

## The antidiabetic effect of L-carnitine in rats: the role of nitric oxide system

Hajian-Shahri SH<sup>1</sup>, Hajinezhad MR<sup>2\*</sup>, Jahantigh M<sup>3</sup>, Miri HR<sup>4</sup>

1- Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, I. R. Iran.

2- Department of Basic Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, I. R. Iran.

3- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, I. R. Iran.

4- Department of Laboratory Sciences, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, I. R. Iran.

Received July 16, 2016; Accepted September 10, 2017

### Abstract:

**Background:** Nowadays, the use of L-carnitine in the treatment of diabetes is increasing. This study was conducted to investigate the effect of co-administration of L-arginine (precursor for the synthesis of nitric oxide) and nitro-L-arginine (nitric oxide synthesis inhibitor) on antidiabetic activity of L-carnitine in diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this study, 50 male rats weighing 180-201g were divided into five groups: (1) non diabetic control rats; (2) untreated diabetic rats; (3) diabetic rats treated with L-carnitine 300 mg/kg (4); diabetic rats treated with L-carnitine 300 mg/kg + L-arginine 300 mg/kg; and (5) diabetic rats treated with L-carnitine (300 mg/kg) + nitro-L-arginine (1mg/kg). Type 1 diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of 110 mg/kg body weight alloxan. After 30 days, liver malondialdehyde levels, lipid profile, serum glucose, and glycated hemoglobin serum levels were measured.

**Results:** Blood glucose, liver enzymes, glycated hemoglobin, and liver malondialdehyde levels significantly decreased in diabetic rats treated with L-carnitine compared to the untreated diabetic group ( $P<0.05$ ). The co-administration of L-arginine and L-carnitine led to a significant decrease in glycated hemoglobin levels and serum glucose, in a manner similar to the group received only L-carnitine. Also, L-arginine and nitro-l-arginine had similar effects on liver lipid peroxidation and serum biochemical parameters.

**Conclusion:** The results suggest that the hypoglycemic effect of L-carnitine is mediated independently from nitric oxide pathways. The interaction between L-carnitine and L-arginine may not be synergistic. So, their combined administration is not recommended for the diabetic patients.

**Keywords:** Diabetes mellitus, L- carnitine, Nitric oxide, Rats

\* Corresponding Author.

Email: hajinezhad@uoz.ac.ir

Tel: 0098 915 333 0046

Fax: 0098 543 123 2250

Conflict of Interests: *No*

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2017; Vol. 21, No 5, Pages 414-421*

Please cite this article as: Hajian-Shahri SH, Hajinezhad MR, Jahantigh M, Miri HR. The antidiabetic effect of L-carnitine in rats: the role of nitric oxide system. *Feyz* 2017; 21(5): 414-21.

# بررسی اثر ضد دیابتی ال کارنیتین در موش‌های صحرایی: نقش سیستم نیتریک اکسید

شقایق حاجیان شهری<sup>۱</sup>، محمدرضا حاجی نژاد<sup>۲\*</sup>، مهدی جهانتیغ<sup>۳</sup>، حمیدرضا میری<sup>۴</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** امروزه کاربرد ال کارنیتین در درمان دیابت روبه افزایش است. در این مطالعه تاثیر تجویز همزمان پیش‌ساز نیتریک اکسید (ال آرژینین) و مهارکننده سنتز نیتریک اکسید (نیترو ال آرژینین) بر اثر ضد دیابتی ال کارنیتین بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر با وزن ۱۸۰-۲۰۱ گرم به پنج گروه تقسیم شدند: شاهد سالم؛ شاهد دیابتی؛ دیابتی تحت تیمار با ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg)؛ دیابتی تحت تیمار با ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و ال آرژینین (۳۰۰ mg/kg)؛ دیابتی تحت تیمار با ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و نیترو ال آرژینین (۱ mg/kg). دیابت نوع ۱ به وسیله تزریق آلوکسان (۱۱۰ mg/kg, Ip) القا شد. پس از گذشت ۳۰ روز، مالون دی آلدئید بافت کبد، پروفایل لیپیدی، گلوکز و هموگلوبین گلیکته سرم اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** در گروه تحت تیمار با ال کارنیتین، گلوکز سرم، آنزیم‌های کبدی، هموگلوبین گلیکته سرم و مالون دی آلدئید بافت کبد نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). اثر تجویز همزمان ال کارنیتین و ال آرژینین، بر گلوکز و هموگلوبین گلیکته سرم، مشابه اثر تجویز ال کارنیتین بود. پیش‌ساز و مهار کننده سنتز نیتریک اکسید، اثرات مشابهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و مالون دی آلدئید بافت کبد داشتند.

**نتیجه‌گیری:** اثر ضد دیابتی ال کارنیتین احتمالاً به‌طور مستقل از ال آرژینین و سیستم نیتریک اکسید اعمال می‌شود. ال کارنیتین و ال آرژینین احتمالاً اثر هم‌افزایی ندارند و تجویز هم‌زمان آن‌ها به بیماران دیابتی توصیه نمی‌شود.

**واژگان کلیدی:** دیابت، ال کارنیتین، نیتریک اکسید، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۶، صفحات ۴۲۱-۴۱۴

## مقدمه

امروزه گرایش به سوی مکمل‌های غذایی که عوارض جانبی کمتری دارند، روزبه‌روز بیشتر می‌شود. ال کارنیتین ماده‌ای با ساختار مشابه اسید آمینه و عملکرد شبیه ویتامین است. این ماده در کبد از اسیدهای آمینه لیزین و متیونین ساخته شده و موجب فعال شدن پیرووات دهیدروژناز و افزایش کاتابولیسم گلوکز می‌شود [۴]. در صورتی که بیماران مبتلا به سرطان عوارض قلبی یا خستگی شدید داشته باشند، به آنها مصرف روزانه مکمل‌های حاوی ۵۰ میلی‌گرم کارنیتین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن توصیه می‌شود [۵]. ال کارنیتین انتقال اسیدهای چرب به میتوکندری و اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد. این ماده اثر آنتی‌اکسیدانی قوی در بافت عضله دارد؛ از این رو، پژوهشگران استفاده از مکمل ال کارنیتین را برای جلوگیری از آتروفی بافت عضلانی در افراد مسن توصیه می‌کنند. ال کارنیتین برای بهبود متابولیسم قلب مفید است. در یک بررسی، تجویز ال کارنیتین برای بیماران دیابتی تپش غیرعادی قلب را کاهش داد [۶]. آرژینین یک اسید آمینه نیمه- ضروری و پیش‌ساز نیتریک اکسید (NO) است. این اسید آمینه رگ‌های خونی را متسع می‌کند و در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، رهاسازی هورمون رشد، افزایش کلسترول خوب سرم و تنظیم متابولیسم چربی نقش دارد [۷]. مطالعات جدید نشان داده است آرژینین با فعال‌سازی ماکروفازها سبب کاهش رشد سلول‌های سرطانی شده و کارایی داروهای ضد سرطان را افزایش می‌دهد

دیابت یا بیماری قند شایع‌ترین اختلالات متابولیکی است. در این بیماری انسولین به میزان کافی از پانکراس ترشح نمی‌شود و یا سلول‌های بدن به انسولین پاسخ نمی‌دهند. بیماری دیابت ارتباط نزدیکی با بیماری‌های قلبی و عروقی دارد و از شایع‌ترین علل مرگ-ومیر در کشورهای صنعتی و در حال توسعه است [۱]. عوارض جانبی گسترده داروهای شیمیایی سبب شده پژوهشگران به دنبال یافتن داروهای جایگزین برای درمان و یا پیشگیری از دیابت باشند. تاکنون اثر ویتامین‌های گوناگون و داروهای همچون مهارکننده‌های آنزیم تبدیل کننده آئزوتانسین، سولفونیل‌اوره‌ها، لیپوئیک اسید، متفورمین و ملاتونین در درمان دیابت بررسی شده است [۳،۲].

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل، زابل، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه علوم پایه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

<sup>۴</sup> استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

## \* نشانی نویسنده مسئول:

زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

تلفن: ۰۹۱۵۳۳۳۰۰۴۶ | دورنویس: ۰۵۴۳۱۲۳۲۲۵۰

پست الکترونیک: hajinezhad@uoz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۲۶ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۶/۱۹

[۸]. اسید آمینه آرژینین توسط گروهی از آنزیم‌ها به نام نیتریک اکسید سنتاز به نیتریک اکسید تبدیل می‌شود. نیتریک اکسید یک مولکول کوچک چربی دوست با نیمه عمر کوتاه است که در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک و حفظ هموستاز بدن نقش دارد [۹]. برخی از اعمال فیزیولوژیک نیتریک اکسید عبارتند از: تنظیم تونوسیت عروقی [۱۰]، انتقال پیام‌های عصبی [۱۱]، تنظیم عملکرد پلاکت‌ها [۱۲]، تنظیم فعالیت سیستم ایمنی [۱۳] و تکامل رویان [۱۴]. به تازگی مشخص شده است که نیتریک اکسید می‌تواند سلول‌های بدن را در برابر اکسیدان‌ها محافظت کند [۱۵]. در بیماران دیابتی کاهش کارکرد سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شرایط را برای بروز استرس اکسیداتیو فراهم می‌کند [۱۶]. مالون دی‌آلدئید یکی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی است. برخی از محققین معتقدند اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید در سرم و بافت کبد می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو استفاده شود [۱۷]. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی ال‌کارنیتین و ال‌آرژینین، در این مطالعه اثر تجویز خوراکی این دو ماده بر میزان گلوکز خون و پراکسیداسیون لیپید در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی شد. همچنین، در مطالعه حاضر برای نخستین بار اثر حفاظتی تجویز توام ال‌کارنیتین و ال‌آرژینین نسبت به تجویز هریک به تنهایی مقایسه شد.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۱-۱۸۰ گرم به پنج گروه تقسیم شدند: گروه ۱؛ شاهد سالم، گروه ۲؛ شاهد دیابتی، گروه ۳؛ دیابتی تحت تیمار با ال‌کارنیتین (۳۰۰ mg/kg)، گروه ۴؛ دیابتی تحت تیمار با ال‌کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و ال‌آرژینین (۳۰۰ mg/kg) و گروه ۵؛ دیابتی تحت تیمار با ال‌کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و مهارکننده سنتز نیتریک اکسید، نیترو ال‌آرژینین (۱ mg/kg). تعداد موش‌ها در هر گروه با توجه به مقالات مشابه انتخاب شد [۱۸]. موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی آلوكسان (۱۱۰ mg/kg) دیابتی شدند. ال‌آرژینین، ال‌کارنیتین و نیترو ال‌آرژینین از شرکت سیگما (ایالات متحده) خریداری شد. برای تهیه همه محلول‌ها از سرم فیزیولوژی استفاده شد. به موش‌های گروه شاهد سرم فیزیولوژی با استفاده از سرنگ مخصوص گاواژ به مدت ۳۰ روز خوراندند. دوز محلول‌ها بر اساس مطالعات قبلی و بررسی‌های اولیه انتخاب شد [۱۹]. آنزیم‌های کبدی ALT و AST با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Selectra pro M) و با توجه به دستورالعمل کیت‌های شرکت پارس‌آزمون سنجش شد.

روش القای دیابت تجربی در موش‌ها

موش صحرایی نر با تزریق درون صفاقی آلوكسان دیابتی شدند. پودر آلوكسان (سیگما) در آب مقطر حل شد. محلول تهیه شده با دوز ۱۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها میزان قند خون آن‌ها پس از خون‌گیری از دم و توسط دستگاه گلوکومتر کنترل شد. موش‌هایی که سطح گلوکز ناشتای خون آن‌ها بیشتر از ۱۴۰ mg/dL بود، به عنوان موش‌های دیابتی در نظر گرفته شدند [۲۰]. بعد از ۳۰ روز از قلب موش‌ها خون‌گیری انجام شده و پارامترهای بیوشیمیایی سرم سنجش شد. برای سنجش کلسترول تام، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C) از کیت‌های بیوشیمیایی (پارس‌آزمون، تهران) استفاده شد [۲۱]. پروتکل این پژوهش براساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و سند مربوط به کمیته اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی تصویب و به انجام رسید (شماره سند: BP-QP-106-01).

اندازه‌گیری گلوکز سرم و میزان گلیکوزیلاسیون هموگلوبین

در پایان دوره آزمایش پس از بیهوشی با دی‌اتیل اتر از همه موش‌ها به روش داخل قلبی خون‌گیری انجام شد و از EDTA به عنوان ماده ضد انعقاد استفاده گردید. سرم پس از جداسازی در میکروتیوب‌های یک میلی‌لیتری ریخته شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان گلوکز سرم موش‌های ناشتا در زمان صفر (زمان شروع آزمایش) با استفاده از گلوکومتر و در پایان آزمایش توسط کیت بیوشیمیایی پارس‌آزمون اندازه‌گیری شد. درصد هموگلوبین گلیکته با استفاده از کروماتوگرافی تعویض یونی (کیت هموگلوبین گلیکته، شرکت بیوسستم اسپانیا) در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل آب مقطر اندازه‌گیری شد [۲۲].

اندازه‌گیری سطح بافتی مالون دی‌آلدئید

در پایان آزمایش نمونه‌های کبد همراه با بافر تریس هموژنیزه شده و محلول هموژنیزه سانتریفوژ شد. تمام مراحل ذکر شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در سردخانه دانشکده دامپزشکی زابل انجام شد. پس از پایان مرحله سانتریفوژ، محلول شفاف بالایی از بقیه محلول جدا شده و برای سنجش میزان مالون دی‌آلدئید بافتی استفاده شد. مالون دی‌آلدئید بافت کبد به وسیله تعیین مقدار مواد واکنش‌دهنده با تیو باربیتوریک اسید و دستورالعمل کیت (انزان شیمی، تهران) انجام شد. اساس این کیت اندازه‌گیری MDA به روش تیو باربیتوریک با استفاده از

اثر حفاظتی ال کارنیتین و نیتریک اکسید در موش‌های دیابتی، ...

(۳۰۰ mg/kg) سطح گلوکز سرم به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه دیابتی بدون درمان کاهش یافت (جدول شماره ۱) ( $P < 0/05$ ). در پایان دوره مطالعه گلوکز سرم در گروهی که ال آرژنین را همراه با ال کارنیتین دریافت کرده بودند، به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی بدون درمان بود (جدول شماره ۱) ( $P < 0/05$ ). سطح گلوکز سرم در گروهی که مهارکننده سنتز نیتریک اکسید را همراه با ال کارنیتین دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری با گروه دریافت‌کننده ال کارنیتین نداشت. سطح هموگوبین گلیکته سرم در گروه تحت تیمار با ال کارنیتین و ال آرژنین از گروه دیابتی بدون درمان کمتر بود (نمودار شماره ۱) ( $P < 0/05$ ). در گروه دیابتی تحت تیمار با ال کارنیتین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول سرم از گروه دیابتی بدون درمان کمتر بود ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، ال کارنیتین میزان HDL سرم را نسبت به گروه دیابتی بدون درمان افزایش داد (جدول شماره ۲) ( $P < 0/05$ ). تجویز ال کارنیتین به‌تنهایی نسبت به تجویز همزمان ال کارنیتین و ال آرژنین اثر بیشتری در کاهش مالون دی‌آلدئید بافت کبد داشت (نمودار شماره ۲) ( $P < 0/05$ ). میزان آنزیم‌های کبدی در حیوانات تحت تیمار با ال کارنیتین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی بدون درمان بود ( $P < 0/05$ ). میزان آنزیم‌های کبدی در گروه‌هایی که به‌ترتیب پیش‌ساز و مهارکننده سنتز نیتریک اکسید را همراه با ال کارنیتین دریافت کرده بودند، به‌طور معنی‌داری از گروه سوم (گروه دریافت‌کننده ال کارنیتین) بالاتر بود (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- گلوکز ناشتای موش‌های صحرایی در گروه‌های

#### آزمایشی تحت تیمار

گروه‌های آزمایشی	غلظت سرمی گلوکز	
	روز صفر (mg/dL)	روز ۳۰ (mg/dL)
شاهد سالم	۸۸/۸±۴/۶	۹۲/۳±۶/۱
دیابتی بدون درمان	۹۰/۳±۳/۹	۱۸۸/۱ <sup>b</sup> ±۵/۴
ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg)	۹۷/۴±۴/۶	۱۰۵/۳±۴/۲
دیابتی ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و ال آرژنین (۳۰۰ mg/kg)	۹۶/۵±۴/۷	۱۰۹/۳±۷
ال کارنیتین (۳۰۰ mg/kg) و نیترو ال آرژنین (۱ mg/kg)	۹۵/۲±۵/۲	۱۰۷/۵ <sup>c</sup> ±۹/۱

در هر ستون اعدادی که با حروف نامشابه a, b, c نشان داده شده‌اند، دارای

اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0/05$ ).

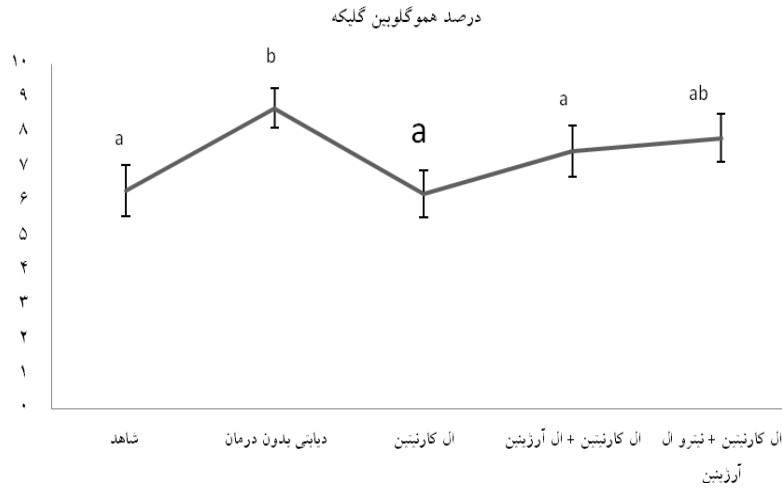
اسپکتروفتومتر است که توسط Ohkawa و همکاران در سال ۱۹۹۷ شرح داده شده است [۲۳]. براساس دستورالعمل کیت، ۱۰۰ میکرولیتر از بافت کبد هموژنیزه، آب مقطر دیونیزه و کلرید سدیم ۰/۹ درصد (به نسبت حجمی ۱: ۱: ۱) داخل لوله آزمایش ریخته شد. لوله آزمایش به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، با استفاده از یک میلی‌لیتر HCL ۰/۸ مولار که حاوی اسید تری کلرواستیک ۱۲ درصد بود، واکنش متوقف گردید. پس از اضافه کردن یک میلی‌لیتر محلول تیوباربتوریک اسید ۱ درصد، محلول به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شده و در دمای اتاق سرد گردید. محلول سرد شده به مدت ۳۰ دقیقه، دور در دقیقه، سانتریفوژ شد. جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO UV/VIS- 2100) سنجش شد [۲۴].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

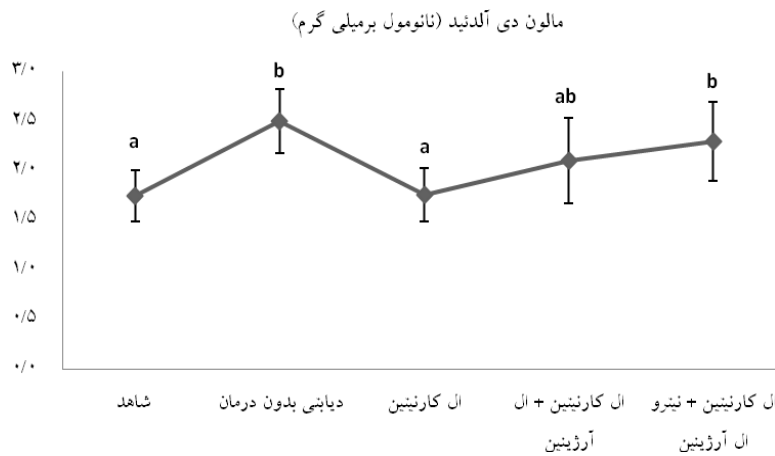
میانگین پارامترهای بیوشیمیایی سرم در تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون آماری MANOVA مقایسه شد. برای بررسی همگنی کواریانس‌ها از آزمون M باکس استفاده شد. هم‌چنین، همه مقایسه‌های دوگانه بین تیمارها با استفاده از آزمون Tukey انجام شد. گلوکز سرم و مقدار مالون دی‌آلدئید بافت کبد در پایان آزمایش در تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون One-Way ANOVA مقایسه گردید. از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. تمام نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد و  $P < 0/05$  به‌عنوان سطح معنی‌داری مشخص گردید.

#### نتایج

آزمون M باکس نشان داد که کواریانس پارامتر-های بیوشیمیایی سرم در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری ندارد ( $P = 0/120$ ). تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیره (MANOVA) نشان داد که میانگین پارامترهای بیوشیمیایی خون بین تیمارهای مورد آزمایش معنی‌دار است ( $Wilks\lambda < 000.1$ ,  $F = 36.538$ ,  $P < 000.1$ ). به‌طور ویژه هریک از پارامترهای بیوشیمیایی در بین تیمارهای مختلف باهم مقایسه شدند (جدول شماره ۱). در پایان دوره آزمایش در گروه دیابتی تحت تیمار با ال کارنیتین



نمودار شماره ۱- بررسی میزان هموگلوبین گلیکته در گروه‌های آزمایش در هر ستون اعدادی که با حروف نامشابه a,b,c نشان داده شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ ).



نمودار شماره ۲- سطح مالون دی آلدئید بافت کبد در گروه‌های آزمایش در هر ستون اعدادی که با حروف نامشابه a,b,c نشان داده شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ ).

جدول شماره ۲- پارامترهای بیوشیمیایی سرم در مرحله دوم آزمایش

پارامتر	دیابتی		سالم	
	آل کارنتینین (۳۰۰ mg/kg) و نیترو آل آرژینین (۱ mg/kg)	آل کارنتینین (۳۰۰ mg/kg)	دیابتی بدون درمان	شاهد
کلسترول (mg/dL)	۱۲۸ <sup>b</sup> ± ۹/۵	۱۳۰/۴ <sup>b</sup> ± ۸/۸	۸۴/۹ <sup>a</sup> ± ۱۰/۶	۸۸/۳ <sup>a</sup> ± ۱۱/۱
تری گلیسرید (mg/dL)	۱۸۸/۳ <sup>b</sup> ± ۱۱/۴	۱۸۷/۷ <sup>b</sup> ± ۹/۸	۱۱۰ <sup>a</sup> ± ۱۱/۸	۱۱۲/۶ ± ۱۰/۶
HDL-C (mg/dL)	۱۰/۳ <sup>b</sup> ± ۳/۵	۱۹/۳ <sup>c</sup> ± ۶/۱	۲۹/۲ <sup>c</sup> ± ۴/۹	۴۰/۶ <sup>a</sup> ± ۶
AST (U/L)	۲۲۶/۴ <sup>b</sup> ± ۱۰/۷	۲۰۲ <sup>b</sup> ± ۹/۲	۱۶۵/۸ <sup>c</sup> ± ۹/۳	۱۰۴/۳ <sup>a</sup> ± ۵/۶
ALT (U/L)	۲۳۷/۴ <sup>b</sup> ± ۱۰/۲	۲۴۰ <sup>b</sup> ± ۸/۱	۲۰۲/۱ <sup>c</sup> ± ۱۰/۹	۱۳۵/۲ <sup>a</sup> ± ۱۰/۵

در هر ستون اعدادی که با حروف غیرمشترک a,b,c نشان داده شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ ).

رادیکال‌های آزاد و آسیب میتوکندریال ناحیه هیپوکمپ در موش‌های صحرایی درمان شده با ال کارنیتین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه بدون تیمار بوده است [۲۹]. افزودن روزانه  $250 \text{ mg/kg}$  ال کارنیتین به آب آشامیدنی موش‌های صحرایی دیابتی فشار خون را به‌طور معنی‌دار کاهش داده است. به‌نظر می‌رسد ال کارنیتین از طریق افزایش سطح نیتریک اکسید و کاهش فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین موجب کاهش فشار خون در موش‌های دیابتی می‌شود [۳۰]. در پژوهش حاضر پیش‌ساز و مهارکننده سنتز نیتریک اکسید تاثیری مشابه بر هموگلوبین گلیکته داشتند؛ بدین‌صورت که تجویز ال آرژنین و نیترو ال آرژنین سبب کاهش اثر ال کارنیتین بر هموگلوبین گلیکته سرم شد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد اثر ال کارنیتین بر قندی شدن هموگلوبین احتمالاً به‌طور مستقل از ال آرژنین و سیستم نیتریک اکسید انجام می‌شود. فرضیه محتمل دوم این است که ال کارنیتین اثرات خود از طریق سیستم نیتریک اکسید درون‌زاد و با واسطه ساخت و آزادسازی مداوم نیتریک اکسید اعمال می‌کند؛ برای اثبات این فرضیه‌ها نیاز است آزمایش‌های بیشتر انجام شود. در مطالعه حاضر تجویز ال کارنیتین نتوانست میزان مالون دی‌آلدئید بافت کبد را کاهش دهد. کاهش مالون دی‌آلدئید بافت کبد می‌تواند مربوط به اثر آنتی‌اکسیدانی و یا اثرات کاهنده قند و کاهنده چربی ال کارنیتین باشد. تجویز هم‌زمان ال کارنیتین و مهارکننده سنتز نیتریک اکسید سبب مهار اثر ال کارنیتین شد و در نتیجه مالون دی‌آلدئید بافت کبد افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد مهارکننده سنتز نیتریک اکسید از اثر ال کارنیتین بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند. یک فرضیه محتمل این است که اثر ال کارنیتین در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم به نیتریک اکسید مربوط می‌شود. برای آزمایش این فرضیه اثر تجویز هم‌زمان ال کارنیتین و ال آرژنین بررسی شده است. نتایج بررسی‌های قبلی نشان داده است که ال آرژنین تاثیر مستقیم بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ندارد، اما می‌تواند با افزایش تولید پایه نیتریک اکسید استرس اکسیداتیو را به‌طور غیرمستقیم کاهش دهد [۳۱].

#### نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد ال کارنیتین در مقایسه با ال آرژنین اثر بیشتری در کاهش عوارض ثانویه بیماری دیابت دارد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر تجویز هم‌زمان این دو ماده به بیماران دیابتی توصیه نمی‌شود. پیشنهاد می‌شود در بررسی‌های آینده اثر ال کارنیتین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز بررسی شود.

#### بحث

امروزه گرایش به‌سوی ساخت داروهای جدید با کارایی بیشتر و عوارض جانبی کمتر در حال گسترش است. خواص آنتی‌اکسیدانی ال کارنیتین و نقش آن در کاهش عوارض دیابت، در مطالعات قبلی ثابت شده است. در بررسی حاضر تجویز خوراکی ال کارنیتین سبب کاهش معنی‌دار گلوکز و هموگلوبین گلیکته سرم موش‌های صحرایی دیابتی شد. همچنین، تجویز ال کارنیتین نتوانست میزان هموگلوبین گلیکته را که شاخص تغییرات درازمدت قندخون است، به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. نتایج این بررسی با نتایج مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت [۲۶، ۲۵]. ال کارنیتین با افزایش انتشار تسهیل شده گلوکز به درون سلول و فعال کردن برخی آنزیم‌های مسیر گلیکولیز نقش مهمی در کاهش قند خون دارد [۲۷]. در بررسی حاضر تجویز پیش‌ساز سنتز نیتریک اکسید، اثر واضحی بر قند خون نداشت، همچنین، تجویز مهارکننده سنتز نیتریک اکسید همراه با ال کارنیتین نتوانست از اثر هیپوگلیسمیک ال کارنیتین جلوگیری کند. در مطالعات قبلی تجویز خوراکی ال آرژنین به بیماران دیابتی به‌مدت ۶۰ روز (سه بار در روز و هر بار به میزان ۲ گرم) تاثیری بر قند خون و هموگلوبین گلیکوزیله و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم نداشته است [۲۸]. در بررسی ما تجویز هم‌زمان ال آرژنین همراه با ال کارنیتین قند خون را به میزان کمتر (در مقایسه با تجویز ال کارنیتین به‌تنهایی) کاهش داد. احتمالاً تجویز هم‌زمان این دو ماده سبب کاهش جذب هر دو از دستگاه گوارش و اختلال در عملکرد آن‌ها می‌شود. در مطالعه حاضر تجویز خوراکی ال کارنیتین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید را نسبت به گروه دیابتی بدون درمان کاهش داد، اما با این وجود، میزان پارامترهای گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های صحرایی سالم بود. تجویز ال کارنیتین با دوز  $300 \text{ mg/kg}$  آنزیم‌های کبدی AST و ALT را نسبت به گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار کاهش داد. آمینوترانسفرازها مانند AST و ALT حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد هستند. این آنزیم‌ها به‌طور معمول داخل سلول‌های کبدی قرار دارند، زمانی که کبد دچار آسیب می‌شود سلول‌های کبدی آنزیم‌ها را وارد جریان خون می‌کنند. بالارفتن سطح آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است. کاهش آنزیم‌های کبدی در گروه دریافت‌کننده ال کارنیتین نشان می‌دهد ال کارنیتین نه تنها اثر مخرب بر بافت کبد ندارد، که می‌تواند سبب کاهش آسیب کبدی شود؛ البته اثبات این فرضیه نیازمند تحقیقات بیشتر است. مطالعات Hino و همکاران نشان داد تجویز ال کارنیتین می‌تواند آسیب مغزی ناشی از هیپوگلیسمی را در موش صحرایی کاهش دهد. همچنین، بررسی بیوشیمیایی نشان داد میزان تشکیل

## تشکر و قدردانی

از همکاری اعضای محترم آن گروه و نیز کارکنان مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه زابل قدردانی به عمل می‌آید.

هزینه‌های انجام این مطالعه توسط گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل تامین گردیده است. بدین وسیله

## References:

- [1] Carlsson PO, Schwarcz E, Korsgren O, Le Blanc K. Preserved  $\beta$ -Cell Function in Type 1 Diabetes by Mesenchymal Stromal Cells. *Diabetes* 2015; 64(2): 587-92.
- [2] Bosetti C, Franchi M, Nicotra F, Ascitto R, Merlino L, La Vecchia C, et al. Insulin and other antidiabetic drugs and hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study based on Italian healthcare utilization databases. *Pharmacoepidemiol Drug Safety* 2015; 24(7): 771-8.
- [3] Tabatabaei-Malazy O, Atlasi R, Larijani B, Abdollahi M. Trends in publication on evidence-based antioxidative herbal medicines in management of diabetic nephropathy. *J Diabetes Metab Disord* 2016; 15(1): 1.
- [4] Parandak K, Arazi H, Khoshkharesh F, Nakhostin-Roohi B. The Effect of Two-Week L-Carnitine Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress and Muscle Damage. *Asian J Sports Med* 2014; 5(2): 123.
- [5] Cruciani RA, Dvorkin E, Homel P, Culliney B, Malamud S, Shaiova L, et al. L-carnitine supplementation for the treatment of fatigue and depressed mood in cancer patients with carnitine deficiency: a preliminary analysis. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1033: 168-76.
- [6] Kobayashi A, Masumura Y, Yamazaki N. L-Carnitine Treatment for Congestive Heart Failure. Experimental and clinical study. *Jpn Circ J* 1992; 56(1): 86-94.
- [7] Sorlin A, Briand G, Cheillan D, Wiedemann A, Montaut-Verient B, Schmitt E, et al. Effect of L-Arginine in One Patient with Peroxisome Biogenesis Disorder due to PEX12 Deficiency. *Neuropediatrics* 2016; 47(3): 179-81.
- [8] Cao Y, Feng Y, Zhang Y, Zhu X, Jin F. L-Arginine supplementation inhibits the growth of breast cancer by enhancing innate and adaptive immune responses mediated by suppression of MDSCs in vivo. *BMC Cancer* 2016; 16(1): 1.
- [9] Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 2012; 33(7): 829-37.
- [10] Lidder S, Webb AJ. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *Br J Clin Pharmacol* 2013; 75(3): 677-96.
- [11] Campos AC, Piorino EM, Ferreira FR, Guimarães FS. Increased nitric oxide-mediated neurotransmission in the medial prefrontal cortex is associated with the long lasting anxiogenic-like effect of predator exposure. *Behav Brain Res* 2013; 256: 391-7.
- [12] Pimentel AM, Pereira NR, Costa CA, Mann GE, Cordeiro VS, de Moura RS, et al. L-arginine-nitric oxide pathway and oxidative stress in plasma and platelets of patients with pre-eclampsia. *Hypertension Res* 2013; 36(9): 783-8.
- [13] Rios EC, de Lima TM, Moretti AI, Soriano FG. The role of nitric oxide in the epigenetic regulation of THP-1 induced by lipopolysaccharide. *Life Sci* 2016; 147: 110-6.
- [14] Wu G, Bazer FW, Satterfield MC, Li X, Wang X, Johnson GA, et al. Impacts of arginine nutrition on embryonic and fetal development in mammals. *Amino Acids* 2013; 45(2): 241-56.
- [15] Solini A, Rossi C, Duranti E, Taddei S, Natali A, Virdis A. Saxagliptin prevents vascular remodeling and oxidative stress in db/db mice. Role of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and cyclooxygenase. *Vasc Pharmacol* 2016; 76: 62-71.
- [16] Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother* 2005; 59(7): 365-73.
- [17] Chen J, Zeng L, Xia T, Li S, Yan T, Wu S, et al. Toward a biomarker of oxidative stress: a fluorescent probe for exogenous and endogenous malondialdehyde in living cells. *Analytical Chemistry* 2015; 87(16): 8052-6.
- [18] Al-Rubiey FK. Effect of L-carnitine and meloxicam treatment on testicular leydig cell numbers of varicocele rats. *Middle East Fertil Soc J* 2012; 17(1): 47-53.
- [19] Petruzzella V, Baggetto LG, Penin F, Cafagna F, Ruggiero FM, Cantatore P, et al. In vivo effect of acetyl-L-carnitine on succinate oxidation, adenine nucleotide pool and lipid composition of synaptic and non-synaptic mitochondria from cerebral hemispheres of senescent rats. *Arch Gerontol Geriatr* 1992; 14(2): 131-44.
- [20] Hajinezhad MR, Davari SA, Esmaeel Zadeh S, Miri HR, Akbari M. Protective effect of hydro alcoholic extract from *Prosopis farcta* leaves on lipid peroxidation of serum and liver tissue in diabetic rats. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2015; 7(2): 267-78. [in Persian]
- [21] Ashraf H, Heydari R, Nejati V, Ilkhanipoor M. Preventive Effect of *Berberis Integerrima* on the Serum Levels of Glucose and Lipids in Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetes in Rats. *JFUMS* 2012; 2(3): 148-55. [in Persian]

- [22] Hajinezhad MR, Shapari A, Hajian Shahri S, Sarani F, Salehimoghadam M. Effect of Hydroalcoholic Extract of Berberis Vulgaris Root on Serum Levels of Glucose, Malondehyde and HbA1c in Diabetic Rats. *J Neyshabur Univ Med Sci* 2015; 3(3): 21-8. [in Persian]
- [23] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-8.
- [24] Hajinezhad M, Esmael Zadeh Bahabadi S, Miri H, Davari I, Darvish Sargazi M. Effect of Hydroalcoholic Extract of Prosopis farcta Pod on Liver Histopathology and Malondialdehyde Level in Streptozotocin Diabetic Rats. *Horizon Med Sci* 2015; 21(1): 31-6. [in Persian]
- [25] Malone JL, Cuthbertson DD, Malone MA, Schocken DD. Cardio-protective effects of carnitine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol* 2006; 5(1): 1.
- [26] Rahbar AR, Shakerhosseini R, Saadat N, Taleban F, Pordal A, Gollestan B. Effect of L-carnitine on plasma glycemc and lipidemic profile in patients with type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(4): 592-6.
- [27] Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Benedetti G, Giancaterini A, Gaetano AD, et al. L-carnitine improves glucose disposal in type 2 diabetic patients. *J Am Coll Nutr* 1999; 18(1): 77-82.
- [28] Jablecka A, Bogdanski P, Balcer N, Cieslewicz A, Skoluda A, Musialik K. The effect of oral L-arginine supplementation on fasting glucose, HbA1c, nitric oxide and total antioxidant status in diabetic patients with atherosclerotic peripheral arterial disease of lower extremities. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16(3): 342-50.
- [29] Hino K, Nishikawa M, Sato E, Inoue M. L-carnitine inhibits hypoglycemia-induced brain damage in the rat. *Brain Res* 2005; 1053(1): 77-87.
- [30] Sharifi A, Ghaderpanahi M, Mazhari S. The effect of L-carnitine on serum nitric oxide level and angiotensin converting enzyme activity in STZ-Induced diabetic and normal rats. *Iran J Diabetes Lipid* 2007; (3): 225-34.