● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ودوم، شمارهٔ ۲، ص ۱۵۴-۱۴۴، ۱۳۹۴

مقالهٔ پژوهشی

# اثر استیل ال‌کارنیتین بر اختلال یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت

جمشید نارنجکار[۱]، مهرداد روغنی[۲*]، آیدا ایمانی[۳]، ایمان انصاری[۳]

**خلاصه**

**مقدمه:** دیابت شیرین از جمله اختلالات مزمن متابولیک است که در درازمدت با اختلال یادگیری، حافظه و اعمال شناخت همراه می‌باشد. با توجه به شواهد موجود مبنی بر تأثیر ضد دیابتی و حفاظت عصبی استیل ال‌کارنیتین، در این تحقیق اثر تجویز درازمدت این ماده بر یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت مورد بررسی قرار گرفت.

**روش:** در مطالعه تجربی حاضر ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به چهار گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین، مبتلا به دیابت و مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین تقسیم شدند. استیل ال‌کارنیتین به صورت تزریق داخل صفاقی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از روز هفتم پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۵ هفته ادامه یافت. برای ابتلای حیوانات به دیابت از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی استفاده شد. برای ارزیابی یادگیری و حافظه حیوانات، تأخیر اولیه و تأخیر در ورود به منطقه تاریک در آزمون اجتنابی غیر فعال و درصد رفتار تناوب به عنوان شاخص حافظه فضایی با استفاده از آزمون Y-maze تعیین گردید. علاوه بر این، در پایان کار میزان مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde یا MDA) مغز به عنوان یک شاخص استرس اکسیداتیو تعیین شد.

**یافته‌ها:** در نهایت کاهش معنی‌دار تأخیر در ورود به منطقه تاریک در موش‌های مبتلا به دیابت مشاهده گردید و این شاخص در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین بیشتر از گروه مبتلا به دیابت بود. علاوه بر این، درصد تناوب در حیوانات مبتلا به دیابت به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد به دست آمد و این شاخص در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت نشان داد. تجویز استیل ال‌کارنیتین به حیوانات گروه شاهد تغییر معنی‌داری از نظر یادگیری و حافظه به وجود نیاورد. همچنین کاهش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدئید مغز در گروه مبتلا به دیابت تیمار شده در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** تجویز درازمدت استیل ال‌کارنیتین با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوری آن‌ها در حیوانات مبتلا به دیابت در آزمون اجتنابی غیر فعال و موجب بهبود حافظه فضایی کوتاه‌مدت از نوع بازشناختی در حیوانات مبتلا به دیابت می‌گردد و بخشی از این اثرات از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در بافت مغز به انجام می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** استیل ال‌کارنیتین، دیابت شیرین، یادگیری، حافظه، استرپتوزوتوسین

۱- دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران ۲- استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران ۳-دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۸/۳ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۲/۱۹ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۳/۳۱

**مقدمه**

دیابت شیرین یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای اختلالاتی مانند نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی- عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). مشخص شده است که بروز دیابت یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در ایجاد زوال عقل در پیری می‌باشد که خود از علایم ظاهر شده بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد (۲، ۱). دیابت شیرین به ویژه دیابت نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در حیوانات مبتلا می‌گردد (۳). همچنین موجب کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS یا Nitric oxide synthase) نورونی در ناحیه هیپوکامپ (که نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی، روندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند) می‌شود (۵، ۴). هرچند که در حال حاضر درمان اصلی و مؤثر برای دیابت شیرین استفاده از انسولین و عوامل هیپوگلیسیمیک می‌باشد، اما این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعددی همچون افزایش ذخایر چربی، تحلیل رفتن بافت چربی در محل تزریق و بروز شوک هیپوگلیسیمیک می‌باشد و در درازمدت بر روند ایجاد عوارض ناتوان کننده دیابت تأثیر ندارد (۶).

استیل ال‌کارنیتین یک ترکیب آمینواسیدی مشتق از لیزین و متیونین است که در مغز، کبد و کلیه انسان توسط آنزیم استیل ال‌کارنیتین ترانسفراز ساخته می‌شود. این ماده از نظر ساختمانی مشابه استیل‌کولین است و اثر کولینرژیکی دارد. مطالعات نشان داده است که استیل ال‌کارنیتین ممکن است در درمان زوال ناشی از آلزایمر، افسردگی در افراد مسن، عفونت HIV (Human immunodeficiency virus)، نوروپاتی‌های محیطی، ایسکمی و خون‌رسانی مجدد مغز و اختلالات شناختی ناشی از شرایط مختلف مفید باشد (۱۲-۷). اگرچه در حال حاضر مکانیسم دقیق عمل استیل ال‌کارنیتین ناشناخته است، اما تحقیقات نشان می دهد که ممکن است به انتقال عصبی کولینرژیک و نیز توانایی آن در افزایش متابولیسم میتوکندریایی نورون‌ها مرتبط باشد (۱۱). همچنین استیل ال‌کارنیتین استرس اکسیداتیو را کاهش داده، تحریکات سمی را در بافت مغز و مایع مغزی- نخاعی مهار می‌کند (۱۱). مطالعات متعدد اثر استیل ال‌کارنیتین را در بهبود کارکرد شناختی بیماران مبتلا به آلزایمر نشان داده است (۱۰، ۹) و از این‌رو تصمیم گرفته شد که اثر این ماده بر اختلالات یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت مورد ارزیابی قرار گیرد.

**روش بررسی**

در مطالعه تجربی حاضر از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که میزان گلوکز سرم آن‌ها در شرایط طبیعی غیر ناشتا کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود، استفاده شد (۱۳). شرایط نگهداری برای همه موش‌ها یکسان و استاندارد (دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد، سیکل تاریکی- روشنایی ۱۲ ساعته و رطوبت ۴۰-۳۰ درصد، قفس‌های مخصوص و بر روی بستری از پوشال) در نظر گرفته شد. حیوانات در طول مدت بررسی به آب و غذای مخصوص موش دسترسی آزادانه داشتند. پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها صورت گرفت.

موش‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه «شاهد، شاهد تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین، مبتلا به دیابت و مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین» تقسیم شدند. برای ابتلای موش‌ها به دیابت از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما آلدریچ، آلمان) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. برای اطمینان از ابتلای حیوانات به دیابت یک هفته پس از تزریق، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) کنترل

گردید. فقط حیوانات مبتلا به دیابت با میزان قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و با در نظر گرفتن برابری آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار، برای شروع تیمار به مرحله بعدی راه یافتند (۱۳). مقادیر گلوکز سرم با استفاده از گلوکومتر در هفته قبل از شروع کار و در پایان هفته‌های ۳ و ۶ اندازه‌گیری شد. استیل ال‌کارنیتین (سیگما، آمریکا) در محلول سالین فیزیولوژیک به فرم داخل صفاقی به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوانات یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین و به مدت ۵ هفته و به طور روزانه تجویز گردید (۱۱).

**آزمون رفتار احترازی غیر فعال (۱۱)**

برای بررسی رفتار احترازی غیر فعال از یک دستگاه به ابعاد ۲۰ × ۸۰ × ۲۰ سانتی‌متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان مورد استفاده قرار گرفت. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور تک تحریکی به شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۱ ثانیه اعمال گردید. روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

الف. سازش: در این مرحله قبل از شروع آزمایش، هر حیوان حداقل به مدت ۱۰ دقیقه برای ۲ روز متوالی در داخل دستگاه قرار داده شد.

ب. اکتساب: در این مرحله (روز سوم) حیوان در محفظه روشن و سپس به مدت ۲ دقیقه در محفظه تاریک نگه داشته شد. در این مدت در گیوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک به طور کامل بسته بود. در انتهای دوره لامپ محفظه روشن شده و در گیوتینی باز گردید. به محض باز کردن در، کورنومتر را به کار انداخته و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت شد که این مدت زمان تحت عنوان تأخیر اولیه (Initial Latency: IL) اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده بین دو محفظه بود). سپس در را پایین آورده و یک تک شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل گردید. در این مرحله موش‌های با تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش حذف شدند.

ج. نگهداری و به یادآوری اطلاعات: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم (در روز چهارم) انجام پذیرفت و مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد هیچ گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تأخیر در ورود به منطقه تاریک یا STL (Step through latency) اندازه‌گیری شد. منظور از STL مدت زمانی بود که حیوان قبل از آن‌که وارد محفظه تاریک شود، در محفظه روشن باقی می‌ماند.

**آزمون Y-maze**

این آزمون ۳-۲ روز قبل از آزمون رفتار احترازی انجام شد (۱۱). در این ارتباط میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه‌گیری کردن رفتار تناوب خودبه‌خودی حیوان در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. Maze مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس و هر بازو دارای ابعاد ۴۰ × ۳۰ × ۱۵ سانتی‌متر بود که از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می‌گردید. برای انجام آزمون، هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار می‌گرفت و در یک بازه زمانی ۸ دقیقه به تمام نواحی Maze امکان دسترسی آزاد داشت. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت می‌گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو زمانی بود که پاهای عقبی او به طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و

پشت سر هم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب [(۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده) × ۱۰۰] محاسبه گردید.

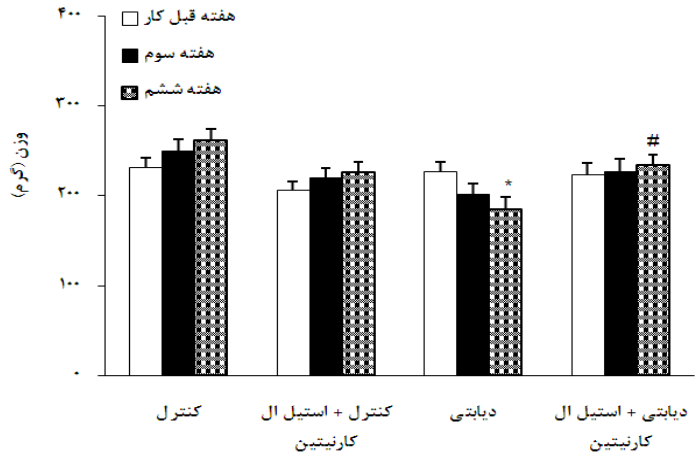
**سنجش مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde یا MDA)**

پس از پایان کار و کشتن حیوانات، بافت مغز از بدن جدا شده و پس از شستشو با محلول سالین سرد به همراه بافر Tris به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA, Germany) با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه (۱۰ درصد) و سپس سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش زیرین رسوب کرده دور ریخته شد و محلول شفاف رویی برای سنجش مورد استفاده قرار گرفت (۱۱). اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید با استفاده از کیت (سیگما، آمریکا) بر پایه روشی بر اساس واکنش تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid یا TBA) بود و در آب جوش انجام گرفت. برای محلول استاندارد نیز از رقت‌های مختلف تترااتوکسی پروپان استفاده شد.

همه نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، جهت مقایسه نتایج وزن و گلوکز سرم در زمان‌های مختلف از آزمون ANOVA با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی از آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## نتایج

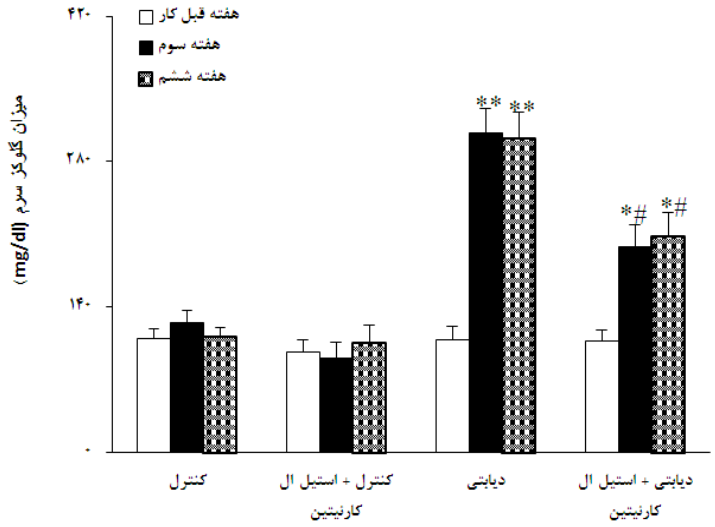
وزن موش‌ها در گروه مبتلا به دیابت در هفته سوم نسبت به هفته قبل از شروع کار به میزان ۱۱/۱ درصد کاهش یافت، اما این کاهش در هفته ششم ۱۸/۵ درصد نسبت به هفته قبل از شروع کار مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). وزن موش‌ها در گروه مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین در هفته سوم و ششم نسبت به هفته قبل از شروع کار افزایش نشان داد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در همین گروه میزان وزن در هفته ششم در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت در همین هفته ۲۶/۴ درصد افزایش داشت که از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۱).




**شکل ۱.** *تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی گروه شاهد و مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین*

*$P < ۰/۰۵$ در مقایسه با سطح پایه در همان گروه؛ #$P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت در همان هفته

میزان گلوکز سرم در گروه مبتلا به دیابت در هفته سوم و ششم به ترتیب افزایش بارز و معنی‌دار ۱۸۲/۳ و ۱۷۶/۸ درصد نسبت به هفته قبل از شروع کار داشت ($P < ۰/۰۵$). حال آن‌که میزان افزایش گلوکز سرم در گروه مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین در هفته‌های سوم و ششم نسبت به هفته قبل از شروع کار به ترتیب ۸۵/۱ و ۹۴/۳ درصد بود که هر دو نیز از نظر آماری معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۱$). در ضمن گلوکز این گروه در هفته سوم و ششم نسبت به گروه مبتلا به دیابت در همین هفته‌ها کاهش معنی‌داری به ترتیب به میزان ۳۵/۷ و ۳۱/۱ درصد نشان داد ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۲).

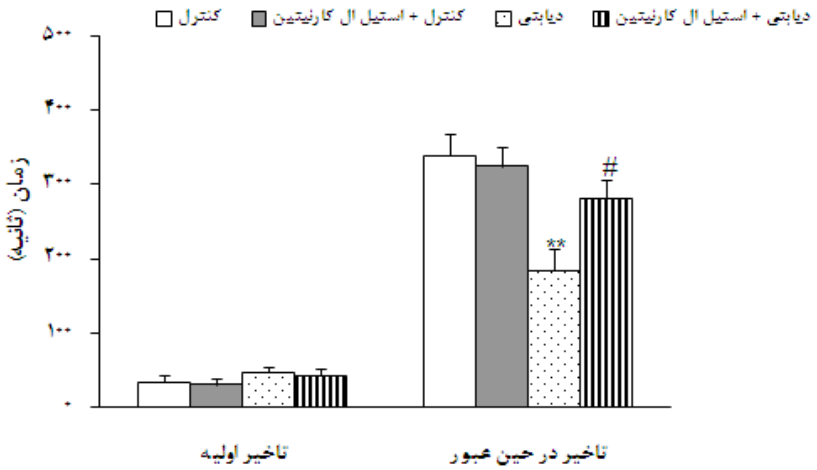



**شکل ۲.** *تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی گروه شاهد و گروه مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین*

*$P < ۰/۰۱$ و **$P < ۰/۰۵$ در مقایسه با سطح پایه در همان گروه؛ #$P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت در همان

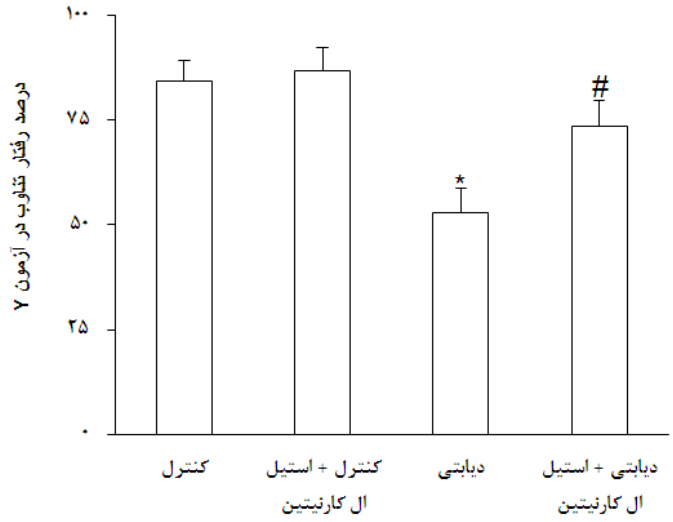
از نظر تأخیر اولیه هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مبتلا به دیابت و مبتلا به دیابت تحت تیمار مشاهده نشد. کاهش معنی‌دار ۴۵/۷ درصدی تأخیر در ورود به منطقه تاریک در موش‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه شاهد در پایان کار مشاهده گردید ($P < ۰/۰۱$)؛ هر چند این کاهش به طور غیر معنی‌دار در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار نیز وجود داشت. همچنین تأخیر در حین عبور موش‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین در مقایسه با گروه تحت تیمار افزایش معنی‌دار ۵۲/۷ درصدی داشت ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۳).

نتایج آزمون Y-maze که شاخصی از حافظه فضایی کوتاه‌مدت از نوع بازشناختی (Recognition) در جوندگانی مانند موش صحرایی است (شکل ۴)، نشان داد که درصد رفتار تناوب در حیوانات مبتلا به دیابت به طور معنی‌دار و به میزان ۳۷/۲ درصد نسبت به گروه شاهد کمتر است ($P < ۰/۰۵$)، اما در گروه‌های شاهد تحت تیمار و مبتلا به دیابت تحت تیمار تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد وجود داشت. درصد تناوب در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت افزایش معنی‌داری به میزان ۳۸/۶ درصد نشان داد ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۴).




**شکل ۳.** *میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرایی گروه شاهد و مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین پس از گذشت شش هفته*

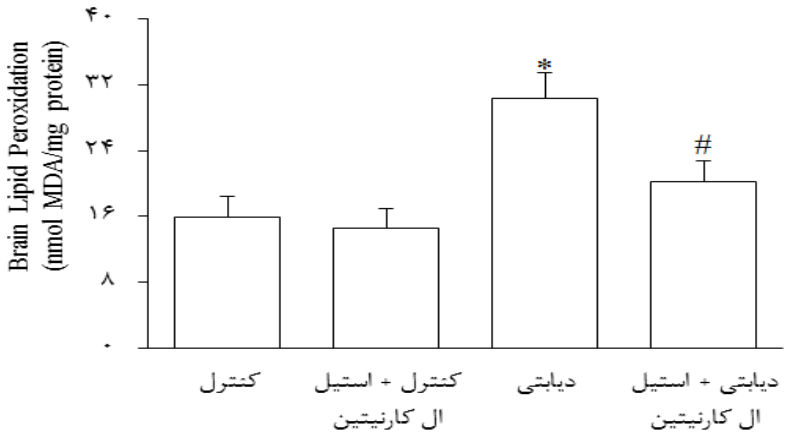
**P < ۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد؛ #P < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت




**شکل ٤.** *میزان درصد تناوب در آزمون Y-maze در موش‌های صحرایی گروه شاهد و مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین پس از گذشت شش هفته*

*P < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد؛ #P < ۰/۰۵ در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت

با اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید (که شاخصی از استرس اکسیداتیو می‌باشد)، در گروه‌های مختلف در پایان هفته ششم مشخص شد که سطح مالون دی‌آلدئید در گروه مبتلا به دیابت در هفته ششم افزایش قابل ملاحظه و معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت (P < ۰/۰۱) و این افزایش در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین نسبت به گروه مبتلا به دیابت کمتر بود. به علاوه، سطح مالون دی‌آلدئید در گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با استیل ال‌کارنیتین در هفته ششم به طور معنی‌داری کمتر از گروه مبتلا به دیابت بود (P < ۰/۰۵) (شکل ۵).




**شکل ۵.** *میزان مالون دی‌آلدئید در موش‌های صحرایی گروه شاهد و مبتلا به دیابت تیمار شده با استیل ال‌کارنیتین پس از گذشت شش هفته*

*$P < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد؛ # $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت

**بحث**

در مطالعه‌ای مشخص شده است که به دنبال القای دیابت شیرین در حیوانات آزمایشگاهی مانند موش صحرایی و همچنین در جوامع انسانی، اختلالاتی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری رخ می‌دهد که این موضوع با آتروفی (تحلیل رفتن) مغز و افزایش احتمال ابتلا به زوال نیز همراه می‌باشد (۱۴). هر چند که مکانیسم بروز این اختلالات در افراد مبتلا به دیابت به خوبی شناخته شده نیست، ولی مشخص گردیده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ -که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند- به میزان زیادی به دنبال ابتلای به دیابت تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱۵). در این ارتباط بروز دیابت شیرین موجب تشدید استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی از جمله هیپوکامپ می‌گردد (۱۶، ۱۵). همچنین سطح شاخص‌های رشد شبه انسولین و شاخص نوروتروفیک مشتق از مغز در برخی نواحی مغز کاهش می‌یابد (۱۷، ۱۶).

نتایج تحقیقات قبلی کاهش توانایی حیوانات مبتلا به دیابت را در ارتباط با تثبیت و به یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش نموده‌اند (۱۸) که همین نتیجه در بررسی حاضر نیز به دست آمد. بر اساس شواهد موجود، تغییرات حاصل شده در این توانایی‌ها را می‌توان به تغییرات پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلال در روند تقویت درازمدت نسبت داد. البته شایان ذکر است که هرچند این تغییرات بیشتر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند، ولی بر اساس شواهد تحقیقاتی جدید در فراگیری مهارت‌های جدید و پیچیده نیز به میزان کمتری می‌توانند نقش داشته باشند (۱۹).

در مطالعه حاضر تجویز درازمدت و داخل صفاقی استیل ال‌کارنیتین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود یادگیری و حافظه در آزمون احترازی غیر فعال شد و همچنین بهبود حافظه فضایی را در آزمون Y-maze به دنبال داشت که خود را به صورت افزایش درصد تناوب در حیوانات مبتلا به دیابت تحت تیمار نشان داد. در همین ارتباط مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی موجب افزایش مقاومت نورون‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو گردند و از طرفی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند (۱۸). همین مکانیسم شاید بتواند در مورد اثرات حفاظتی استیل ال‌کارنیتین در مدل دیابت القا

شده توسط استرپتوزوتوسین و اختلالات یادگیری و حافظه در این بررسی هم مطرح شود. در این ارتباط مشخص شده است که اتوفاژی و آپوپتوز نورونی در دیابت شیرین و در برخی نواحی مغز در درازمدت افزایش می‌یابد و ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در جهت کاهش اتوفاژی و مرگ نورونی عمل نمایند (۲۰). در تأیید این مطلب مطالعه Annadurai و همکاران نشان داد که استیل ال‌کارنیتین قادر به پیشگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن در موش‌های صحرایی می‌باشد که از این نظر مشابه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ویتامین E عمل می‌نماید (۲۱).

به علاوه، احتمال دارد بخشی از اثر سودمند استیل ال‌کارنیتین را بتوان به خاصیت نوروپروتکتیو آن در جلوگیری از آسیب نورون‌های هیپوکامپ به دنبال تزریق استرپتوزوتوسین نسبت داد (۲۲). در این رابطه اثرات محافظت نورونی این ماده پیش‌تر توسط Hota و همکاران در مدل تجربی هیپوکسی القا شده مورد تأیید قرار گرفته بود (۲۲). همچنین مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از بروز اختلال عملکردی سیتوکروم اکسیداز جلوگیری نموده و سطح ترکیبات فسفات‌دار پرانرژی و نیتریک اکسید را در نواحی مختلف مغز به ویژه ناحیه هیپوکامپ کاهش دهند که این موجب کاهش شدت آسیب نورونی به دنبال تزریق مواد نوروتوکسیک مانند استرپتوزوتوسین می‌گردد. در نتیجه تغییرات پلاستیسیته کمتری در ناحیه هیپوکامپ رخ می‌دهد و این امر می‌تواند سبب بهبود یادگیری و حافظه فضایی شود (۱۸). علاوه بر این، در بیماری دیابت شیرین کاهش فعالیت سیستم کولینرژیک مشاهده می‌شود (۱۷) و استیل ال‌کارنیتین از طریق تقویت این سیستم می‌تواند موجب بهبود یادگیری و حافظه گردد. در همین رابطه، نتایج مطالعه Kobayashi و همکاران نشان داد که استیل ال‌کارنیتین از طریق تشدید فعالیت سیستم کولینرژیک و بهبود متابولیسم واسطه‌های عصبی، موجب بهبود حافظه و یادگیری و عملکرد سیناپسی در موش‌های صحرایی سالخورده می‌شود (۲۳).

## نتیجه‌گیری

تجویز استیل ال‌کارنیتین به موش‌های مبتلا شده به دیابت با استرپتوزوتوسین موجب بهبود نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوری آن‌ها در حیوانات مبتلا به دیابت در آزمون اجتنابی غیر فعال می‌شود و بهبود حافظه فضایی کوتاه‌مدت از نوع بازشناختی در حیوانات مبتلا به دیابت را به دنبال دارد و بخشی از این اثرات از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در بافت مغز به انجام می‌رسد.

## سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجویی مصوب دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۰ می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از خانم‌ها فریبا انصاری و مریم شرایلی در کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

## References


1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12(7): RA130-RA147.
2. Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. Neurosci Lett 2000; 293(2): 91-4.
3. Biessels GJ, Smale S, Duis SE, Kamal A, Gispen WH. The effect of gamma-linolenic acid-alpha-lipoic acid on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. J Neurol Sci 2001; 182(2): 99-106.
4. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. Life Sci 2003; 73(15): 1907-16.
5. Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plasticity. Neuroreport 2002; 13(14): 1801-4.
6. Williams R, Tuomilehto J, Bjork S. The economics of diabetes care: An international perspective. In: Songer TJ, editor. Assessing direct and indirect cost of diabetes.London, UK: Blackwell Science; 2000.
7. Thal LJ, Calvani M, Amato A, Carta A. A 1-year controlled trial of acetyl-l-carnitine in early-onset AD. Neurology 2000; 55(6): 805-10.
8. Famularo G, Moretti S, Alesse E, Trinchieri V, Angelucci A, Santini G, et al. Reduction of glutamate levels in HIV-infected subjects treated with acetylcarnitine. J NeuroAIDS 1999; 2(2): 65-73.
9. Sano M, Bell K, Cote L, Dooneief G, Lawton A, Legler L, et al. Double-blind parallel design pilot study of acetyl levocarnitine in patients with Alzheimer's disease. Arch Neurol 1992; 49(11): 1137-41.
10. Rai G, Wright G, Scott L, Beston B, Rest J, Exton-Smith AN. Double-blind, placebo controlled study of acetyl-l-carnitine in patients with Alzheimer's dementia. Curr Med Res Opin 1990; 11(10): 638-47.
11. Ayazi N, Khalili M. The effect of acetyl L carnitine on learning and memory deficit in kainite epileptic rats [Thesis]. Tehran, Iran: Shahed University; 2011. [In Persian].
12. Goo MJ, Choi SM, Kim SH, Ahn BO. Protective effects of acetyl-L-carnitine on neurodegenarative changes in chronic cerebral ischemia models and learning-memory impairment in aged rats. Arch Pharm Res 2012; 35(1): 145-54.
13. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Antinociceptive effect of Teucrium polium leaf extract in the diabetic rat formalin test. J Ethnopharmacol 2005; 97(2): 207-10.
14. Liu Y, Tian X, Gou L, Sun L, Ling X, Yin X. Luteolin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. Brain Res Bull 2013; 94: 23-9.
15. Alipour M, Salehi I, Ghadiri SF. Effect of exercise on diabetes-induced oxidative stress in the rat hippocampus. Iran Red Crescent Med J 2012; 14(4): 222-8. [In Persian].

16. Zhen YF, Zhang J, Liu XY, Fang H, Tian LB, Zhou DH, et al. Low BDNF is associated with cognitive deficits in patients with type 2 diabetes. Psychopharmacology (Berl) 2013; 227(1): 93-100.

17. Zhao Q, Matsumoto K, Tsuneyama K, Tanaka K, Li F, Shibahara N, et al. Diabetes-induced central cholinergic neuronal loss and cognitive deficit are attenuated by tacrine and a Chinese herbal prescription, kangen-karyu: elucidation in type 2 diabetes db/db mice. J Pharmacol Sci 2011; 117(4): 230-42.

18. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. Eur J Pharmacol 2006; 537(1-3): 106-10.

19. Sasaki-Hamada S, Sacai H, Oka JI. Diabetes onset influences hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-treated rats. Neuroscience 2012; 227: 293-304.

20. Zhang T, Liu X, Li Q, Wang J, Jia W, Sun X. Exacerbation of ischemia-induced amyloid-beta generation by diabetes is associated with autophagy activation in mice brain. Neurosci Lett 2010; 479(3): 215-20.

21. Annadurai T, Vigneshwari S, Thirukumaran R, Thomas PA, Geraldine P. Acetyl-L-carnitine prevents carbon tetrachloride-induced oxidative stress in various tissues of Wistar rats. J Physiol Biochem 2011; 67(4): 519-30.

22. Hota KB, Hota SK, Chaurasia OP, Singh SB. Acetyl-L-carnitine-mediated neuroprotection during hypoxia is attributed to ERK1/2-Nrf2-regulated mitochondrial biosynthesis. Hippocampus 2012; 22(4): 723-36.

23. Kobayashi S, Iwamoto M, Kon K, Waki H, Ando S, Tanaka Y. Acetyl-L-carnitine improves aged brain function. Geriatr Gerontol Int 2010; 10(Suppl 1): S99-106.

# The Effect of Acetyl-L-Carnitine on Learning and Spatial Memory Deficit in Diabetic Rats

**Jamshid Narenjkar, Ph.D.[1], Mehrdad Roghani, Ph.D.[2*], Aida Imani[3], Iman Ansari[3]**

1. Associate Professor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Professor, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
3. Student of Medicine, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author; e-mail: mehjour@yahoo.com

(Received: 25 Oct. 2013 Accepted: 21 June 2014)

## Abstract

**Background & Aims:** Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder that in the long-term is accompanied with deficits in learning, memory, and cognitive skills. Due to the existing evidence regarding the anti-diabetic potential of acetyl-L-carnitine (ALC), the effect of its long-term administration on learning and spatial memory deficits was investigated in diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups: control, ALC-treated control, diabetic, and ALC-treated diabetic. ALC was injected IP at a dose of 50 mg/kg for 5 weeks after 7th day and for induction of diabetes streptozotocin was injected intraperitoneally (IP) at a single dose of 60 mg/kg. For evaluation of learning and memory, initial latency (IL) and step-through latency (STL) were determined at the end of the study using the passive avoidance test. Moreover, alternation behavior percentage, as an index of spatial memory, was obtained using Y-maze. In addition, brain malondialdehyde (MDA) level, as a marker of oxidative stress, was evaluated.

**Results:** At the end of the study, a significant decrease was observed in STL in diabetic groups. Moreover, STL was significantly higher in the ALC-treated diabetic group than the diabetic group. Furthermore, alternation behavior percentage in both diabetic groups was lower than the control group. This parameter showed a significant increase in the ALC-treated diabetic group in comparison with the diabetic group. Administration of ALC to animals did not produce any significant changes in memory and learning in the treated control group. In addition, brain malondialdehyde level was significantly lower in the ALC-treated diabetic group than the diabetic group.

**Conclusion:** Long-term administration of ALC at a dose of 50 mg/kg increases the ability to save information in the memory reservoir and remember in passive avoidance test, and enhances short-term spatial recognition memory in diabetic animals. This is in part due to the attenuation of brain oxidative stress.

**Keywords:** Acetyl-L-carnitine (ALC), Diabetes mellitus, Learning, Memory, Streptozotocin

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(2): 144-154