. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.06.038>.
11. Geed M, Garabadu D, Ahmad A, Krishnamurthy S. Silibinin pretreatment attenuates biochemical and behavioral changes induced by intrastriatal MPP+ injection in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;**117**:92-103. [PubMed ID:24345573]. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.12.008>.

تشکر و قدردانی:

از دانشگاه علوم پزشکی ایلام جهت همکاری در انجام این پروژه قدردانی می‌گردد.

مشارکت نویسندگان:

مفهوم و طراحی مطالعه: م.ا؛ کسب اطلاعات: س.س.و.م.ا؛ تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: س.س.؛ پیش‌نویس نسخه خطی: س.س.و.م.ب؛ بازبینی انتقادی نسخه خطی برای محتوای فکری مهم: س.س.و.م.ب.و.م.ا؛ تجزیه و تحلیل آماری: س.س.؛ پشتیبانی اداری، فنی و مادی: س.س.و.م.ب.و.م.ا؛ نظارت تحصیلی: م.ا.

تضاد منافع:

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض در منافع ندارند.

بازبینی داده‌ها:

مجموعه داده ارائه شده در مطالعه با درخواست از نویسندگان مربوطه در حین ارسال یا پس از انتشار در دسترس است.

کد اخلاق:

IR.MEDILAM.REC.1398.036

حمایت مالی و معنوی:

بخشی از هزینه‌های مالی این پروژه با حمایت دانشگاه علوم پزشکی ایلام صورت گرفته است (۷۶/۹۸۵۰۰۳).

12. Hou YC, Liou KT, Chern CM, Wang YH, Liao JF, Chang S, et al. Preventive effect of silymarin in cerebral ischemia-reperfusion-induced brain injury in rats possibly through impairing NF-kappaB and STAT-1 activation. *Phytomedicine*. 2010;**17**(12):963-73. [PubMed ID:20833521]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.03.012>.
13. Jangra A, Kasbe P, Pandey SN, Dwivedi S, Gurjar SS, Kwatra M, et al. Hesperidin and Silibinin Ameliorate Aluminum-Induced Neurotoxicity: Modulation of Antioxidants and Inflammatory Cytokines Level in Mice Hippocampus. *Biol Trace Elem Res*. 2015;**168**(2):462-71. [PubMed ID:26018497]. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0375-7>.
14. Song X, Zhou B, Cui L, Lei D, Zhang P, Yao G, et al. Silibinin ameliorates Abeta(25-35)-induced memory deficits in rats by modulating autophagy and attenuating neuroinflammation as well as oxidative stress. *Neurochem Res*. 2017;**42**(4):1073-83. [PubMed ID:28004303]. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2141-4>.
15. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Cambridge, Massachusetts: Academic Press; 1998.
16. Bagheri M, Roghani M, Joghataei MT, Mohseni S. Genistein inhibits aggregation of exogenous amyloid-beta(1)-(4)(0) and alleviates astrogliosis in the

- hippocampus of rats. *Brain Res.* 2012;**1429**:145-54. [PubMed ID:22079317]. <https://doi.org/10.1016/j.brain-res.2011.10.020>.
17. Torres-Rodriguez A, Darvishzadeh R, Skidmore AK, Franzel-Luiten E, Knaken B, Schuur B. High-throughput Soxhlet extraction method applied for analysis of leaf lignocellulose and non-structural substances. *MethodsX.* 2024;**12**:102644. [PubMed ID:38660031]. [PubMed Central ID:PMC11041828]. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102644>.
 18. Bagheri M, Rezakhani A, Nystrom S, Turkina MV, Roghani M, Hammarstrom P, et al. Amyloid beta(1-40)-induced astrogliosis and the effect of genistein treatment in rat: a three-dimensional confocal morphometric and proteomic study. *PLoS One.* 2013;**8**(10):e76526. [PubMed ID:24130779]. [PubMed Central ID:PMC3793933]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076526>.
 19. Bagheri M, Rezakhani A, Roghani M, Joghataei MT, Mohseni S. Protocol for Three-dimensional Confocal Morphometric Analysis of Astrocytes. *J Vis Exp.* 2015(106):e53113. [PubMed ID:26709729]. [PubMed Central ID:PMC4692798]. <https://doi.org/10.3791/53113>.
 20. Shankar GM, Walsh DM. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and Abeta. *Mol Neurodegener.* 2009;**4**:48. [PubMed ID:19930651]. [PubMed Central ID:PMC2788538]. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-4-48>.
 21. Carrillo-Mora P, Luna R, Colin-Barenque L. Amyloid beta: multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? *Oxid Med Cell Longev.* 2014;**2014**:795375. [PubMed ID:24683437]. [PubMed Central ID:PMC3941171]. <https://doi.org/10.1155/2014/795375>.
 22. Guo H, Cao H, Cui X, Zheng W, Wang S, Yu J, et al. Silibinin's Inhibition and Treatment Effects for Alzheimer's Disease. *Molecules.* 2019;**24**(9). [PubMed ID:31064071]. [PubMed Central ID:PMC6539875]. <https://doi.org/10.3390/molecules24091748>.
 23. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx R, Bromberg E, de Vries EFJ. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Mol Neurobiol.* 2019;**56**(5):3295-312. [PubMed ID:30117106]. [PubMed Central ID:PMC6476855]. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1283-6>.
 24. Nowacka M, Obuchowicz E. BDNF and VEGF in the pathogenesis of stress-induced affective diseases: an insight from experimental studies. *Pharmacol Rep.* 2013;**65**(3):535-46. [PubMed ID:23950576]. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71031-4](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71031-4).
 25. Song X, Liu B, Cui L, Zhou B, Liu W, Xu F, et al. Silibinin ameliorates anxiety/depression-like behaviors in amyloid beta-treated rats by upregulating BDNF/TrkB pathway and attenuating autophagy in hippocampus. *Physiol Behav.* 2017;**179**:487-93. [PubMed ID:28735062]. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.07.023>.
 26. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Mafakheri M. [Protective effects of aqueous extract of silybum marianum in 6-hydroxydopamine-induced model of parkinsonism in male rat: a behavioral, biochemical and histological study]. *koomesh.* 2011;**12**(4):e152481. Persian.
 27. Yon B, Belviranli M, Okudan N. The effect of silymarin supplementation on cognitive impairment induced by diabetes in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2019;**30**(4). [PubMed ID:31017870]. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2018-0109>.
 28. Liu P, Wang C, Chen W, Kang Y, Liu W, Qiu Z, et al. Inhibition of GluN2B pathway is involved in the neuroprotective effect of silibinin on streptozotocin-induced Alzheimer's disease models. *Phytomedicine.* 2023;**109**:154594. [PubMed ID:36610115]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154594>.
 29. Duan S, Guan X, Lin R, Liu X, Yan Y, Lin R, et al. Silibinin inhibits acetylcholinesterase activity and amyloid beta peptide aggregation: a dual-target drug for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2015;**36**(5):1792-807. [PubMed ID:25771396]. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.02.002>.

Research Article

Silibinin Effects on Cognitive Enhancement and Neurotrophic Factor Modulation in an Alzheimer's Disease Model Induced by Amyloid Beta in Rats

Monireh Azizi¹, Sajjad Salari², Maryam Bagheri^{2,*}

¹Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

²Department of Physiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

*Corresponding author: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. Email: maryam.bagheri@medilam.ac.ir

Received 01/06/2024; Accepted 22/02/2025

Abstract

Background: Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. Herbal medicines are increasingly recognized as alternative therapies with lower side effects.

Objectives: This study aimed to investigate the protective effects of silibinin on cognitive function and the expression of neurotrophic factors in a rat model of AD.

Methods: Male Wistar rats (n = 40) were assigned to the sham group, lesion (A β 40-1 injection), treatment group (A β 40-1 injection followed by silibinin gavage in doses of 50 and 100 mg/kg), and vehicle group. The cognitive performance of the groups was evaluated using the Morris Water Maze behavioral test. Subsequently, brain tissue homogenates were prepared to measure BDNF and VEGF expression levels using the western blot technique. Also, the brain slices were stained with the Nissl technique and the neurons were counted in the hippocampal regions.

Results: The mean number of neurons in the CA1 region in the lesion group was significantly reduced compared to the sham group (P = 0.004), however, treatment with silibinin has significantly increased the number of neurons in this region compared to the lesion group (P = 0.0002). Also, treatment with silibinin led to a significant increase in the levels of neurotrophic VEGF, and BDNF in the treated groups compared to the lesion group (P $\leq$ 0.05).

Conclusion: Findings showed the potential of silibinin in reducing the symptoms associated with Alzheimer's and protecting hippocampal neurons against disease-related damage by increasing the levels of BDNF and VEGF growth factors in the brain.

Keywords: Alzheimer Disease, Silibinin, Amyloid beta-Peptides, Brain-Derived Neurotrophic Factor, Vascular Endothelial Growth Factor