Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 31, No. 4, Winter 2022 ORIGINAL ARTICLE

Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus

***Nida Jamali-Raeufy*[1], *Motahareh Zeinivand*[2], *Fahimeh Alizadeh*[3], *Soraya Mehrabi*[4]**

[1] *Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[2]*Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran*

[3]*MSc, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[4] *Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]

[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

Abstract

Background: The brain in exposure to irritating factors may lead to production of some chemical factors and proinflammatory cytokines and neuroinflammation. Over time, the chronic neuroinflammation will cause some cognitive disorders and neurodegenerative diseases. The present study studied the effect of acetyl L - carnitine on cognitive and cellular disorders derived from lipopolysaccharide (LPS)- induced inflammation, with emphasis on cellular pathways in the hippocampus of male rat.

Materials and methods: In this study, we used LPS with dose of 500 µg/kg of animal's weight regarding to the previous studies. Acetyl L carnitine was prescribed with three doses of 30, 60 and 100 mg/kg among rats received LPS. Passive avoidance behavior was used to assess learning and memory, and biochemical and molecular methods were used for mTOR, p-AKT, and inflammatory factors.

Results: Acetyl L carnitine improved passive avoidance memory as well as working memory in a dose-dependent manner. It also prevented the death of hippocampal neurons by inhibiting neuroinflammation by reducing the expression of IL-6 and IL-1B and increasing the levels of mTOR and AKT-p.

Conclusion: The present study showed that acetyl L-carnitine can reduce the destructive effects of lipopolysaccharide, which appears to be through increased levels of mTOR and AKT.

Keywords: *Neuroinflammation, Lipopolysaccharide (LPS), Memory, Acetyl L carnitine.*

Cited as: Jamali-Raeufy N, Zeinivand M, Alizadeh F, Mehrabi S. Study on the effect of acetyl L-carnitine on cognitive and cellular disorders resulting from lipopolysaccharide-induced inflammation in male rats: emphasis on AKT / mTOR cell pathways and inflammation in the hippocampus. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 31(4): **397-405.**

Correspondence to: Nida Jamali-Raeufy
Tel: *+98 88622709-021*
E-mail: jamali.n@iums.ac.ir
ORCID ID: 0000-0003-2416-0335
Received: 15 May 2021; **Accepted:** 5 Aug 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، صفحات ۳۹۷ تا ۴۰۵

Original Article

مطالعه اثر استیل ال کارنیتین بر اختلال شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپوپلی ساکارید در موش صحرایی نر: با تاکید بر مسیرهای سلولی AKT / mTOR و التهاب در هیپوکامپ

نیدا جمالی رئوفی[۱]، مطهره زینی وند[۲]، فهیمه علیزاده[۳]، ثریا مهرابی[۴]

[۱] دانشیارگروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
[۲]استادیارگروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
[۳]کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی ایران
[۴]استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

چکیده

سابقه و هدف: *مغز در مواجهه با عوامل محرک باعث ایجاد تغییر در نورون‌ها و تولید عوامل شیمیایی و سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود و التهاب عصبی مزمن به بروز اختلالات شناختی و بیماری‌های نورودژنراتیو می‌انجامد. مطالعه حاضر به بررسی اثر استیل ال کارنیتین بر اختلالات شناختی و سلولی منتج از التهاب القا شده به وسیله لیپوپلی ساکارید (LPS) با تاکید بر مسیر mTor در هیپوکمپ موش صحرایی نر پرداخت.*

روش بررسی: *در این مطالعه برای ایجاد مدل التهابی شناخت از LPS با دوز ۵۰۰ µg/kg حیوان و برای بررسی اثر استیل ال کارنیتین نیز از سه دوز ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ mg/kg در رت‌های دریافت کننده LPSاستفاده شد. رفتار اجتنابی غیر فعال برای بررسی یادگیری و حافظه، روش-های بیوشیمیایی و مولکولی برای میزان mTOR و p- AKT و فاکتورهای التهابی استفاده شد.*

یافته‌ها: *نتایج مطالعه نشان داد که استیل ال کارنیتین در مدل التهابی ناشی از تزریق درون صفاقی LPS، به صورت وابسته به دوز موجب بهبود حافظه غیرفعال اجتنابی شد. همچنین با مهار التهاب نورونی از طریق کاهش بیان IL-6 و IL-1B و افزایش میزان mTOR و p- AKT توانست از مرگ نورون‌های هیپوکامپ جلوگیری کند.*

نتیجه‌گیری: *مطالعه حاضر نشان داد که استیل ال کارنیتین می‌تواند موجب کاهش اثرات مخرب لیپوپلی ساکارید شود که به نظر می‌رسد از طریق افزایش میزان mTOR و AKT باشد.*

واژگان کلیدی: *التهاب عصبی، لیپوپلی ساکارید (LPS)، حافظه، استیل-ال-کارنیتین.*

مقدمه

یکی از علایم برجسته بیماری‌های نورودژنراتیو مانند بیماری پارکینسون و بیماری آلزایمر، التهاب و فعال سازی میکروگلیا است (۱). بیماری های دژنراتیو و کشنده سیستم عصبی با افزایش سن ، تغییر در سبک زندگی ، تغذیه ، شرایط فیزیولوژیکی و محیطی همراه است. میکروگلیاها اصلی‌ترین سلول‌های ایمنی مغز در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند که در التهاب عصبی فعال می‌شوند (۲). میکروگلیاها سلول‌های ایمنی ذاتی ساکن در بافت مغز هستند که می‌توانند در پاسخ به عوامل سیتوتوکسیک مانند فاکتور نکروز تومور آلفا (TNFα)، سوپراکسید و اکسید نیتریک فعال شوند. اگرچه فعال شدن میکروگلیا برای دفاع از میزبان مهم است، اما فعال

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، نیدا جمالی رئوفی (**email**: jamali.n@iums.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0003-2416-0335
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۴

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

شدن بیش از حد میکروگلیا سمیت عصبی دارد (۳) و التهاب عصبی ایجاد می‌کند. لیپوپلی ساکارید (LPS) نوعی اندوتوکسین از باکتریهای گرم منفی است. همچنین لیپو پلی ساکارید آندوتوکسین پایدار و قوی است که قادر است آسیب سلول‌های عصبی دوپامینرژیک را فقط در حضور میکروگلیال افزایش دهد.

LPS یکی از عواملی است که باعث القای التهاب می‌شود. التهاب القا شده توسط LPS موجب تجمع پروتئین‌های یوبیکوئیتینه شده می‌شود که با مهار پروتئازوم‌ها موجب القای تخریب نورونی می‌شود (۴). در مدل Neuroinflammation القا شده توسط LPS، میکروگلیاها فعال شده و موجب مقاومت در مقابل آسیب نورونی می‌شوند که برایند آن تغییر (Long term potential:LTP) و اختلال عملکرد شناختی خواهد بود (۵). بنابراین التهاب عصبی وابسته به سنتز و ترشح مولکولهای نورواکتیو، به خصوص مولکول‌های تولید شده از سلول‌های گلیال فعال شده شامل سایتوکاین‌ها TNF-α و IL-1β، رادیکال‌های آزاد واکنشی اکسیژن و نیتروژن، آمینواسیدهای تحریکی و پروتئازها است (۶). اتوفاژی موجب تجمع چندین مسیر سیگنالینگ جهت تنظیم رشد سلولی، تکثیر سلولی، حرکت سلولی و بقای سلولی می‌شود که از آن جمله می‌توان AMP Kinase (AMPK)، Serine/Threonine protein و Target of rapamycin kinase – mammalian (mTOR) را نام برد (۷). استیل ال کارنیتین (ALC) یک پپتید محلول در آب است که در میتوکندری یافت می‌شود. این آندوژن فرم استیله شده کارنیتین است که به طور طبیعی در بدن تولید می‌شود. گاهی به عنوان مکمل غذایی استفاده می شود. ALC باعث تحریک سوخت و ساز بدن توسط میتوکندری‌ها، تثبیت غشای میتوکندری و افزایش عرضه انرژی به سایر اندامک‌ها می‌شود (۸). در صدمات حاد طناب نخاعی که در نتیجه اختلال در فعالیت میتوکندری و التهاب عصبی و همچنین تشکیل سایتوکاین‌های التهابی، گلوتامات و پروکسی نیتریت و رادیکال‌های سوپراکسید در بافت آسیب دیده تولید می‌شود (۹). مشخص شده است که درمان فوری با آنتی اکسیدان‌های ALC و NAC، باعث کاهش التهاب عصبی، افزایش جوانه زدن آکسون‌ها، کاهش بیان پروتئین BAX (پروتئین پیش آپوپتوز) و کاهش آپوپتوز، کاهش فعالیت میکروگلیاها، کاهش مرگ زودرس نورون‌های حرکتی و به تاخیر افتادن تحلیل نورون‌های حسی و مهار ROS می‌شود (۱۰). بنابراین با توجه به مطالعات فوق، استیل ال کارنیتین می‌تواند به عنوان کاندید مناسبی برای درمان التهاب عصبی در نظر گرفته شود. در این مطالعه، ما برای ارزیابی اثرات محافظتی استیل ل کارنیتین در مدل التهاب القا شده به وسیله لیپو پلی ساکارید و کشف مکانیسم‌های احتمالی آن برای اعمال این حفاظت پرداختیم.

مواد و روشها

جهت انجام این تحقیق از ۵۶ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شدند و با کد اخلاق IR.IUMS.FMD.REC 1395.29779 این کار تایید شد. در این مطالعه حیوانات در شرایط کنترل شده از نظر نور و دما با دسترسی کافی به آب و غذا نگهداری می‌شدند. همه آزمایشات مطالعه بر اساس قوانین و دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتوی ملی بهداشت آمریکا (NIH) انجام شد.

موش‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند (n=۸ حیوان در هر گروه):

۱-گروه کنترل: در این گروه موش‌های سالم مورد بررسی قرار گرفتند.

۲-گروه کنترل دریافت کننده Acetyl-l-carnitine: در این گروه Acetyl-l-carnitine با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز به موش های سالم تزریق شد.

۴ -گروه لیپو پلی ساکارید: در این گروه برای ایجاد التهاب، لیپو پلی ساکارید به میزان ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی یک بار به حیوانات تزریق شد.

۵-گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-l-carnitine: در این گروه Acetyl-l-carnitine با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۶-گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-l-carnitine: در این گروه Acetyl-l-carnitine با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۷-گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده Acetyl-l-carnitine: در این گروه Acetyl-l-carnitine با دوز ۱۰۰میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به مدت شش روز بعد از تزریق لیپو پلی ساکارید تزریق شد.

۸-گروه لیپو پلی ساکارید دریافت کننده دگزامتازون (به عنوان کنترل مثبت): دگزامتازون به میزان ۱۰۰میکروگرم به ازای

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی بـه مـدت شـش روز تزریـق شد.

تست رفتاری

بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال با استفاده از Shuttle Box

برای بررسی رفتار اجتنـابی غیـر فعـال، از یـک دسـتگاه بـا ابعـاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشـن و یک محفظه تاریک استفاده شد. میله‌هـای فلـزی موجـود در کـف محفظه تاریک برای شوک دادن بـه پـای حیـوان بـه کـار گرفتـه شدند. برای اعمال تحریک از یـک دسـتگاه اسـتیمولاتور اسـتفاده شد که تک تحریکی با شـدت ۱ میلـی آمپـر و بـه مـدت ۱ ثانیـه اعمال می‌کرد. در این مطالعـه روش بررسـی رفتـار اجتنـابی غیـر فعال به شرح زیر بود:

الف) سازش: در این مرحله، قبل از آغاز آزمایش، هر حیـوان بـرای دو روز متوالی و دست کم به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قـرار داده شد.

ب) اکتساب: در این مرحله (روز سوم)، حیوان در محفظـه روشـن قرار داده می شد، درب گیوتینی (ارتباط دهنده محفظـه روشـن و تاریک) باز می شـد، بـه محـض بـاز کـردن در کورنـومتر بـه کـار انداخته می شد و مدت زمانی که طـول مـی‌کشـید تـا حیـوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می‌شد کـه مـدت زمان این تاخیر اولیه، به عنوان تاخیر اولیه یا IL نامیـده مـی‌شـود. بعد از آن در گیوتینی پایین آورده می‌شـد و یـک تـک شـوک بـه حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه حیوان بـه قفـس منتقل می‌شد. در این مرحله موش های دارای تاخیر اولیـه بیشـتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش حذف شدند.

ج) نگهداری اطلاعات: این مرحله ۲۴ سـاعت پـس از مرحلـه دوم در روز چهارم انجام شد. این مرحله مشابه مرحلـه پیشـین بـود بـا این تفاوت که وقتی حیوان به محفظه تاریک وارد مـی شـد، هـیچ گونه شوکی دریافت نمی‌کرد؛ در این مرحله تاخیر در حـین عبـور یا STL (مدت زمانی که طول می‌کشـد کـه حیـوان وارد محفظـه تاریک شود) اندازه گیری شد. زمان قطـع آزمـایش (Cut off) نیـز ۳۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

تهیه هموژن بافتی

پس از اتمام مطالعات رفتاری ، موش‌هـا را بـا کتـامین و زایلازیـن بیهوش، سر آنها را با گیـوتین جـدا کـرده و مغزشـان را از حفـره جمجمه خارج کردیم و بر روی یخ منجمد قـرار دادیـم تـا هنگـام آزمایشات اصلی به فریـزر ۸۰- درجـه منتقـل کـرد. بـرای تهیـه بافت هموژن، پس از جداسازی هیپوکمـپ، آن را وزن کـرده و ۱۰ برابر وزن آن محلول بافر فسفات (PBS) بـه آن اضـافه کـرده و بـا استفاده از دستگاه هموژنایزر (۵۰۰۰ دور در دقیقـه) بـر روی یـخ هموژنیزه کردیم. پس از سانتریفیوژ کردن محلول هموژنیزه شـده، محلول رویه کـه شـفاف‌تـر بـود را جـدا کـرده و بـرای سـنجش فاکتورهای مورد نظر مورد استفاده قرار دادیم. بخش رسوب کـرده زیرین دور ریخته شد.

ارزیابی فـاکتور التهـابی (IL-6, IL-1B)، MTOR و P-AKT با استفاده از کیت الایزا

IL-6، IL-1B ,MTOR و P-AKT بـا اسـتفاده از روش‌هـای ایمون جاذب متصـل بـه آنـزیم (ELISA) در منطقـه هیپوکامـپ طبق دستورالعمل سازنده تعیـین شـد (ZellBio GmbH، Ulm ، آلمان). به طور خلاصه، نمونه‌ها و استانداردها به داخـل چـاه‌هـایی که از قبل با آنتی بادی‌هـای مخصـوص IL-6، IL-1B و MTOR و P-AKT و مارکرهای اتوفـاژی پوشـش داده شـده‌انـد، پیپـت داده شدند. سپس، چاه‌ها شسته و آنتـی بـادی‌هـای متصـل بـه آنـزیم مخصوصIL-1B، IL-6، نشانگرهای MTOR و P-AKT به چـاه‌هـا اضافه شدند. سپس، سه بار چاه‌ها شسـته شـدند. پـس از آخـرین شستشو، آسپیراسیون برای از بین بردن باقی مانـده بـافر شستشـو انجام شد. صفحه در مقابل حوله هـای کاغـذی تمیـز و هـر آنـزیم آنتی بادی غیرمستقیم معکوس شد. معرف حـذف شـد. سـرانجام، یک محلول سوبسترا شامل حجم مساوی معرف A و B به چاه هـا اضافه شد و محلول با استفاده از دستگاه ریزپلاک بـا سـرعت ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

تحلیل آماری

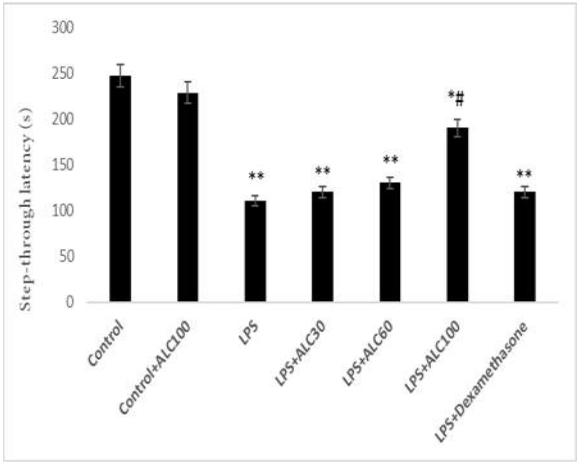
تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحـراف معیـار بیـان مـی‌شـوند. تحلیل آماری با استفاده از نـرم افـزار آمـاری GraphPad Prism-5 انجام شد. تحلیل داده‌ها با ANOVA یک طرفـه انجـام شـد و بـه دنبال آن آزمون توکی برای مقایسه تفاوت بین سه یـا چنـد گـروه انجام شد.

یافته‌ها

اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان حافظه و یادگیری

در مورد نتایج حاصل از آزمون اجتنابی غیر فعال، کاهش قابل توجهی در STL در موش های گروه LPS در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزامتازون مشاهده شد. درمان با بالاترین غلظت استیل –ال-کارنیتین (ALC-100) به طور معنی‌داری STL را در مقایسه با گروه LPS افزایش داد، در حالی که سایر دوزهای استیل-ال-کارنیتین (ALC30,ALC60) و دگزامتازون نتوانستند این اثر را اعمال کنند (نمودار ۱).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]



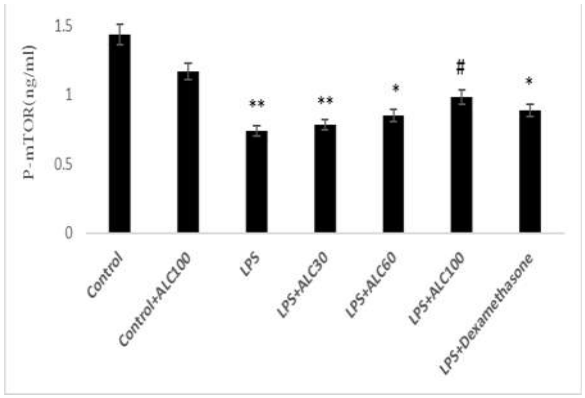
نمودار ۱. مقایسه میانگین تاخیر در حین عبور (STL) در گروههای مختلف مطالعه. نتایج بر اساس Mean ± SEM گزارش شده‌اند. * P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه LPS

اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان m TOR

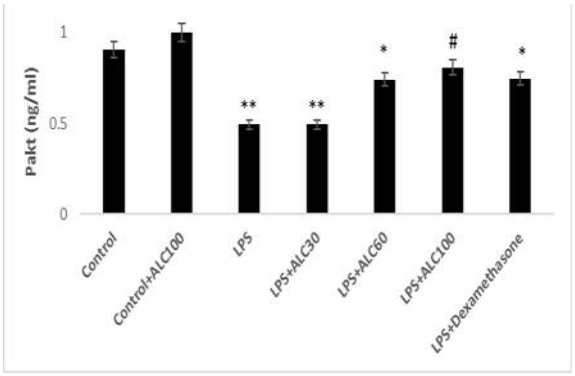
برای بررسی اثرات استیل-ال-کارنیتین روی مسیر سیگنالینگ عصبی ایجاد شده توسط LPS، میزان m TOR بافت هیپوکمپ اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان m TOR پس از تجویز داخل صفاقی یک دوز واحد LPS به مدت ۶ روز در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزامتازون کاهش قابل توجهی دارد. میزان m TOR پس از درمان با دوز بالای استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) در مقایسه با گروه LPS به طور معنی‌داری افزایش یافت. اگرچه کمترین دوز و دوز متوسط استیل- ال- کارنیتین (ALC-60) باعث افزایش میزان m TOR شدند اما این افزایش در مقایسه با گروه LPS معنی دار نبود (نمودار ۲).

بررسی اثرات استیل-ال-کارنیتین بر میزان p AKT بافت هیپوکمپ

برای بررسی اثرات **استیل-ال-کارنیتین** روی مسیر سیگنالینگ عصبی ایجاد شده توسط LPS، میزان p AKT بافت هیپوکمپ اندازه گیری شد. میزان p AKT پس از تجویز داخل صفاقی یک دوز واحد LPS به مدت ۶ روز در مقایسه با گروه کنترل و کنترل + دگزامتازون کاهش قابل توجهی را نشان داد. میزان p AKT پس از درمان با دوز بالای استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) در مقایسه با گروه LPS به طور معنی‌داری افزایش یافت. اگرچه کمترین دوز و دوز متوسط استیل- ال- کارنیتین (ALC-60) باعث افزایش میزان p AKT شدند، اما این افزایش در مقایسه با گروه LPS معنی‌دار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۲. مقایسه میانگین فعالیت پروتئین p- m TOR بین گروه‌های مختلف. نتایج بر اساس Mean ± SEM گزارش شده‌اند. * P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه LPS



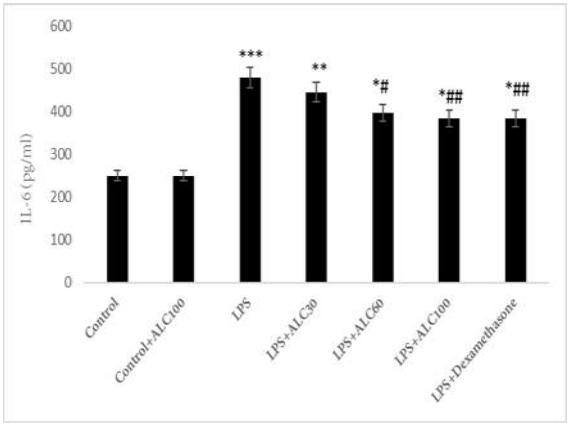
نمودار ۳. مقایسه میانگین فعالیت مسیر سیگنالینگ p AKT بین گروه‌های مختلف مطالعه. نتایج بر اساس Mean ± SEM گزارش شده‌اند. * P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه LPS

بررسی میزان IL-6 در بافت هیپوکمپ

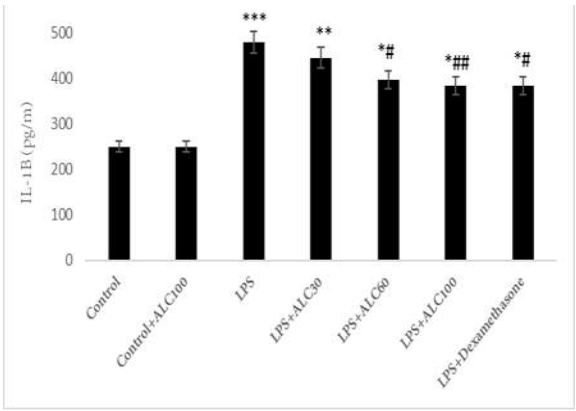
به منظور تأیید بیشتر اثر محافظتی استیل-ال-کارنیتین در التهاب عصبی ناشی از LPS، بیان IL-6 در گروه‌های مختلف آزمایشی بررسی شد. LPS به طور قابل توجهی بیان IL-6 را در بافت مغز موش افزایش داد. پس از درمان با کمترین دوز آزمایش شده استیل-ال-کارنیتین(ALC 30) بیان IL-6 حیوانات مورد مطالعه را در مقایسه با گروه LPS تغییر نداد. اگرچه دوز آزمایش شده میانی استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) به طور قابل توجهی بیان IL-6 را کاهش داد، بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) بیشترین تأثیر را در کاهش بیان IL-6 اعمال کرد. بین بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

کارنیتین (ALC-100) و گروه دگزامتازون تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۴).



نمودار ۴. مقایسه میانگین IL-6 بین گروه‌های مورد مطالعه. نتایج بر اساس Mean ± SEM گزارش شده‌اند. * P<۰/۰۵ و ** P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۵ و ## P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه LPS



نمودار ۵. مقایسه میانگین IL-1B بین گروه های مورد مطالعه میزان IL-1B در گروه های مورد مطالعه. * P<۰/۰۵ و ** P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۵ و ## P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه LPS

بررسی میزان IL-1B در بافت هیپوکمپ

به منظور تأیید بیشتر اثر محافظتی استیل-ال-کارنیتین در التهاب عصبی ناشی از LPS، بیان IL-1B در گروه‌های مختلف آزمایشی بررسی شد. LPS به طور قابل توجهی بیان IL-1B را در بافت مغز موش افزایش داد. پس از درمان با کمترین دوز آزمایش شده استیل-ال-کارنیتین (ALC-30) بیان IL-1B حیوانات مورد مطالعه را در مقایسه با گروه LPS تغییر نداد. اگرچه دوز آزمایش شده میانی استیل-ال-کارنیتین (ALC-60) به طور قابل توجهی بیان IL-1B را کاهش داد، بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) بیشترین تأثیر را در کاهش بیان IL-1B اعمال کرد. بین بالاترین دوز آزمایش شده از استیل-ال-کارنیتین (ALC-100) و گروه دگزامتازون تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار ۵).

بحث

نتایج ما در این تحقیق نشان داد که استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز منجر به از بین بردن اثرات مخرب ناشی از تزریق LPS به عنوان ماده تولید کننده التهاب عصبی و از بین برنده حافظه و یادگیری در رت از طریق مهار عوامل ایجاد کننده التهاب عصبی و همچنین بهبود فاکتورهای التهابی در رت‌های دریافت کننده استیل ال کارنیتین می‌شود.

تخریب حافظه با القای LPS به عنوان یک ابزار تحقیقاتی مناسب برای توضیح مکانیسم پاتولوژی بسیاری از اختلالات نورودژنراتیو مانند آلزایمر (۱۱)، پارکینسیون (۱۲)، MS (۱۳) و غیره همراه با تغییرات رفتاری مرتبط در بسیاری از تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تزریق LPS به داخل مغز منجر به التهاب نواحی مختلف مغزی از جمله نواحی مانند هیپوکامپ که با حافظه و یادگیری در ارتباطند، می‌شود و در نتیجه سبب از دست رفتن حافظه می‌شود (۱۴). در این مطالعه ما از آزمون‌های رفتاری رفتار اجتنابی غیر فعال استفاده کردیم. در تمام آزمون‌های رفتاری نشان دادیم که استفاده از LPS منجر به از بین رفتن حافظه در موش‌هایی شد که آن ماده را دریافت کردند. این اثر در بسیاری از تحقیقات انجام شده در این زمینه نیز مورد تائید است، به عنوان مثال Anaeigoudari و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که استفاده از LPS با دوز mg/kg۱ باعث کاهش تاخیر در ورود رت‌ها به اتاق تاریک می‌شود (۱۵). نتایج مشابهی نیز در استفاده از LPS مشاهده شده است، به طوری Sun و همکارانش در سال ۲۰۱۵ با تزریق ug/kg۵۰۰ به صورت درون صفاقی در رت‌های نژاد Sprugo duoly نشان دادند که تجویز LPS منجر به اختلال شناختی معنی‌داری نسبت به رت‌های کنترل می‌شود (۱۶, ۱۷).

در این گزارش نشان دادیم که استیل ال کارنیتین می‌تواند اختلال در به خاطر سپاری و به خاطر آوری را در موش‌هایی که LPS دریافت کرده‌اند را بهبود بخشد. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تجویز استیل ال کارنیتین با دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم می‌تواند باعث افزایش تاخیر

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

در ورود حیوان اتاق تاریک در آزمون رفتاری اجتنابی غیرفعال شود، با این حال استفاده از دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم به طور معنی‌داری این تاخیر را افزایش داده و نشان دهنده اثر استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز است (۱۸, ۱۹). همچنین مطالعات نشان دادند که استفاده از دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم بهترین پاسخ را در مقایسه با دو دوز دیگر استیل ال کارنیتین دارد. zarezadeh و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که گارلیک فعال می‌تواند موجب بهبود حافظه در استفاده از آزمون‌های رفتاری مشابه با پژوهش ما باشد. می‌توان گفت که استیل ال کارنیتین با تعدیل پلاستیسیته سیناپسی و متاپلاستیسیتی منجر به تعدیل اثر LPS می‌شود. اثرات مثبت استیل ال کارنیتین به دلیل اثرات مثبت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و خواص تغییر استیل کولین استرازی آن است (۲۰). بر اساس یافته‌های مطالعات دیگران می‌توان نتیجه گرفت که تعدیل مسیرهای مختلف سلولی به ویژه مسیرهای سیگنالینگ التهابی توسط عوامل دارویی را می‌توان به عنوان روش معتبری برای درمان بیماری‌ها در نظر گرفت و آن را مورد مطالعه و بررسی قرار داد.

گزارش شده که mTOR نقش پیچیده‌ای را در شروع، ادامه و خاتمه اتوفاژی بازی می‌کند. از طرفی اتوفاژی می‌تواند وابسته به mTOR و یا مستقل از آن صورت گیرد. از سوی دیگر mTOR نقش ضروری در تنظیم رشد و تکثیر سلول، طول عمر، عملکردهای نورونی، پلاستیسیته سیناپسی و شکل گیری حافظه دارد؛ چنان چه در مطالعه‌ای مروری که در سال ۲۰۱۹ توسط Zhou و همکارانش صورت گرفت، نقش سیگنالینگ mTOR و اتوفاژی در درمان بیماری پارکینسون بررسی شد (۲۱). از آنجایی که سیگنالینگ mTOR تنظیم کلیدی در سنتز پروتئین، تکثیر سلولی و بقاء آن دارد و مهار mTOR منجر به دژنراسیون پیشرفته نورونی می‌شود، لازم است فعالیت سیگنالینگ mTOR برای نقش حفاظتی آن در نورون دوباره بازگردد (۲۲). در مطالعه ما استفاده از استیل ال کارنیتین باعث افزایش میزان بیان mTOR و Akt شد که ممکن است از طریق مکانیسمی مشابه سبب فعال شدن سیگنالیگ mTOR و پروتئین‌های مربوط به مسیر سیگنالینگ آن در نورون‌های هیپوکامپ گشته و باعث حفاظت نورونی یا رژنراسیون آنها شده باشد. البته تعیین مکانیسم دقیق آن نیاز به مطالعه بیشتری دارد. از نگاهی دیگر مطالعات نشان می‌دهند که تغییرات اتوفاژی و التهاب عصبی دو نشانه رایج بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر ، پارکینسون، هانتیگتون و ALS هستند که التهاب در پیشرفت این بیماری‌ها نقش مهمی ایفاء می‌کند (۲۳). بر اساس مطالعات انجام شده مشخص شده است که اتوفاژی ممکن است فعالیت میکروگلیاها را نیز تحت تاثیر قرار دهد (۲۴). فعالیت میکروگلیاها در اثر ورود محرک‌های آندوژن یا اگزوژن نقش کلیدی را در بیماری‌های نورودژنراتیو ایفا می‌کند. تحت تاثیر LPS فعالیت اتوفاژی به واسطه فعال شدن Beclin-1، ILC3 ممکن است با تغییر مسیر سیگنالیگ mTOR و یا مستقل از آن صورت بگیرد که این مسئله ممکن است مربوط به بافت و محل تهیه نمونه از آن، نوع بیماری (۲۷-۲۵)، زمان تزریق LPS و سپس اندازه گیری بیان این پروتئین‌ها در نمونه بافتی تهیه شده، و یا در ارتباط با سایر مسیرهای اتوفاژی مانند Tyrosine Kinase (RTK)/Phosphoinositide 3-kinase/Phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1). باشد. همان گونه که François و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی موش سوری نشان دادند، تزریق LPS در زمان‌های مختلف می‌تواند مستقل از مسیر mTOR فاکتورهای التهابی را در کورتکس مغز و هیپوکامپ تغییر دهد (۲۸).

التهاب عصبی عمدتا از طریق فعالیت استروسیت‌ها و میکروگلیاها ایجاد شده (۲۹) و باعث تکثیر میکروگلیاهای فعال شده در برخی از نقاط مغز شده و همچنین باعث افزایش نسخه برداری فاکتورهایی مانند NFκB و افزایش ایجاد سیتوکاین‌های سیتوتوکسیک مانند IL-6 و اینترلوکین B۱ می‌شود. حذف رادیکال‌های آزاد و کلات شدن آهن می‌تواند از فعالیت لیپوپلی ساکارید و آهن آزاد القاء کننده NFκB جلوگیری کند. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که تزریق LPS منجر به افزایش سایتوکین‌های پیش التهابی و یا واسطه‌های آن مانند TNF-α، IL-1B، TLR4 و IL6 از سلول‌های گلیا شود (۲۰, ۳۰). از دست رفتن حافظه یکی از مهم‌ترین علایم بیماری‌های نورودژنراتیو همچون بیماری آلزایمر و برخی دیگر از بیماری‌های مرتبط با التهاب مغزی مانند پارکینسون است (۳۱, ۳۲). از آنجایی که کاهش mTOR، فرایندهای حافظه وابسته به هیپوکامپ را تحت تاثیر قرار می دهد(۳۳)، تضعیف بخش یادگیری و حافظه در مطالعات ما نیز ممکن است به دلیل ;کاهش بیان mTOR, PAKT باشد. یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که LPS به طور موثری باعث افزایش سطح IL-1B، TNF-α و IL-6 و mTOR در ناحیه هیپوکامپ رت‌ها می‌شود که بیانگر آسیب جدی نورون‌های این ناحیه پس از تزریق LPS است. این نتایج در استفاده از LPS مشابه

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

نتایج سایر محققین در استفاده از آن به عنوان یک ماده ایجاد کننده التهاب عصبی است (۲۰, ۳۴).

نتایج ما نشان داد که استفاده از استیل ال کارنیتین با دوزهای ۱۰۰ و ۶۰ میلی گرم/کیلوگرم برای IL-6، mTOR و PAKT سبب تغییر معنی داری در بیان آنها می‌شود. به نظر می‌رسد که استیل ال کارنیتین با مهار خاصیت نوروتوکسیکی LPS مانع از بیان این فاکتورهای التهابی می‌شود. در تائید یافته‌های ما Ahmed و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که استیل ال کارنیتین (با دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) می‌تواند موجب کاهش بیان IL-6, IL-1Bدر موش‌های مدل آلزایمری با AlCl3 شود (۳۵). Blanca و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثر کارنیتین و ال کارنیتین را بر کاهش اثر LPS در نسخه برداری فاکتور NFκB نشان دادند (۳۶). همچنین در مطالعه‌ای دیگر Afshin Majd و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که استیل ال کارنیتین با دوز ۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم می‌تواند موجب کاهش بیان NF-κβ، TNF-α و IL-6 در نورون‌های دوپامینرژیک در رت‌های مدل پارکینسون ۶-HDO شود و بدین ترتیب به عنوان یک عامل محافظت کننده نورونی عمل کند (۳۱).

یافته‌های این مطالعه نشان داد که استیل ال کارنیتین به صورت وابسته به دوز و با دوز موثر ۱۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم وزن حیوان در مدل التهاب ناشی از ترزیق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید (LPS)، موجب بهبود حافظه فضایی و حافظه غیرفعال اجتنابی و همچنین حافظه کاری می‌شود. استیل ال کارنیتین از طریق مهار التهاب نورونی با کاهش بیان IL-6 و IL-1B و افزایش بیان فاکتورهای اتوفاژی mTOR و AKT می‌تواند از مرگ نورن‌های هیپوکامپ جلوگیری کند. با توجه به یافته‌های به دست آمده می‌توان گفت که استیل ال‌کارنیتین می‌تواند یک ترکیب پیشگیری کننده از بیماری‌های التهاب نورونی باشد.

REFERENCES

1. Ransohoff RM. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. Science 2016;353:777-83.
2. Gavilán MP, Revilla E, Pintado C, Castaño A, Vizuete ML, Moreno□González I, et al. Molecular and cellular characterization of the age□related neuroinflammatory processes occurring in normal rat hippocampus: potential relation with the loss of somatostatin GABAergic neurons. J Neurochem 2007;103:984-96.
3. Poustchi F, Amani H, Ahmadian Z, Niknezhad SV, Mehrabi S, Santos HA, et al. Combination therapy of killing diseases by injectable hydrogels: from concept to medical applications. Adv Healthc Mater 2021;10:2001571.
4. Pintado C, Gavilán MP, Gavilán E, García-Cuervo L, Gutiérrez A, Vitorica J, et al. Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation leads to the accumulation of ubiquitinated proteins and increases susceptibility to neurodegeneration induced by proteasome inhibition in rat hippocampus. J neuroinflammation 2012;9:1-10.
5. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation. Glia 2013;61:71-90.
6. Gahtan E, Overmier JB. Inflammatory pathogenesis in Alzheimer's disease: biological mechanisms and cognitive sequeli. Neurosci Biobehav Rev 1999;23:615-33.
7. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan K-L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. Nat Cell Biol 2011;13:132-41.
8. Pillich RT, Scarsella G, Risuleo G. Reduction of apoptosis through the mitochondrial pathway by the administration of acetyl-L-carnitine to mouse fibroblasts in culture. Exp Cell Res 2005;306:1-8.
9. Hall ED. Antioxidant therapies for acute spinal cord injury. Neurotherapeutics 2011;8:152-67.
10. Karalija A, Novikova LN, Kingham PJ, Wiberg M, Novikov LN. The effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine on neural survival, neuroinflammation and regeneration following spinal cord injury. Neuroscience 2014; 269:143-51.
11. Bagyinszky E, Van Giau V, Shim K, Suk K, An SSA ,Kim S. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. J Neurol Sci 2017;376:242-54.
12. Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. Neurobiol Dis 2018;109:249-57.
13. Koudriavtseva T, Mainero C. Neuroinflammation, neurodegeneration and regeneration in multiple sclerosis: intercorrelated manifestations of the immune response. Neural Regen Res 2016;11:1727.
14. Hsing C-H, Hung S-K, Chen Y-C, Wei T-S, Sun D-P, Wang J-J, et al. Histone deacetylase inhibitor trichostatin a ameliorated endotoxin-induced neuroinflammation and cognitive dysfunction. Mediat Inflamm 2015;2015:163140.
15. Anaeigoudari A, Soukhtanloo M, Reisi P, Beheshti F, Hosseini M. Inducible nitric oxide inhibitor aminoguanidine, ameliorates deleterious effects of lipopolysaccharide on memory and long term potentiation in rat. Life Sci 2016;158:22-30.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]

16. Song X, Zhou B, Zhang P, Lei D, Wang Y, Yao G, et al. Protective effect of silibinin on learning and memory impairment in LPS-treated rats via ROS–BDNF–TrkB pathway. Neurochem Res 2016;41:1662-72.

17. Sun J, Zhang S, Zhang X, Zhang X, Dong H, Qian Y. IL-17A is implicated in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment in aged rats via microglial activation. J Neuroinflammation 2015;12:1-12

18. Khalili M, Alavi M, Esmaeil-Jamaat E, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Trigonelline mitigates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairment in the rat due to its anti-oxidative and anti-inflammatory effect. Int Immunopharmacol 2018;61:355-62.

19. Czerniawski J, Miyashita T, Lewandowski G ,Guzowski JF. Systemic lipopolysaccharide administration impairs retrieval of context–object discrimination, but not spatial, memory: evidence for selective disruption of specific hippocampus-dependent memory functions during acute neuroinflammation. Brain Behav Immun 2015;44:159-66.

20. Zarezadeh M, Baluchnejadmojarad T, Kiasalari Z, Afshin-Majd S, Roghani M. Garlic active constituent s-allyl cysteine protects against lipopolysaccharide-induced cognitive deficits in the rat: possible involved mechanisms. Eur J Pharmacol 2017;795:13-21.

21. Zhu Z, Yang C, Iyaswamy A, Krishnamoorthi S, Sreenivasmurthy SG, Liu J, et al. Balancing mtor signaling and autophagy in the treatment of parkinson's disease. Int J Mol Sci 2019;20:728.

22. Domanskyi A, Geißler C, Vinnikov IA, Alter H, Schober A, Vogt MA, et al. Pten ablation in adult dopaminergic neurons is neuroprotective in Parkinson's disease models. FASEB J 2011;25:2898-910.

23. Tan C-C, Yu J-T, Tan M-S, Jiang T, Zhu X-C, Tan L. Autophagy in aging and neurodegenerative diseases: implications for pathogenesis and therapy. Neurobiol Aging 2014;35:941-57.

24. Su P, Zhang J, Wang D, Zhao F, Cao Z, Aschner M, et al. The role of autophagy in modulation of neuroinflammation in microglia. Neuroscience 2016;319:155-67.

25. Zhang S, Xue Z-F, Huang L-P, Fang R-M, He Y-P, Li L, et al. Dynamic expressions of Beclin 1 and tyrosine hydroxylase in different areas of 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonian rats. Cell Mol Neurobiol 2013;33:973-81.

26. Weis S, Toniazzo A, Ander B, Zhan X, Careaga M, Ashwood P, et al. Autophagy in the brain of neonates following hypoxia–ischemia shows sex-and region-specific effects. Neuroscience 2014;256:201-9.

27. Pérez□Rodríguez D, Anuncibay□Soto B, Llorente IL, Pérez□García CC, Fernández□López A. Hippocampus and cerebral cortex present a different autophagic response after oxygen and glucose deprivation in an ex vivo rat brain slice model. Neuropathol Appl Neurobiol 2015;41:e68-e79.

28. François A, Terro F, Quellard N, Fernandez B, Chassaing D, Janet T, et al. Impairment of autophagy in the central nervous system during lipopolysaccharide-induced inflammatory stress in mice. Mol Brain 2014;7:56.

29. Bales KR, Du Y, Dodel RC, Yan G-M, Hamilton-Byrd E, Paul SM. The NF-κB/Rel family of proteins mediates Aβ-induced neurotoxicity and glial activation. Brain Res Mol 1998;57:63-72.

30. Hedde JR, Hanks AN, Schmidt CJ, Hughes ZA. The isozyme selective phosphodiesterase-4 inhibitor, ABI-4, attenuates the effects of lipopolysaccharide in human cells and rodent models of peripheral and CNS inflammation. Brain Behav Immun 2017;64:285-95.

31. Afshin-Majd S, Bashiri K, Kiasalari Z, Baluchnejadmojarad T, Sedaghat R, Roghani M. Acetyl-l-carnitine protects dopaminergic nigrostriatal pathway in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in the rat. Biomed Pharmacother 2017;89:1-9.

32. Ownby RL. Neuroinflammation and cognitive aging. Curr Psychiatry Rep 2010;12:39-45

33. Okun E, Barak B, Saada-Madar R, Rothman SM, Griffioen KJ, Roberts N, et al. Evidence for a developmental role for TLR4 in learning and memory. PloS One 2012;7:e47522.

34. Joshi R, Garabadu D, Teja GR, Krishnamurthy S. Silibinin ameliorates LPS-induced memory deficits in experimental animals. Neurobiol Learn Mem 2014;116:117-31.

35. Ahmed HH. Modulatory effects of vitamin E, acetyl-l-carnitine and α-lipoic acid on new potential biomarkers for Alzheimer's disease in rat model. Exp Toxicol Pathol 2012;64:549-56.

36. Blanca AJ, Ruiz-Armenta MV, Zambrano S, Miguel-Carrasco JL, Arias JL, Arévalo M, et al. Inflammatory and fibrotic processes are involved in the cardiotoxic effect of sunitinib: protective role of L-carnitine. Toxicol Lett 2016;241:9-18.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1400.31.4.10.4]
[DOI: 10.52547/iau.31.4.397]