

## اثر دیوسجینین بر اختلال شناختی و استرس اکسیداتیو القا شده با لیپوپلی ساکارید در موش صحرایی

زهرا توکلی<sup>۱</sup>، مهدیه طاهری<sup>۲</sup>، مهرداد روغنی<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۹/۱۳

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** التهاب عصبی به عنوان بخشی از نوروپاتوزن اختلال شناختی گزارش شده است. دیوسجینین یک ساپوچنین استروئیدی موجود در شنبلیل است که دارای اثرات ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و ضد آلزایمری است. هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر دیوسجینین بر اختلال شناختی، فعالیت استیل کولین استراز و آستروگلیوز به دنبال القا التهاب عصبی در موش صحرایی است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار بر اساس جدول تصادفی اعداد به ۴ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجینین، لیپوپلی ساکارید، و گروه لیپوپلی ساکارید تحت تیمار با دیوسجینین تقسیم شدند. موش های تحت تیمار میزان ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیوسجینین را به مدت هفت روز و به فرم خوراکی دریافت کردند. برای القا التهاب عصبی، لیپوپلی ساکارید حل شده در نرمال سالین به میزان ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی در اولین روز و یک ساعت قبل از تزریق دیوسجینین تزریق شد. از تست شاتل باکس برای بررسی حافظه و یادگیری استفاده شد. با استفاده از هموزنه بافتی هیپوکامپ، سنجش پارامترهای مولکولی انجام شد. آنالیز آماری داده ها با آزمون آنوای یک طرفه و تست تعقیبی توکی و سطح معنی داری  $P < 0.05$  انجام شد.

**یافته ها:** میزان تأخیر هنگام عبور در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت کننده دیوسجینین افزایش معنی داری در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید داشت ( $P < 0.01$ ). گروه لیپوپلی ساکارید دریافت کننده دیوسجینین در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید فعالیت کولین استراز کاهش ( $P < 0.05$ ) و کاتالاز افزایش ( $P < 0.05$ ) معنی داری پیدا کرد و کاهش میزان GFAP ( $P < 0.05$ ) و MDA ( $P < 0.01$ ) نشان داد. میزان GSH در گروه دریافت کننده دیوسجینین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی دار ( $P < 0.05$ ) نشان داد. گروه کنترل تحت تیمار با دیوسجینین در فاکتورهای مورد بررسی با گروه کنترل تفاوت معنادار نداشت ( $P > 0.05$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** داده های ما نشان می دهد که دیوسجینین با خواص آنتی اکسیدانی داروی تقویت کننده حافظه است و می تواند برای درمان انواع مختلف اختلالات مانند لوسمی و التهاب در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

**کلیدواژه ها:** دیوسجینین، لیپوپلی ساکارید، آستروگلیوز، استرس اکسیداتیو، حافظه، اختلال شناختی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره هفتم، ص ۶۲۰-۶۰۴، مهر ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران، تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۶۴۷۹۲

Email: mroghani@shahed.ac.ir

### مقدمه

اختلال عملکرد سیستم عصبی شود (۲). همچنین استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی، در شروع و پیشرفت اختلالات شناختی مؤثر می باشند (۳، ۴). شواهد متعدد نشان داده اند که تخریب نورون های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون با تولید بیش از حد ROS<sup>۴</sup> مرتبط است. یکی از دلایل تجمع شدید ROS می تواند به اختلالات میتوکندری و التهاب مربوط باشد. مکان های اصلی در

با افزایش سن جمعیت، اختلالات عصبی انسان از نظر تأثیر بر کیفیت زندگی و هزینه های زندگی به بار بزرگی تبدیل شده است (۱). اختلالات عصبی مثل سکته مغزی، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، افسردگی و آسیب نخاعی، ناشی از دست دادن تدریجی و پیشرونده سلول های عصبی در CNS می تواند منجر به

<sup>۱</sup> دانش آموخته دکترای پزشکی عمومی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۴</sup> Reactive oxygen species

ناحیه هیپوکامپ می‌شود (۱۴، ۱۵). علاوه بر این، مطالعات نشان دادند که محرک‌های مزمن التهابی مشتق از میکروگلیا، از جمله  $TNF-\alpha$ ،  $IL-1\alpha$ ، منجر به تبدیل آستروسیت‌های با فنوتیپ A2 به A1، که سبب تخریب عصبی می‌شود (۱۶). در حالت استرس اکسیداتیو، بسیاری از ماکرومولکول‌ها آسیب می‌بینند و فرایند اکسیداسیون پروتئین، DNA، لیپیدها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و اختلال در عملکرد غشاهای مختلف اتفاق می‌افتد (۱۷). مطالعات زیادی بر این باورند که استرس اکسیداتیو با افزایش سن در بافت‌ها افزایش می‌یابد (۱۸). سیستم کولینرژیک به‌عنوان واسطه برهمکنش‌های عصبی-ایمنی یا تنظیم‌کننده داخلی پاسخ‌های ایمنی پیشنهاد شده است (۱۹). نشان داده شده است که محصولات ترشحی سلول‌های گلیال فعال‌شده با سیستم ایمنی به‌طور انتخابی سیستم کولینرژیک را مختل می‌کنند. سیستم آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در تنظیم تغییرات التهابی و همچنین تغییرات کولینرژیک در شرایط نورودژنراتیو ایفا می‌کند (۲۰).

لیپوپلی ساکاریدها مولکول‌های بزرگ حاوی لیپید و پلی ساکارید هستند که در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شوند (۲۱). یک نقطه مشترک اصلی بین التهاب عصبی و التهاب ناشی از  $LPS^1$  مسیر سیگنالینگ TLR4 است. تجویز  $LPS$  باعث پاسخ التهابی می‌شود که عمدتاً توسط TLR4، فعال‌سازی مجدد میکروگلیا و التهاب عصبی ایجاد می‌شود که منجر به انحطاط نورون‌ها، تخریب سیناپس و در نهایت مرگ سلول‌های عصبی می‌شود (۲۲). این فرآیند با تولید عوامل التهابی، مانند  $TNF-\alpha$ ،  $IL-6$ ،  $IL-1\beta$ ، افزایش فعالیت  $iNOS$ ،  $COX-2$ ،  $\beta$ -سکرتاز،  $\gamma$ -سکرتاز، تجمع آمیلوئید بتا و استرس اکسیداتیو واسطه می‌شود (۲۳). آمیلوئیدوژن ناشی از  $LPS$  بارزترین پدیده در نواحی قشر مغز و هیپوکامپ است (۲۴). متعاقباً، در شرایط *in vivo*، اختلال شناختی رخ می‌دهد و به دنبال آن تغییراتی در رفتار طبیعی از جمله کاهش حرکت، اضطراب، افسردگی، خواب‌آلودگی، کاهش اشتها و کاهش وزن رخ می‌دهد که به آن اختلال رفتاری نیز می‌گویند (۹).  $LPS$  سبب کاهش پروتئین  $\alpha7nAChR$ ، محتوای استیل کولین (ACh) و فعالیت کولین استیل ترانسفراز (ChAT) و افزایش فعالیت استیل کولین استراز (AChE) گردید. گزارش شده است  $LPS$  به‌طور معنی‌داری مالون دی‌آلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) را افزایش و محتوای کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون (GSH) را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد (۲۵). افزایش تجمع آمیلوئید بتا به دلیل تجویز مزمن  $LPS$ ، مدل  $LPS$  را به روشی بسیار مناسب برای مطالعات

مغز که در آن ROS تولید می‌شود، میتوکندری در نورون‌ها و نوروگلیا هستند. تولید بیش‌ازحد ROS در این اختلال عصبی افزایش می‌یابد و دلایل اصلی آن التهاب عصبی، اختلال عملکرد میتوکندری، سن، افزایش سطح آهن و کلسیم و تخریب دوپامین است. علاوه بر این، تولید بیش‌ازحد ROS می‌تواند در صورت قرار گرفتن در معرض محیطی با آفت‌کش‌ها و نوروتوکسین‌ها تشدید شود. اگرچه فرآیند دقیقی که از دست دادن نورون دوپامینرژیک را تعیین می‌کند، مشخص نیست، پیشنهاد شده است که ROS یکی از عوامل کلیدی است (۵). تجزیه و تحلیل مدل‌های موش اسکروز جانبی آمیوتروفیک گزارش کردند که پیلینه‌های عصبی به ROS حساس هستند، که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو، اختلال در عملکرد میتوکندری، افزایش  $Ca^{+2}$  داخل سلولی و کاهش انتقال پیش سیناپسی در اتصالات عصبی عضلانی را تقویت می‌کند. علاوه بر این، عوامل التهابی منجر به تخریب عصبی می‌شوند (۶). در بیماری آلزایمر استرس اکسیداتیو از طریق سه مکانیسم اصلی که بر هموستاز سلولی، تولید ROS و تنظیم افزایشی تشکیل  $A\beta$  و p-tau تأثیر می‌گذارد، به پیشرفت این بیماری کمک می‌کند (۷). مشاهده شده است که التهاب عصبی همراه با استرس اکسیداتیو جنبه‌های اساسی هستند که باید در رابطه با شروع و پیشرفت اختلالات نورودژنراتیو مورد توجه قرار گیرند و به‌طور جدایی‌ناپذیری در پاتوژنز آن‌ها مرتبط هستند. سلول‌های التهابی ROS آزاد می‌کنند که استرس اکسیداتیو تولید می‌کنند (۸).

التهاب عصبی به‌عنوان یک پاسخ التهابی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) تعریف می‌شود که با تولید سایتوکاین‌ها همراه با کموکاین‌ها و آنزیم‌های التهابی انجام می‌شود. میکروگلیا نوعی سلول گلیال مربوط به ماکروفاژها است که سلول‌های ایمنی در مغز و نخاع را تشکیل می‌دهند. میکروگلیا با حذف محصولات متابولیکی غیرضروری، مواد خارجی و بقایای سلولی نقش مهمی در حفظ هموستاز بافت عصبی ایفا می‌کنند (۹). علاوه بر این در رشد مغز، تعدیل عصبی، شکل‌پذیری سیناپسی شرکت می‌کند و به یادگیری و پردازش حافظه کمک می‌کند (۱۰، ۱۱). گروه دیگری از سلول‌های CNS که دارای نقش ایمنی هستند، آستروسیت‌ها هستند و مهم‌ترین نقش آن‌ها حفظ سد خونی مغزی است (۱۲). سلول‌های میکروگلیال TLR4 و TLR2 را بیان می‌کنند و فعال شدن آن‌ها با التهاب عصبی و افزایش مرگ سلول‌های عصبی همراه است (۱۳). فعال شدن طولانی‌مدت میکروگلیا منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و تخریب عصبی و اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود که منجر به مرگ نورون‌ها و تخریب عصبی، به‌ویژه در

<sup>1</sup> Lipopolysaccharide

استیل کولین استراز، استرس اکسیداتیو و واکنش آستروگلیال به دنبال القا التهاب عصبی در موش صحرایی است.

### مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، کرج) در محدوده وزنی ۲۱۵-۱۸۵ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آبلوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه (در هر گروه ۸ موش) تقسیم شدند که عبارت‌اند از: گروه‌های کنترل، دوز کنترل تحت تیمار با دیوسجنین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دوز مؤثر که در مطالعات قبلی گزارش شده است (۳۹))، لیپوپولی ساکارید، و لیپوپولی ساکارید تحت تیمار با دیوسجنین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). در مورد گروه‌های دریافت‌کننده دیوسجنین، این ماده به‌صورت خوراکی با دوز ذکرشده به مدت هفت روز و روزانه تجویز شد. برای القا التهاب عصبی، لیپوپولی ساکارید حل شده در نرمال سالین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی در اولین روز و یک ساعت قبل تجویز دیوسجنین تزریق شد. معیارهای ورود به مطالعه عبارت‌اند از: جمعیت: مدل‌های اختلال شناختی تحت القا با LPS، مداخله: داروی LPS، پیامدها: میزان مرگ‌ومیر بود. معیارهای خروج از مطالعه: جمعیت: اگر مدل اختلال حافظه به‌درستی القا نشده باشد، پیامدها: علائم بیماری القا شده کافی نباشد.

### استفاده از شاتل باکس برای بررسی رفتار اجتنابی غیرفعال:

برای بررسی رفتار احترازی غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتیمتر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. از میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک، از دستگاه استیمولاتور خاص (به‌بود پرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی‌آمپر و به مدت یک ثانیه اعمال گردید. در این مطالعه، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال در هفته سوم پس از شروع تزریق لیپوپولی ساکارید، به شرح زیر بود:

الف) مرحله سازش: در این مرحله، قبل از شروع آزمایش، هر حیوان برای ۲ روز متوالی به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

ب) مرحله اکتساب: در این مرحله (روز سوم)، حیوان در محفظه روشن به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد، این محفظه تاریک

بیماری آلزایمر تبدیل می‌کند (۲۳). LPS همچنین می‌تواند ویژگی‌های مشخصه بیماری پارکینسون را با ایجاد التهاب عصبی و تخریب نورون‌های دوپامینرژیک القا کند (۲۶). علاوه بر این، کاربرد مدل‌های تجربی LPS در اسکروز جانبی آمیوتروفیک و بیماری هانتینگتون بررسی شده است (۲۷). از این رو، ایجاد یک مدل تجربی القا شده با LPS در مطالعات بسیاری برای بررسی اساس مولکولی اختلالات شناختی ناشی از بیماری‌های عصبی و برای آزمایش استراتژی‌های درمانی بالقوه است (۲۸، ۲۹). همچنین آسیب اکسیداتیو بافت مغز به‌عنوان عامل مهمی در اختلال حافظه ناشی از LPS در نظر گرفته شده است (۳۰).

در چند سال اخیر استفاده از ترکیبات طبیعی در درمان حفاظتی بیماری‌های عصبی مورد توجه قرار گرفته است. دیوسجنین یک ساپوژن استروئیدی موجود در شنبلیله و سیب‌زمینی شیرین است (۳۱). همچنین به دلیل مفید بودن در درمان بیماری‌هایی مانند اختلالات سیستم عصبی، سرطان، آسم، بیماری‌های قلبی عروقی اهمیت زیادی پیدا کرده است (۳۲). دیوسجنین استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز را کاهش می‌دهد (۳۳) و به‌عنوان یک داروی بهبوددهنده حافظه پیشنهاد شده است (۳۴). مطالعات گذشته نشان دادند دیوسجنین پلاک‌های آمیلوئید و نوروفیبریلار تانگل را در مغز کاهش می‌دهد (۳۵). همچنین با جلوگیری از آپوپتوز ناشی از دی‌گالاکتوز سبب کاهش اختلال عصبی می‌شود (۳۶). تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی مطالعه‌های گذشته نشان دادند که دیوسجنین میزان پلاک‌های آمیلوئید بتا، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و افزایش فعالیت استیل کولین استراز را کاهش داد (۳۷). علاوه بر این، درمان دیوسجنین باعث کاهش فعالیت استیل کولین استراز هیپوکامپ و مالون دی‌آلدئید، همراه با بهبود آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون می‌شود. در همین حال، گزارش شده است که تجویز دیوسجنین سطوح هیپوکامپ شاخص‌های التهابی هیپوکامپ، مانند اینترلوکین ۶، NF-κB، TLR4، فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا، و نشانگر زیستی خاص آستروسیت (GFAP) را کاهش و از سوی دیگر سطوح بافتی Nrf2 را افزایش می‌دهد (۳۸). اگرچه مطالعات متعددی که قبلاً انجام شده بود، عملکرد تقویت شناختی دیوسژنین را در برابر اختلالات نورودژنراتیو پیشنهاد کردند، اما مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی به‌وضوح درک نشده‌اند. از آنجایی که بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی در حال گسترش هستند و مطالعات زیادی بر خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دیوسجنین اشاره کرده‌اند و نیز با توجه به اینکه اثر دیوسجنین بر مدل موشی تحت القا با لیپوپولی ساکارید بررسی نشده است، بنابراین هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر دیوسجنین بر اختلال شناختی، فعالیت

رقیق شده به کووت حاوی ۲/۶ میلی لیتر بافر فسفات (pH=8) اضافه شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از واکنشگر المان DTNB به فوتوسل اضافه شده و سپس جذب نوری در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده شد. پس از گذشت زمان ۲ دقیقه، جذب صفر شده و ۲۰ میکرولیتر سوبسترا به آن اضافه گردید. تغییرات جذب در هر دو دقیقه تا ۱۰ دقیقه ثبت شده و بر اساس معادله المان میزان فعالیت استیل کولین استراز محاسبه گردید (۴۱).

#### سنجش فعالیت کاتالاز (CAT):

برای سنجش کاتالاز کیت سنجش اختصاصی فعالیت کاتالاز شرکت کیازیت ساخت ایران استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از نمونه، استاندارد، بلانک (بافر لیز کننده) را به چاهک‌های میکروپلیت اضافه کردیم و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از بافر اندازه گیری کاتالاز موجود در کیت را به آن اضافه کردیم، سپس ۳۰ میکرولیتر متانول کاتالاز را به نمونه‌ها افزودیم و مخلوط کردیم. در مرحله بعد ۲۰ میکرولیتر سوبسترای موجود در کیت را به آن افزودیم و در نهایت پلیت را ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کردیم و در ادامه ۳۰ میکرولیتر از محلول STOP موجود در کیت به آن‌ها اضافه کردیم و در دمای اتاق ۱۰ دقیقه انکوبه کردیم. پس از آن محلول پریودیت موجود در کیت را به آن اضافه کردیم و پس از ۵ دقیقه جذب را در طول موج ۵۵۰ نانومتر خواندیم.

#### سنجش سطح مالون دی آلدئید (MDA):

MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی طبق روشی که اساس آن واکنش تیوباربیتریک اسید (TBA) است، انجام گرفت. نمونه‌های سانتریفیوژ شده با ترکیبی از TBA و تری کلرواستیک اسید در HCl برای ایجاد رسوب پروتئین، مخلوط شدند. این واکنش به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای جوش انجام شد. سپس این مخلوط در دمای آزمایشگاه و با دور ۳۰۰۰ به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ و رسوب حاصل از آن جدا شد. در طول موج ۵۳۲ نانومتر جذب نمونه‌ها انجام گرفت و غلظت نهایی MDA به‌صورت nmol/mg پروتئین گزارش شد (۴۲).

#### سنجش غلظت گلو تاتیون (GSH):

برای این منظور، مایع رویی با اسیدتری کلرواستیک ۵ درصد سانتریفیوژ شد. به ۰.۱ میلی لیتر هموژنات، ۲ میلی لیتر بافر فسفات (pH=8.4)، ۰.۵ میلی لیتر DTNB و ۰.۴ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و جذب در ۴۱۲ نانومتر خوانده شد (۴۳، ۴۴).

#### اندازه گیری میزان GFAP:

برای سنجش این شاخص از روش الایزای ساندریچی و بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. ۵ میکرولیتر از آنتی بادی

نگه‌داشته شد. در این مدت درب گیوتینی ارتباط‌دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن شده و درب گیوتینی باز می‌گردید. به‌محض باز کردن درب، کورنومتر بکار انداخته شد و مدت‌زمانی که طول کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت گردید که مدت‌زمان این تأخیر اولیه تحت عنوان تأخیر اولیه (IL)<sup>۱</sup> اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک، عبور لندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط‌دهنده دو محفظه بود). سپس، درب پایین آورده می‌شد و یک تک شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل می‌گردید. در ارتباط با این مرحله، موش‌های با تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه آزمایشات حذف گردیدند.

ج (مرحله بازیابی حافظه): این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد، هیچ‌گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تأخیر در حین عبور (STL)<sup>۲</sup> اندازه‌گیری گردید. منظور از تأخیر در حین عبور مدت‌زمانی است که قبل از آن که حیوان وارد محفظه تاریک شود، در محفظه روشن باقی می‌ماند. زمان قطع آزمایش نیز ۱۵۰ ثانیه در نظر گرفته شد. (۴۰). انجام سه مرحله شاتل باکس در صبح و در رأس یک ساعت معین انجام گردید.

در پایان هفته سوم پس از شروع تزریق لیپوپولی ساکارید بعد از اتمام بررسی‌های رفتاری، حیوانات با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین بیهوش شدند. سپس با رعایت مسائل اخلاقی بافت هیپوکامپ جدا شد. در رابطه با کالیبراسیون دستگاه‌ها، خروجی تحریکی در ابتدا توسط شرکت سازنده بررسی و تأیید شده بود.

#### تهیه هموژنه هیپوکامپ:

برای تهیه هموژنه بافتی، ابتدا بافت هیپوکامپ توزین شد و به آن به‌صورت جداگانه، بافر تریس سرد (pH= 7.4) برای نسبت وزنی ۲/۵ درصد اضافه شد و به مدت یک دقیقه با دستگاه میکروهموژنایزر با دور ۵۰۰۰ در دقیقه هموژنیزه گردید و محلول هموژنیزه شده، توسط سانتریفیوژ یخچال دار با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از انجام سانتریفیوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا و درون میکروتیوب جمع آوری شد و از این محلول برای سنجش شاخص‌ها استفاده شد.

#### سنجش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (AChE):

برای اندازه‌گیری فعالیت استیل کولین استراز، از روش المان (Ellman) استفاده می‌شود. ۰/۴ میلی لیتر محلول هموژن بافتی

<sup>2</sup> Step Through Latency

<sup>1</sup> Initial latency

حافظه و به یادآوری آن‌ها است. این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل کم‌تر بود ( $P<0.001$ ). بعلاوه، این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید ( $P<0.01$ ) و کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ( $P<0.05$ ) نشان داد.

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در نمودار (۲) نشان داده شده است. در گروه لیپوپلی ساکارید فعالیت این آنزیم به صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ( $P<0.01$ ). بعلاوه، این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید نشان داد ( $P<0.05$ ).

نمودار (۳) نتایج حاصل از فعالیت آنزیم کاتالاز در واحد حجم هموژنه بافت هیپوکامپ نمونه‌ها، به نسبت غلظت عمومی پروتئین مربوط به هر بافت برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر را مشخص می‌کند. در گروه لیپوپلی ساکارید فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش معنا دار نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P<0.01$ ). این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین افزایش معنا دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید نشان داد ( $P<0.05$ ).

نتایج مربوط به اندازه گیری مالون دی آلدئید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در هموژنه هیپوکامپ گروه‌های مختلف در نمودار (۴) نشان داده شده است. گروه لیپوپلی ساکارید در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار ( $P<0.001$ ) در میزان MDA نشان داد. در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک کاهش معنی‌دار در میزان مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید و یک افزایش معنادار در سطح این فاکتور در مقایسه با گروه کنترل مشخص گردید (به ترتیب  $P<0.01$  و  $P<0.05$ ).

نتایج حاصل از سنجش میزان گلوکوتایون (GSH) در واحد حجم بافت هموژنه هیپوکامپ نمونه‌ها در نمودار (۵) به تصویر کشیده شده است. اندازه گیری غلظت گلوکوتایون در گروه لیپوپلی ساکارید و گروه لیپوپلی ساکارید تحت تیمار با دیوسجنین کاهش معنا دار نسبت به گروه کنترل نشان داد (به ترتیب  $P<0.01$  و  $P<0.05$ ).

نمودار (۶) نتایج مربوط به اندازه گیری میزان بیان پروتئین (GFAP)<sup>۲</sup> به عنوان شاخص آسترگلیوز در بافت هموژنه هیپوکامپ نمونه‌ها را نشان می‌دهد. این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید و لیپوپلی ساکارید تحت تیمار با دیوسجنین به صورت معنی‌دار و بارز

اولیه، علیه GFAP ایجاد شده در خرگوش با رقت مناسب حل شده در بافر سالین (pH=7.4) به ۵۰ میکرولیتر از بافر پوشش دهنده<sup>۱</sup> در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب به چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. شست و شوی چاهک‌ها با بافر PBS سه بار انجام گرفت. به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر بافر بلوکه کننده حاوی ۵ درصد شیر خشک غیر چرب در بافر PBS انجام گرفت. سپس چاهک‌ها با بافر ۲ بار شست و شو شدند. ۱۰۰ میکرولیتر محلول استاندارد یا نمونه‌ی بافتی رقیق شده و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به چاهک‌ها اضافه شد. در این مرحله چاهک‌ها با بافر سه بار شست و شو شدند. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر آر آنتی بادی ثانویه کونژوئیه ی متصل به آنزیم HRP با غلظت مناسب ایجاد شده در بز و نگه داری به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه صورت گرفت و سپس سه بار شست و شو چاهک‌ها با بافر انجام شد. پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای HRP حاوی آب اکسیژنه و تترامیل بنزدین و نگه داری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه اضافه شد و در مکان تاریک قرار گرفت تا رنگ آبی ظاهر شود. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول Stop (اسید سولفوریک ۰.۱۸) اضافه تا رنگ زرد ظاهر شود و سرانجام جذب نوری با استفاده از دستگاه پلیت ریدر، در طول موج نوری ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. غلظت GFAP برحسب pg/ml با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد.

### تجزیه و تحلیل آماری:

تمامی داده‌ها به صورت Mean  $\pm$  SEM گزارش شدند. تجزیه و تحلیل به کمک نرم افزار آماری (Graphpad Prism 8) انجام گرفت. از موان آماری ANOVA یک طرفه و به دنبال آن آزمون Tukey استفاده شد. جهت رسم نمودارها از برنامه میکروسافت اکسل ۲۰۱۸ استفاده گردید. در این مطالعه  $P<0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

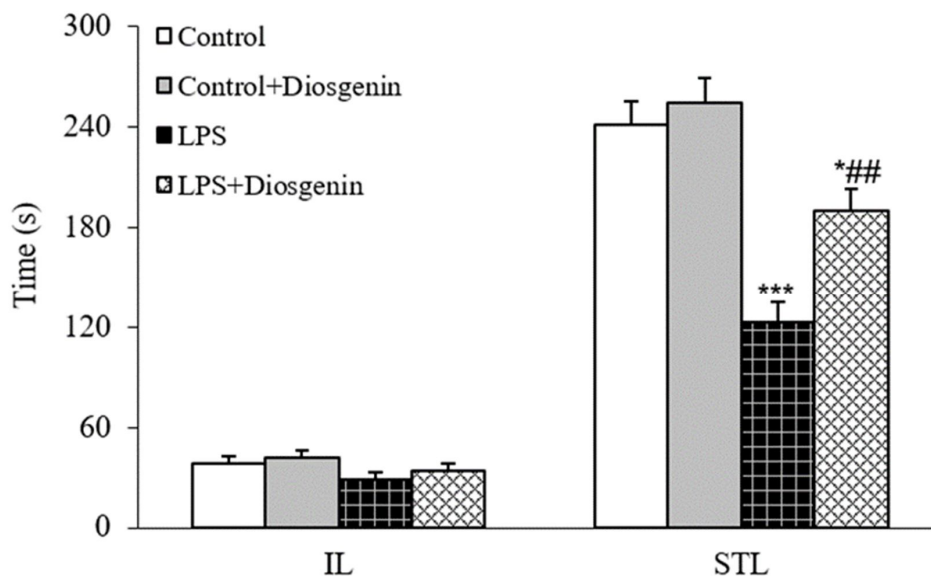
### یافته‌ها

نمودار (۱) نتایج حاصل از موان اجتنابی غیر فعال نشان داده شده است. تأخیر اولیه که خود نشان‌دهنده توانایی حیوان برای فراگیری رفتار مربوطه است، در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار نشان نداد هر چند در گروه‌های دریافت‌کننده لیپوپلی ساکارید به درجات مختلف کمتر از گروه کنترل بود. در گروه کنترل دریافت‌کننده دیوسجنین نیز از این نظر تفاوتی یافت نشد. تأخیر در حین عبور شاخصی از توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در

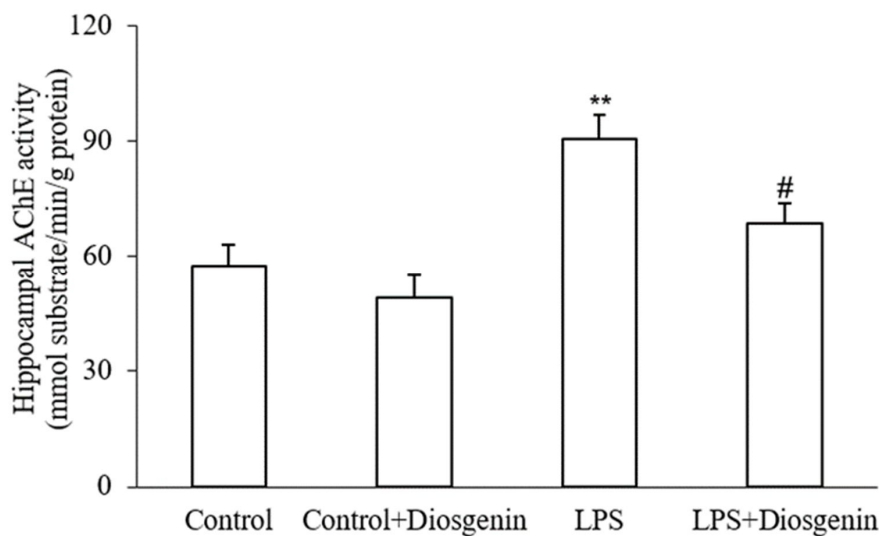
<sup>2</sup> Glial fibrillary acidic protein

<sup>1</sup> Coating buffer

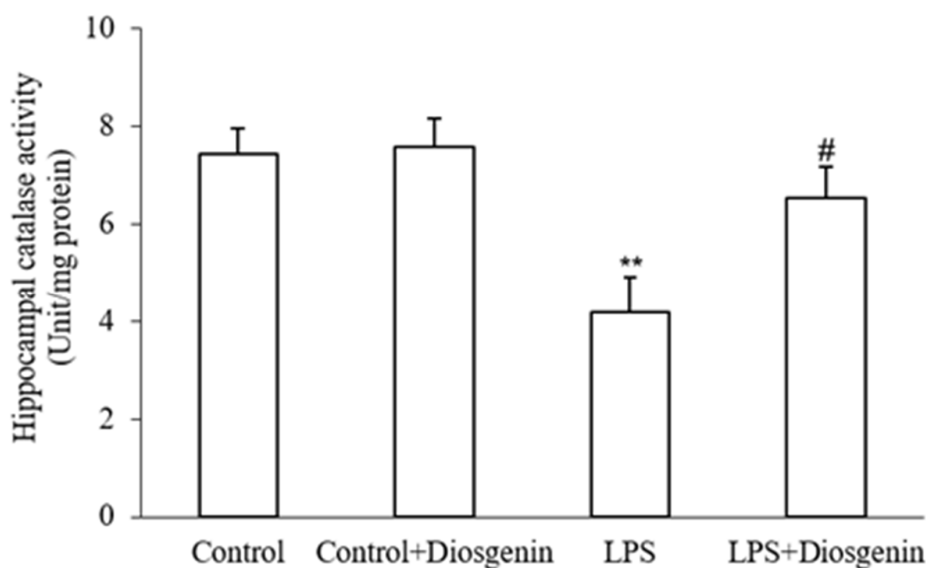
نسبت به گروه کنترل بیشتر بود (به ترتیب  $P < 0.001$  و  $P < 0.01$ ). اما در گروه لیپوپولی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک کاهش معنی‌دار در میزان بیان این فاکتور در مقایسه با گروه لیپوپولی ساکارید نشان داد ( $P < 0.05$ ).



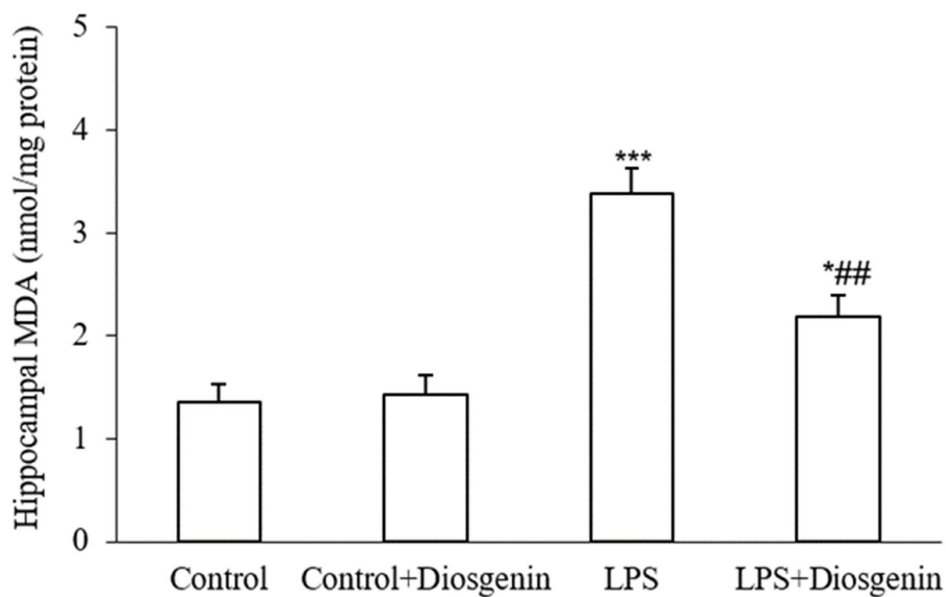
**نمودار (۱):** میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپولی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپولی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P < 0.05$ ،  $P < 0.001$ \*) (درمقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.01$  ## (در مقایسه با گروه لیپوپولی ساکارید). مقدار P کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.



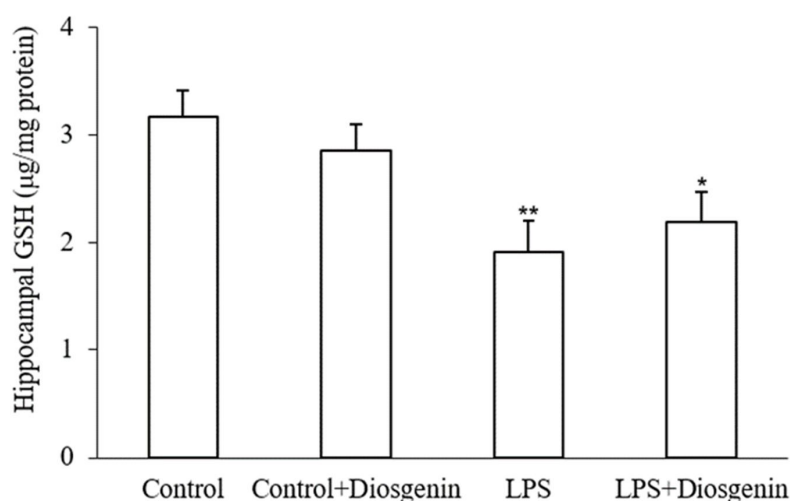
**نمودار (۲):** میزان فعالیت استیل کولین استراز در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپولی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپولی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. ( $P < 0.01$ \*) (درمقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.05$  # (در مقایسه با گروه لیپوپولی ساکارید). مقدار P کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.



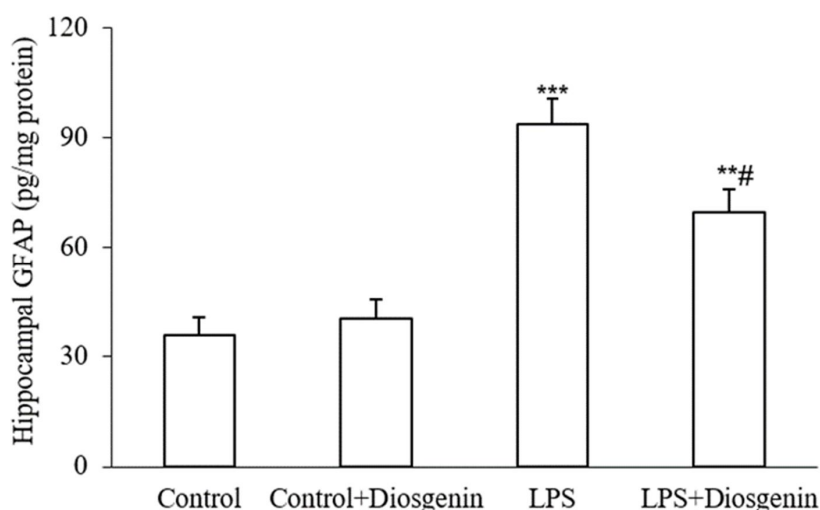
**نمودار (۳):** میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپلی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپلی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. ( $P < 0.01$ )<sup>\*</sup> (در مقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.05$  # (در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید)). مقدار  $P$  کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.



**نمودار (۴):** میزان مالون دی‌آلدهید در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپلی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپلی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. ( $P < 0.05$ )<sup>\*</sup> (در مقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.001$ \*\*\* (در مقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.01$  # (در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید)). مقدار  $P$  کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.



**نمودار (۵):** میزان غلظت گلوتاتیون در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپلی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپلی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P < 0.05$ )\*،  $P < 0.01$ \*\* (در مقایسه با گروه کنترل). مقدار P کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.



**نمودار (۶):** میزان GFAP در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیپوپلی ساکارید در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و لیپوپلی ساکارید تیمار شده با دیوسجنین در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $P < 0.01$ )\*،  $P < 0.001$ \*\*\* (در مقایسه با گروه کنترل)،  $P < 0.05$ ## (در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید). مقدار P کمتر از ۰.۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه اثر حفاظت‌کننده عصبی دیوسجنین را در موش‌های مبتلا به تخریب عصبی القاء شده با LPS نشان داد. تجویز سیستمیک LPS نه‌تنها باعث ایجاد یک پاسخ ایمنی ذاتی محیطی می‌شود، بلکه سیستم عصبی مرکزی را از طریق فعال‌سازی سایتوکاین‌های پیش‌تهابی مانند اینترلوکین ۶ (IL-6)

(6)، اینترلوکین ۱ بتا (IL-1 $\beta$ ) و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) در مغز نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۵). قرار گرفتن در معرض LPS با القای التهاب عصبی، به‌عنوان یک مدل آزمایشگاهی التهاب عصبی و استرس اکسیداتیو در مغز منجر به اختلال شناختی می‌شود (۴۶). نتایج Mani و همکاران در سال ۲۰۲۳ نشان داد که LPS ممکن است بتواند با کاهش فعالیت کولینرژیک



هیدرولیز این نوروترانسمیتر می‌گردد و افزایش فعالیت AChE منجر به کاهش سطح آن می‌شود. چندین مطالعه پیشنهاد کرده‌اند که مهارکننده‌های AChE مانند ریواسیتیگمین و گالانتامین، سطح استیل کولین را افزایش می‌دهند و عملکرد شناختی را به‌طور مؤثر بهبود می‌بخشند (۵۸). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که پیش‌تیمار با دیوسجنین در موش‌های مدل آلزایمری باعث کاهش قابل توجهی در فعالیت AChE می‌شود و دیوسجنین می‌تواند یک راه‌حل درمانی برای بیماری آلزایمر باشد (۵۳). به‌طوری‌که در گروه لیپوپلی ساکارید فعالیت این آنزیم افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت. بعلاوه، این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید نشان داد. فعالیت مهاره AChE دیوسجنین در مطالعه‌ی دیگر گزارش شده است (۵۹).

استرس اکسیداتیو با پاتوفیزیولوژی بیماری‌های نورودژنراتیو مرتبط است. آسیب اکسیداتیو بافت مغز نیز به‌خوبی شناخته شده است که نقشی در اختلالات یادگیری و حافظه ناشی از LPS در مدل حیوانی دارد. هیپوکامپ مرکزی برای یادگیری و حافظه است اما به استرس اکسیداتیو حساس است. در تحقیقات قبلی، مشخص شد که اختلال حافظه ناشی از LPS با افزایش متابولیت‌های MDA و اکسید نیتریک (NO) و کاهش محتوای SOD، CAT و تیول در هیپوکامپ مرتبط است (۶۰). مطالعات قبلی نشان داده است که پس از تزریق داخل بطن مغزی LPS، تغییرات قابل توجهی در نشانگرهای استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش مشاهده شد (۶۱). مطالعه ما نشان داد که سطح MDA هیپوکامپ در گروه تحت تیمار با LPS به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. با این حال، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی CAT به‌طور چشمگیری در موش‌های تحت تیمار با LPS کاهش یافت. علاوه بر این، گلوتاتیون یک مولکول تری پپتیدی است که حاوی سیستئین و یک گروه تیول فعال برای حفظ وضعیت ردوکس داخل سلولی است. همچنین از سلول‌ها در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای تشکیل‌شده در طول استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (۶۲). کاهش قابل توجه در سطح GSH در هیپوکامپ موش‌هایی که LPS به‌تنهایی در این مطالعه تجویز شده بود نشان داده شد. این را می‌توان با این واقعیت توضیح داد که در نقص‌های شناختی ناشی از LPS، افزایش التهاب و نشانگرهای استرس اکسیداتیو ممکن است به دلیل اختلال در مکانیسم‌های ضدالتهابی و ضد اکسیداتیو باشد. بنابراین، این مطالعات نشان داد که استرس اکسیداتیو و التهاب در پاتوژنز نقایص شناختی القا شده با LPS شرکت می‌کنند. بنابراین کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب به‌طور هم‌زمان ممکن است در کاهش زوال شناختی در وظایف وابسته به

سبب از دست دادن حافظه مرتبط با التهاب عصبی و درعین حال آپوپتوز سلولی و استرس اکسیداتیو گردد (۴۷).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تجویز LPS می‌تواند منجر به اختلال یادگیری و حافظه شود (۴۸). در مطالعه حاضر نشان داده شد، تأخیر اولیه که نشان‌دهنده توانایی حیوان برای فراگیری رفتار مربوطه است، در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار نشان نداد هرچند در گروه‌های دریافت‌کننده لیپوپلی ساکارید به درجات مختلف کمتر از گروه کنترل بود. همچنین تأخیر در حین عبور که معرف توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در حافظه و به یادآوری آن‌ها هست در گروه لیپوپلی ساکارید به‌صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل کم‌تر بود. همچنین تأخیر در ورود به محفظه تاریک نشان داد، توانایی موش‌ها برای پاسخ به حافظه اجتنابی غیرفعال می‌تواند توسط LPS، مطابق با گزارش‌های قبلی (۴۶، ۴۸) کاهش یابد.

اخیراً، محققان نشان داده‌اند که تجویز LPS منجر به نقص حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال و آزمایش ماز آبی موریس می‌شود که تا حدی به دلیل التهاب بافت مغز و استرس اکسیداتیو است (۴۹). Skibska و همکاران در سال ۲۰۲۳ گزارش کردند که LPS سبب افزایش پارامترهای استرس اکسیداتیو و بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی در کلیه موش صحرایی می‌گردد (۵۰).

در مطالعه توهدا و همکاران در سال ۲۰۱۷، تجویز خوراکی دیوسجنین به بهبود عملکرد شناختی کمک کرد (۵۱). علاوه بر این، دیوسجنین دارای ویژگی‌های محافظت‌کننده عصبی است. کائو و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که دیوسجنین تغییرات عملکردی و ساختاری را معکوس کرده و ترمیم عصبی در مدل نوروپاتی دیابتی القا می‌کند (۵۲). گزارش شده است که دیوسجنین می‌تواند انواع مختلفی از آسیب مغزی را در مدل‌های موش تراریخته بهبود بخشد (۵۳). اثرات محافظت‌کننده عصبی این ماده در موش‌های تحت تیمار با دی‌گالاکتوز را تأیید شده است (۵۴). مطالعه مشابه دیگری نشان داد که گیاه *Dioscorea pseudojaponica* حاوی دیوسجنین روی اختلالات شناختی و بهبود حافظه و یادگیری مؤثر است (۵۵). نتایج این مطالعه نشان داد، تأخیر در ورود به محفظه تاریک در گروه لیپوپلی ساکارید دریافت‌کننده دیوسجنین یک افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید نشان داد که موافق با مطالعات مذکور بود.

چندین گزارش نشان داده است که AChE در بیماران آلزایمری باعث درجات مختلف آسیب می‌شود (۵۳، ۵۶). نشان داده شده است که کاهش انتقال‌دهنده عصبی استیل کولین در مغز با نقص یادگیری و حافظه همراه است (۵۷). AChE سبب

دریافت‌کننده دیوسجنین یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه لیپوپلی ساکارید نشان داد. مطالعه‌های قبلی نشان داد، دیوسجنین با مهار واسطه‌های التهابی در کبد و مغز موش‌های صحرایی از پیشرفت بیماری آترواسکلروتیک جلوگیری می‌کند (۷۲). Tambe و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که تیمار دیوسجنین از نوروں‌ها در برابر آسیب ناشی از تشنج محافظت می‌کند. همچنین سطح GFAP را کاهش می‌دهد (۷۳). گزارش شده است که پیش تیمار دیوسجنین باعث بهبود رفتار حرکتی از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و آستروگلیوز (GFAP) در موش‌های تحت تیمار با ۶-هیدروکسی دوپامین می‌شود (۷۴). علاوه بر این، مشتقات دیوسجنین با فعالیت ضدالتهابی سبب مهار فعال‌سازی NF- $\kappa$ B و JNK می‌شود (۷۵). به‌علاوه ژانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ با هدف بررسی اثر دیوسجنین بر آسیب مغزی ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد مغزی نشان دادند تیمار با دیوسجنین در گروه ضایعه دیده نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری میزان مرگ را کاهش داد و اختلال مغزی را بهبود بخشید. بنابراین اثرات حفاظت عصبی دیوسجنین ناشی از نقش ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی است (۷۶). نتایج این مطالعه‌ها در راستای اثر دیوسجنین بر بهبود التهاب عصبی مشابه نتایج مطالعه فعلی است.

به‌طور خلاصه نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز دیوسجنین به‌صورت خوراکی سبب کاهش استرس اکسیداتیو می‌گردد که با کاهش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز) مشهود بود. دیوسجنین با جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز، فعالیت کولینرژیک را بهبود بخشید، آستروگلیوز را کاهش و حافظه را در آزمون رفتاری افزایش داد.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم بررسی‌های بافت‌شناسی و عدم اندازه‌گیری سایر شاخص‌های مرتبط با LPS اشاره کرد. بنابراین به مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد که این پروتکل را بر روی شاخص‌های TNF، Iba1 و MMP اجرا نمایند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این پژوهش مراتب تشکر و قدردانی خود را از محققین مطالعات وارد شده گذشته اعلام می‌دارند.

### ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با IR.Shahed.REC.1396.14 مصوب کمیته ملی اخلاق وزارت بهداشت ایران و دانشگاه شاهد است. کلیه مراحل انجام این تحقیق با نظارت کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شاهد و با پیروی از قوانین مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت ایران انجام گردید.

هیپوکامپ مؤثر باشد. سنجش میزان MDA، به‌عنوان یک مارکر قابل‌اعتماد استرس اکسیداتیو، برای انعکاس سطح آسیب‌های سلولی ناشی از ROS استفاده شد و مهار MDA می‌تواند یک رویکرد بالقوه برای استرس اکسیداتیو باشد. CAT و مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی GSH نقش مهمی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن دارند. در این مطالعه، تیمار با دیوسجنین در گروه لیپوپلی ساکارید به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش MDA و افزایش فعالیت CAT و غلظت GSH در هیپوکامپ شد. نتایج نشان داد که دیوسجنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را برای کاهش آسیب استرس اکسیداتیو توسط التهاب ناشی از LPS در مغز افزایش می‌دهد. در همین راستا اثرات محافظت عصبی دیوسجنین در مدل موش دیابتی نیز توسط لنگ و همکاران در سال ۲۰۲۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. مطالعات آن‌ها نشان داد، دیوسجنین به‌طور قابل‌توجهی سطح MDA را کاهش می‌دهد اما سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) می‌گردد (۶۳). از سوی دیگر در مطالعه احدی و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان داد که تیمار با دیوسجنین پیامدهای رفتاری، استرس اکسیداتیو و مرگ نوروں‌ها را کاهش می‌دهد (۶۴).

در مطالعه‌ی دیگر نتیجه‌گیری شد که دیوسجنین با اثرات آنتی‌اکسیدانی و حفاظت عصبی در درمان اختلالات شناختی می‌تواند مؤثر باشد (۶۵). در مطالعه Ben-Azu و همکاران در سال ۲۰۲۴ دیوسجنین از نقص‌های شناختی در موش‌های تحت تیمار با کتامین نسبت به گروه‌های کتامین جلوگیری کرد. افزایش سطح استیل کولین استراز، مالون دی‌آلدئید و نیتريت تولیدشده توسط کتامین بر اثر تیمار دیوسجنین در جسم مخطط، قشر جلوی مغز و هیپوکامپ کاهش یافت. دیوسجنین باعث افزایش سطح گلوتاتیون و کاتالاز شد. درنهایت، این تغییرات بیوشیمیایی ممکن است به نقایص رفتاری در موش‌های تحت تیمار با کتامین مرتبط باشد، که توسط دیوسجنین جلوگیری و معکوس شد (۶۶). مطالعات قبلی (۶۷، ۶۸) نشان داده‌اند که LPS باعث فعال شدن میکروگلیا می‌شود و در نتیجه ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از طریق مسیر NF- $\kappa$ B در هیپوکامپ موش می‌شود (۶۹). ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی به دنبال LPS باعث تحریک آستروسیت‌ها می‌شود (۷۰). آستروسیت‌های فعال‌شده منجر به التهاب عصبی تقویت‌شده و ایجاد تغییرات عملکردی در محیط عصبی می‌شود (۷۱). در این مطالعه ما سطوح پروتئین اسیدی فیبریلاری گلیال (GFAP) را به‌عنوان نشانگر برای آستروسیت‌های فعال موردسنجش قرار دادیم. این پارامتر در گروه لیپوپلی ساکارید و لیپوپلی ساکارید تحت تیمار با دیوسجنین به‌صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. درحالی‌که، گروه لیپوپلی ساکارید

## تعارض منافع

نویسندگان مطالعه اعلام می‌کنند که تعارض منافی وجود

ندارد.

## حمایت مالی

این پژوهش با کمک مالی دانشگاه شاهد انجام گردید.

## References:

- Gooch CL, Pracht E, Borenstein AR. The burden of neurological disease in the United States: A summary report and call to action. *Ann Neurol* 2017;81(4):479-84  
<https://doi.org/10.1002/ana.24897>
- Berger JR, Choi D, Kaminski HJ, Gordon MF, Hurko O, D'Cruz ON, et al. Importance and hurdles to drug discovery for neurological disease. *Ann Neurol* 2013;74(3):441-6  
<https://doi.org/10.1002/ana.23997>
- Nickels KC, Zaccariello MJ, Hamiwka LD, Wirrell EC. Cognitive and neurodevelopmental comorbidities in paediatric epilepsy. *Nat Rev Neurol* 2016;12(8):465-76  
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.98>
- Allison DJ, Ditor DS. The common inflammatory etiology of depression and cognitive impairment: a therapeutic target. *J Neuroinflammation* 2014;11(1):1-12  
<https://doi.org/10.1186/s12974-014-0151-1>
- Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Exp neurobiol* 2015;24(4):325  
<https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.325>
- Pollari E, Goldsteins G, Bart G, Koistinaho J, Giniatullin R. The role of oxidative stress in degeneration of the neuromuscular junction in amyotrophic lateral sclerosis. *Cell neurosci* 2014;8:131  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00131>
- Cassidy L, Fernandez F, Johnson JB, Naiker M, Owoola AG, Broszczak DA. Oxidative stress in alzheimer's disease: A review on emergent natural polyphenolic therapeutics. *Complementary ther* med 2020;49:102294  
<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102294>
- Solleiro-Villavicencio H, Rivas-Arancibia S. Effect of chronic oxidative stress on neuroinflammatory response mediated by CD4+ T cells in neurodegenerative diseases. *Fron cell neurosci* 2018;12:114  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00114>
- Zhao J, Bi W, Xiao S, Lan X, Cheng X, Zhang J, et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Sci Rep* 2019;9(1):1-12  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>
- Vandenbark AA, Offner H, Matejuk S, Matejuk A. Microglia and astrocyte involvement in neurodegeneration and brain cancer. *J Neuroinflammation* 2021;18(1):1-16  
<https://doi.org/10.1186/s12974-021-02355-0>
- Sudwants A, Ramesha S, Gao T, Ponnusamy M, Wang S, Hansen M, et al. BIN1 is a key regulator of proinflammatory and neurodegeneration-related activation in microglia. *Mol Neurodegener* 2022;17(1):1-27  
<https://doi.org/10.1186/s13024-022-00535-x>
- Booth HD, Hirst WD, Wade-Martins R. The role of astrocyte dysfunction in Parkinson's disease pathogenesis. *Trends Neurosci* 2017;40(6):358-70  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.001>
- Wang L, Lin F, Ren M, Liu X, Xie W, Zhang A, et al. The PICK1/TLR4 complex on microglia is involved in the regulation of LPS-induced sepsis-associated encephalopathy. *Int Immunopharmacol* 2021;100:108116  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108116>
- Abdo Qaid EY, Abdullah Z, Zakaria R, Long I. Minocycline protects against lipopolysaccharide-

- induced glial cells activation and oxidative stress damage in the medial prefrontal cortex (mPFC) of the rat. *Int J Neurosci* 2022(just-accepted):1-9 <https://doi.org/10.1080/00207454.2022.2084092>
15. Harland M, Torres S, Liu J, Wang X. Neuronal mitochondria modulation of LPS-induced neuroinflammation. *J Neurosci* 2020;40(8):1756-65 <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2324-19.2020>
  16. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 2017;541(7638):481-7 <https://doi.org/10.1038/nature21029>
  17. Dehghan P, Aliasgharzadeh AA, Asghari Jafarabadi M, Pourghassem Gargari B. Effects of inulin supplementation on total antioxidant capacity, glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and catalase activities of type 2 diabetes patients. *Stud Med Sci Res* 2014;24(12):977-86
  18. Mehranfard N, Salimi R, Saranjam A, Naderi R. The protective effect of prazosin on oxidative stress in the heart of aged male rats. *Stud Med Sci Res* 2024;34(12):772-80 <https://doi.org/10.61186/umj.34.12.772>
  19. Nizri E, Hamra-Amitay Y, Sicsic C, Lavon I, Brenner T. Anti-inflammatory properties of cholinergic up-regulation: a new role for acetylcholinesterase inhibitors. *Neuropharmacology* 2006;50(5):540-7 <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.10.013>
  20. Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia. *Neuropharmacology* 2009;56(4):779-87 <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.01.005>
  21. Naseri A, Khalili M, Haddadzadeh-Niri N, Roghani M. The effect of crocin on liver dysfunction induced by lipopolysaccharide/d-galactosamine in male mouse. *Stud Med Sci Res* 2023;34(1):25-34 <https://doi.org/10.52547/umj.34.1.25>
  22. Yang L, Zhou R, Tong Y, Chen P, Shen Y, Miao S, et al. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation. *Neurobiol Dis* 2020;140:104814 <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104814>
  23. Kshirsagar V, Thingore C, Gursahani M, Gawali N, Juvekar A. Hydrogen Sulfide Ameliorates Lipopolysaccharide-Induced Memory Impairment in Mice by Reducing Apoptosis, Oxidative, and Inflammatory Effects. *Neurotox Res* 2021;39(4):1310-22 <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00374-6>
  24. Gu SM, Lee HP, Ham YW, Son DJ, Kim HY, Oh KW, et al. Piperlongumine improves lipopolysaccharide-induced amyloidogenesis by suppressing NF-KappaB pathway. *Neuromol Med* 2018;20(3):312-27 <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8495-9>
  25. Han Y-G, Qin X, Zhang T, Lei M, Sun F-Y, Sun J-J, et al. Electroacupuncture prevents cognitive impairment induced by lipopolysaccharide via inhibition of oxidative stress and neuroinflammation. *Neurosci Lett* 2018;683:190-5 <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.06.003>
  26. Zakaria A, Rady M, Mahran L, Abou-Aisha K. Pioglitazone attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress, dopaminergic neuronal loss and neurobehavioral impairment by activating Nrf2/ARE/HO-1. *Neurochem Res* 2019;44(12):2856-68 <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02907-0>
  27. Batista CRA, Gomes GF, Candelario-Jalil E, Fiebich BL, De Oliveira ACP. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation as a bridge to understand neurodegeneration. *Int J Mol Sci* 2019;20(9):2293 <https://doi.org/10.3390/ijms20092293>

28. Gong Q-H, Wang Q, Pan L-L, Liu X-H, Huang H, Zhu Y-Z. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment: a pro-inflammatory pathway in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2010;96(1):52-8  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.04.006>
29. Ben-Shaul V, Lomnitski L, Nyska A, Zurovsky Y, Bergman M, Grossman S. The effect of natural antioxidants, NAO and apocynin, on oxidative stress in the rat heart following LPS challenge. *Toxicol Lett* 2001;123(1):1-10  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(01\)00369-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00369-1)
30. Tripathi A, Paliwal P, Krishnamurthy S. Piracetam attenuates LPS-induced neuroinflammation and cognitive impairment in rats. *Cell Mol Neurobiol* 2017;37(8):1373-86  
<https://doi.org/10.1007/s10571-017-0468-2>
31. Badalzadeh R, Yousefi B, Tajaddini A, Ahmadian N. Diosgenin-induced protection against myocardial ischaemia-reperfusion injury is mediated by mitochondrial KATP channels in a rat model. *Perfusion* 2015;30(7):565-71  
<https://doi.org/10.1177/0267659114566064>
32. Parama D, Boruah M, Yachna K, Rana V, Banik K, Harsha C, et al. Diosgenin, a steroidal saponin, and its analogs: Effective therapies against different chronic diseases. *Life Sci* 2020;260:118182  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118182>
33. Ahmed LA, Al Arqam ZO, Zaki HF, Agha AM. Role of oxidative stress, inflammation, nitric oxide and transforming growth factor-beta in the protective effect of diosgenin in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Eur J Pharmacol* 2014;740:379-87  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.026>
34. Tohda C, Lee Y-A, Goto Y, Nemere I. Corrigendum: Diosgenin-induced cognitive enhancement in normal mice is mediated by 1, 25D3-MARRS. *Sci Rep* 2015;5  
<https://doi.org/10.1038/srep12660>
35. Tohda C, Urano T, Umezaki M, Nemere I, Kuboyama T. Diosgenin is an exogenous activator of 1, 25D3-MARRS/Pdia3/ERp57 and improves Alzheimer's disease pathologies in 5XFAD mice. *Sci Rep* 2012;2(1):1-11  
<https://doi.org/10.1038/srep00535>
36. Cheng S-M, Ho Y-J, Yu S-H, Liu Y-F, Lin Y-Y, Huang C-Y, et al. Anti-apoptotic effects of diosgenin in D-galactose-induced aging brain. *Am J Chin Med* 2020;48(02):391-406  
<https://doi.org/10.1142/S0192415X20500202>
37. Som S, Antony J, Dhanabal S, Ponnusankar S. Neuroprotective role of Diosgenin, a NGF stimulator, against A $\beta$  (1-42) induced neurotoxicity in animal model of Alzheimer's disease. *Metab Brain Dis* 2022:1-14  
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-340454/v1>
38. Mahmoudi N, Kiasalari Z, Rahmani T, Sanaierad A, Afshin-Majd S, Naderi G, et al. Diosgenin attenuates cognitive impairment in streptozotocin-induced diabetic rats: underlying mechanisms. *Neuropsychobiology* 2021;80(1):25-35  
<https://doi.org/10.1159/000507398>
39. Khosravi Z, Sedaghat R, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Diosgenin ameliorates testicular damage in streptozotocin-diabetic rats through attenuation of apoptosis, oxidative stress, and inflammation. *Int Immunopharmacol* 2019;70:37-46  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.047>
40. Rostami A, Taleahmad F, Haddadzadeh-Niri N, Joneidi E, Afshin-Majd S, Baluchnejadmojarad T, et al. Sinomenine attenuates trimethyltin-induced cognitive decline via targeting hippocampal oxidative stress and neuroinflammation. *J Mol Neurosci* 2022;72(8):1609-21  
<https://doi.org/10.1007/s12031-022-02021-x>
41. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.

- Biochem Pharmacol 1961;7(2):88-95  
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
42. Tayanloo-Beik A, Kiasalari Z, Roghani M. Paconol ameliorates cognitive deficits in streptozotocin murine model of sporadic Alzheimer's disease via attenuation of oxidative stress, inflammation, and mitochondrial dysfunction. *J Mol Neurosci* 2022;72(2):336-48  
<https://doi.org/10.1007/s12031-021-01936-1>
43. Raoufi S, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Ghazanfari T, Khojasteh F, Mansouri M. Antidiabetic potential of salvianolic acid B in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes. *Pharm Biol* 2015;53(12):1803-9  
<https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1008148>
44. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25:192-205  
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)
45. Dantzer R, O'connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(1):46-56  
<https://doi.org/10.1038/nrn2297>
46. Salmani H, Hosseini M, Baghcheghi Y, Moradi-Marjaneh R, Mokhtari-Zaer A. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR- $\gamma$  activation. *Cytokine* 2020;125:154860  
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154860>
47. Mani V, Almutairi SR. Impact of levetiracetam on cognitive impairment, neuroinflammation, oxidative stress, and neuronal apoptosis caused by lipopolysaccharides in rats. *Saudi Pharm J* 2023;31(9):101728  
<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101728>
48. Bargi R, Asgharzadeh F, Beheshti F, Hosseini M, Sadeghnia HR, Khazaei M. The effects of thymoquinone on hippocampal cytokine level, brain oxidative stress status and memory deficits induced by lipopolysaccharide in rats. *Cytokine* 2017;96:173-84  
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.04.015>
49. Hakimi Z, Salmani H, Marefati N, Arab Z, Gholamnezhad Z, Beheshti F, et al. Protective effects of carvacrol on brain tissue inflammation and oxidative stress as well as learning and memory in lipopolysaccharide-challenged rats. *Neurotox Res* 2020;37(4):965-76  
<https://doi.org/10.1007/s12640-019-00144-5>
50. Skibska B, Kochan E, Stanczak A, Lipert A, Skibska A. Antioxidant and anti-inflammatory effects of  $\alpha$ -lipoic acid on lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat kidney. *Arch Immunol Ther Exp* 2023;71(1):16  
<https://doi.org/10.1007/s00005-023-00682-z>
51. Tohda C, Yang X, Matsui M, Inada Y, Kadomoto E, Nakada S, et al. Diosgenin-rich yam extract enhances cognitive function: A placebo-controlled, randomized, double-blind, crossover study of healthy adults. *Nutrients* 2017;9(10):1160  
<https://doi.org/10.3390/nu9101160>
52. Kang TH, Moon E, Hong BN, Choi SZ, Son M, Park J-H, et al. Diosgenin from *Dioscorea nipponica* ameliorates diabetic neuropathy by inducing nerve growth factor. *Biol Pharm Bull* 2011;34(9):1493-8  
<https://doi.org/10.1248/bpb.34.1493>
53. Koh E-K, Yun W-B, Kim J-E, Song S-H, Sung J-E, Lee H-A, et al. Beneficial effect of diosgenin as a stimulator of NGF on the brain with neuronal damage induced by A $\beta$ -42 accumulation and neurotoxicant injection. *Lab Anim Res* 2016;32(2):105-15  
<https://doi.org/10.5625/lar.2016.32.2.105>
54. Chiu C-S, Chiu Y-J, Wu L-Y, Lu T-C, Huang T-H, Hsieh M-T, et al. Diosgenin ameliorates cognition deficit and attenuates oxidative damage

- in senescent mice induced by D-galactose. *Am J Chin Med* 2011;39(03):551-63  
<https://doi.org/10.1142/S0192415X11009020>
55. Chiu C-S, Deng J-S, Hsieh M-T, Fan M-J, Lee M-M, Chueh F-S, et al. Yam (*Dioscorea pseudojaponica* Yamamoto) ameliorates cognition deficit and attenuates oxidative damage in senescent mice induced by D-galactose. *Am J Chin Med* 2009;37(05):889-902  
<https://doi.org/10.1142/S0192415X09007296>
56. Park D, Joo SS, Kim TK, Lee SH, Kang H, Lee HJ, et al. Human neural stem cells overexpressing choline acetyltransferase restore cognitive function of kainic acid-induced learning and memory deficit animals. *SAGE J.* 2012  
<https://doi.org/10.3727/096368911X586765>
57. Kar S, Slowikowski SP, Westaway D, Mount HT. Interactions between  $\beta$ -amyloid and central cholinergic neurons: implications for Alzheimer's disease. *J Psychiatry Neurosci* 2004;29(6):427-41
58. Nakdook W, Khongsombat O, Taepavaraprak P, Taepavaraprak N, Ingkaninan K. The effects of *Tabernaemontana divaricata* root extract on amyloid  $\beta$ -peptide 25-35 peptides induced cognitive deficits in mice. *J Ethnopharmacol* 2010;130(1):122-6  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.027>
59. Ghayur MN, Kazim SF, Rasheed H, Khalid A, Jumani MI, Choudhary MI, et al. Identification of antiplatelet and acetylcholinesterase inhibitory constituents in betel nut. *Zhong xi yi jie he xue bao= Chin J Integr Med* 2011;9(6):619-25  
<https://doi.org/10.3736/jcim20110607>
60. Abareshi A, Hosseini M, Beheshti F, Norouzi F, Khazaei M, Sadeghnia HR, et al. The effects of captopril on lipopolysaccharide induced learning and memory impairments and the brain cytokine levels and oxidative damage in rats. *Life Sci* 2016;167:46-56.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.10.026>
61. Zhang X-Y, Cao J-B, Zhang L-M, Li Y-F, Mi W-D. Deferoxamine attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment in mice. *J Neuroinflammation* 2015;12(1):1-13  
<https://doi.org/10.1186/s12974-015-0238-3>
62. Abolaji AO, Ojo M, Afolabi TT, Arowoogun MD, Nwawolor D, Farombi EO. Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chem Biol Interact* 2017;270:15-23  
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.03.017>
63. Leng J, Li X, Tian H, Liu C, Guo Y, Zhang S, et al. Neuroprotective effect of diosgenin in a mouse model of diabetic peripheral neuropathy involves the Nrf2/HO-1 pathway. *BMC Complement Med Ther* 2020;20(1):1-9  
<https://doi.org/10.1186/s12906-020-02930-7>
64. Ahadi R, Nezhad AM, Tabatabaei FSA, Soleimani M, Hajisoltani R. The neuroprotective effect of Diosgenin in the rat Valproic acid model of autism. *Brain Res* 2024;1838:148963  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.148963>
65. Salehi B, Sharifi-Rad J, Capanoglu E, Adrar N, Catalkaya G, Shaheen S, et al. Cucurbita plants: from farm to industry. *Appl Sci* 2019;9(16):3387  
<https://doi.org/10.3390/app9163387>
66. Ben-Azu B, Adebayo OG, Fokoua AR, Oritsemuelebi B, Chidebe EO, Nwoguzue CB, et al. Antipsychotic effect of diosgenin in ketamine-induced murine model of schizophrenia: Involvement of oxidative stress and cholinergic transmission. *IBRO NEUROSCI REP* 2024;16:86-97  
<https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2023.12.008>
67. Norden DM, Trojanowski PJ, Villanueva E, Navarro E, Godbout JP. Sequential activation of microglia and astrocyte cytokine expression precedes increased Iba-1 or GFAP immunoreactivity following systemic immune

- challenge. *Glia* 2016;64(2):300-16  
<https://doi.org/10.1002/glia.22930>
68. Lawson MA, McCusker RH, Kelley KW. Interleukin-1 beta converting enzyme is necessary for development of depression-like behavior following intracerebroventricular administration of lipopolysaccharide to mice. *J Neuroinflammation* 2013;10(1):1-12 <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-54>
69. McGeer PL. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors. *Drugs Aging* 2000;17(1):1-11  
<https://doi.org/10.2165/00002512-200017010-00001>
70. Mao X, Kelty TJ, Kerr NR, Childs TE, Roberts MD, Booth FW. Creatine supplementation upregulates mTORC1 signaling and markers of synaptic plasticity in the dentate gyrus while ameliorating LPS-induced cognitive impairment in female rats. *Nutrients* 2021;13(8):2758  
<https://doi.org/10.3390/nu13082758>
71. Liu L-r, Liu J-c, Bao J-s, Bai Q-q, Wang G-q. Interaction of microglia and astrocytes in the neurovascular unit. *Front Immunol* 2020;11:1024  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01024>
72. Binesh A, Devaraj SN, Halagowder D. Atherogenic diet induced lipid accumulation induced NFκB level in heart, liver and brain of Wistar rat and diosgenin as an anti-inflammatory agent. *Life Sci* 2018;196:28-37  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.01.012>
73. Tambe R, Jain P, Patil S, Ghumatkar P, Sathaye S. Protective effects of diosgenin in pentylenetetrazole induced kindling model of epilepsy in mice. *Neurochem Neuropharmacol* 2015;1(106):2 <https://doi.org/10.4172/2469-9780.1000106>
74. Ghasemi Z, Kiasalari Z, Ebrahimi F, Ansari F, Sharayeli M, Roghani M. Neuroprotective effect of diosgenin in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in the rat. *Daneshvar Med* 2017;25(2):87-98
75. Cai B, Seong K-J, Bae S-W, Chun C, Kim W-J, Jung J-Y. A synthetic diosgenin primary amine derivative attenuates LPS-stimulated inflammation via inhibition of NF-κB and JNK MAPK signaling in microglial BV2 cells. *Int Immunopharmacol* 2018;61:204-14  
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.05.021>
76. Zhang X, Xue X, Zhao J, Qian C, Guo Z, Ito Y, et al. Diosgenin attenuates the brain injury induced by transient focal cerebral ischemia-reperfusion in rats. *Steroids* 2016;113:103-12  
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.07.006>



## THE EFFECT OF DIOSGENIN ON COGNITIVE DEFICITS AND OXIDATIVE STRESS INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE IN RATS

Zahra Tavakoli<sup>1</sup>, Mahdieh Taheri<sup>2</sup>, Mehrdad Roghani<sup>3</sup>

Received: 09 October, 2024; Accepted: 03 December, 2024

### Abstract

**Background & Aims:** Neuroinflammation has been reported as a key factor in the neuropathogenesis of cognitive disorders. Diosgenin, a steroidal sapogenin found in fenugreek, exhibits anti-inflammatory, anti-Alzheimer's, and antioxidant effects. The aim of this study was to evaluate the effect of Diosgenin on cognitive deficits, cholinesterase activity, and astrogliosis following neuroinflammation induction in rats.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 32 rats were randomly divided into four groups: Control, Control with Diosgenin treatment, Lipopolysaccharide (LPS), and LPS with Diosgenin treatment. Rats in the treatment groups received 40 mg/kg of Diosgenin daily for seven days orally. To induce neuroinflammation, lipopolysaccharide (1 mg/kg dissolved in normal saline) was injected intraperitoneally one hour before Diosgenin administration. Learning and memory were assessed using passive avoidance tasks. After preparing homogenized hippocampal tissue, molecular parameters were evaluated. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test, with  $p < 0.05$  considered statistically significant.

**Results:** Step-through latency was significantly increased in the LPS+Diosgenin group compared to the LPS group ( $P < 0.01$ ). Decreased acetylcholinesterase (AChE) activity ( $P < 0.05$ ) and increased catalase (CAT) activity ( $P < 0.05$ ), along with reduced GFAP ( $P < 0.05$ ) and malondialdehyde (MDA) levels ( $P < 0.01$ ), were observed in the LPS+Diosgenin group compared to the LPS group. A significant reduction in glutathione (GSH) levels ( $P < 0.05$ ) was noted in the LPS+Diosgenin group compared to the Control group. No significant differences were observed between the Diosgenin-treated Control group and the untreated Control group ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** These findings suggest that Diosgenin is a memory-enhancing compound with antioxidant properties and has potential therapeutic applications in the treatment of various disorders, including neuroinflammation and leukemia, in the future.

**Keywords:** Diosgenin, Lipopolysaccharide, Astrogliosis, Oxidative stress, Memory, Cognitive disorder

**Address:** Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

**Tel:** +982188964792

**Email:** mroghani@shahed.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(7): 620 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

<sup>1</sup> PhD in General Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> PhD in Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran (Corresponding Author)