

مقایسه‌ی اثر آل-کارنیتین در مراحل مختلف بارداری بر اختلال حافظه‌ی ناشی از مواجهه با الکل در فرزندان بالغ رت

زهرا ایران پور^۱، علی حسینی شریف آباد^۲، محمد ربانی^۳، محمد سیدآبادی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اثرات محافظت نورونی آل-کارنیتین در مقابله با آسیب‌های ناشی از مواجهه جنینی با اتانول، به اثبات رسیده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر دوزهای متفاوت آل-کارنیتین در دوره‌های مختلف بارداری رت بر حافظه‌ی فرزندان دو ماهه‌ای که مادران شان در دوران بارداری الکل مصرف کرده‌اند، می‌باشد.

روش‌ها: ۵۵ سر رت ماده باردار به شکل تصادفی در ۱۱ گروه ۵ تایی دسته‌بندی شدند. گروه شاهد، آب آشامیدنی و گروه اتانول، آب آشامیدنی حاوی اتانول ۱۰ درصد (w/v) دریافت کردند. گروه‌های تحت درمان با آل-کارنیتین، علاوه بر اتانول، دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۱۵۰ mg/kg آل-کارنیتین را در دهه‌ی اول یا دوم بارداری دریافت نمودند. برای شبیه‌سازی سه ماهه‌ی سوم، دوزهای آل-کارنیتین به مدت ۱۰ روز به نوزادان رت‌ها گاوژ شد. در نهایت پس از دو ماه از تولد، حافظه‌ی فرزندان به روش‌های آزمون اجتنابی غیرفعال (PAT) (Passive avoidance task) و آزمون تشخیص شیء جدید (ORT) (Novel object recognition test) ارزیابی شد.

یافته‌ها: تجویز آل-کارنیتین باعث افزایش معنی‌دار شاخص تمایز در ORT و زمان تأخیر در ورود به محفظه‌ی تاریک در PAT توسط فرزندان دو ماهه در مقایسه با گروه اتانول شد. دوز ۱۵۰ mg/kg آن نسبت به دوز ۵۰ mg/kg در تمام دوره‌ها، شاخص‌های ذکر شده را به صورت معنی‌دار افزایش داد. این شاخص‌ها زمانی که آل-کارنیتین در ۱۰ روز دوم بارداری تجویز شدند نسبت به بقیه‌ی دوره‌ها، اختلاف معنی‌دار داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از آل-کارنیتین در دوران بارداری، توانست از اختلال حافظه‌ی ناشی از اتانول در فرزندان رت جلوگیری کند. این اثر با دوزهای بالاتر آل-کارنیتین بیشتر بود. بهترین پاسخ، زمانی دیده شد که آل-کارنیتین در ۱۰ روز دوم بارداری به مادران تجویز گردید.

واژگان کلیدی: کارنیتین؛ اختلالات حافظه؛ اتانول؛ بارداری

ارجاع: ایران پور زهرا، حسینی شریف آباد علی، ربانی محمد، سیدآبادی محمد. **مقایسه‌ی اثر آل-کارنیتین در مراحل مختلف بارداری بر اختلال حافظه‌ی**

ناشی از مواجهه با الکل در فرزندان بالغ رت. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۷): ۲۳۰-۲۳۳

مقدمه

در جوامع مختلف، مصرف الکل در حال گسترش است ولی توصیه به قطع مصرف آن در دوران بارداری شده است (۱). مصرف الکل در بارداری، باعث ایجاد عوارض نوروژنیک در مادر و جنین می‌شود، ولی آثار سوء مصرف الکل بر روی جنین شدیدتر است؛ زیرا جنین متابولیسم کندتری داشته و غلظت خونی الکل در او بالاتر می‌رود (۲).

ناهنجاری جنینی ناشی از الکل (Fetal alcohol spectrum disorders) (FASD)، اصطلاحی رایج است که در توصیف فرزندان جنین مادرانی

استفاده می‌شود که شامل مجموعه‌ای از علائم جسمی و عصبی می‌باشد (۱، ۲). از مهم‌ترین عوارض الکل بر جنین، اثر منفی آن بر پروسه‌های یادگیری و حافظه‌ی نوزادان و کودکان است که می‌تواند ناشی از افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اختلال در متابولیسم میتوکندریایی، اختلال در عملکرد نوروترانسمیترهایی نظیر گلوتامات، گابا و در نهایت، افزایش آپوپتوز نورونی باشد (۳، ۴).

بدیهی است که بهترین راه جلوگیری از بروز آسیب بر سیستم عصبی جنین، قطع مصرف الکل است. اما با توجه به وابستگی ناشی

۱- دانشجوی داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- دانشیار، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳- استاد، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- استادیار، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: علی حسینی شریف آباد؛ دانشیار، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: z.iranpour7392@gmail.com

می‌باشد، شاید بتواند به طور کلی از تأثیر عوامل آسیب‌رسان جلوگیری کرده و یا این اثرات را خنثی نماید.
با توجه به مطالب ذکر شده، این مطالعه قصد دارد تا تأثیر دوزهای متفاوت ال-کارنیتین تجویز شده در دوره‌های مختلف بارداری در رت را بر میزان یادگیری و حافظه‌ی فرزندان دو ماهه‌ی رت که مادران‌شان در دوران بارداری الکل مصرف کرده‌اند، ارزیابی نماید.

روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه: در این مطالعه، تعداد ۵۵ سر رت ماده‌ی باردار با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم، که توسط کارشناس خیره روز اول بارداری آن‌ها به اثبات رسید، از لانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی داروسازی اصفهان دریافت شد. رت‌ها به شکل تصادفی در ۱۱ گروه ۵ تایی دسته‌بندی و هر گروه در قفس‌هایی بزرگ نگهداری شدند. همه‌ی گروه‌ها دسترسی آسان به آب و غذای استاندارد داشتند و در شرایط استاندارد از نظر دما و رطوبت و سیکل تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. از حیوانات بر اساس پروتکل مصوب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های زیستی، نگهداری و استفاده شد. این تحقیق با کد اخلاق (IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.120) در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب گردید.

مواد مورد استفاده: در مطالعه‌ی حاضر از محلول خوراکی ال-کارنیتین (BSK, Iran)، اتانول ۹۶ درصد (Merck, USA) و سدیم ساخارین (Merck, USA) به عنوان شیرین‌کننده استفاده شد. از آب مقطر به عنوان حلال ویال‌های ال-کارنیتین استفاده گردید. آب شهری به عنوان حلال برای تهیه‌ی محلول اتانولی ۱۰ درصد (w/v) استفاده شد. تمام محلول‌های دارویی به صورت روزانه تهیه می‌شدند. در انتهای مطالعه برای قربانی کردن رت‌ها، از ایزوفلوران (PIRAMAL, India) به صورت استنشاقی استفاده شد.

تجویز مواد به حیوانات: در این مطالعه، اتانول با غلظت ۱۰ درصد (w/v) در آب آشامیدنی شیرین شده با سدیم ساخارین ۰/۰۶۶ درصد و طبق دستورالعمل Allan و همکاران در تمام دوران بارداری به رت‌های ماده‌ی باردار خوراندند شد (۱۵). گروه‌های حیوانی بر اساس فهرست زیر با ال-کارنیتین یا حامل تیمار شدند:

گروه شاهد: این گروه از حیوانات در طول دوره‌ی بارداری، تنها آب آشامیدنی به صورت مستمر دریافت نمودند.

گروه اتانول: در کنار دریافت اتانول ۱۰ درصد در دوره‌ی بارداری، حامل ال-کارنیتین را نیز به صورت گاوژ دریافت نمودند.

گروه‌های ال-کارنیتین دهی اول بارداری: ضمن دریافت اتانول ۱۰ درصد در طول بارداری، بسته به زیرگروه خود، هر یک از دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۱۵۰ ال-کارنیتین را در ۱۰ روز اول

از الکل در مادران و عدم همراهی آن‌ها در این رابطه، مصرف ترکیباتی که علاوه بر ایمن بودن و عبور از جفت، بتوانند از عوارض ناشی از الکل جلوگیری کنند و یا آن‌ها را کاهش دهند، امری ضروری به نظر می‌رسد. از جمله ترکیباتی که به این منظور مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند می‌توان به لووتیروکسین، کولین، ویتامین E و C اشاره کرد (۸-۵). در این میان، ترکیباتی که اثرات آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند و باعث بهبود روند متابولیسم سلولی می‌شوند، بیشتر مورد توجه و استقبال محققین قرار گرفته‌اند.

ال-کارنیتین (ال-۳-هیدروکسی-۴-اکسی-۴-ان، ان، ان-تری‌متیل‌آمینوبوتیرات) ترکیبی محلول در آب است که وظیفه‌ی اصلی آن انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیر به میتوکندری برای انجام بتااکسیداسیون است. از اثرات فیزیولوژیک مهم دیگر ال-کارنیتین می‌توان به خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی آن اشاره کرد (۹). این ترکیب می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD (Superoxide dismutase)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPx (Glutathione peroxidase) و کاتالاز (Catalase) شده و با کمک ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآزمی نظیر گلوکاتایون (GSH (Glutathione) و توکوفرول، از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد بر ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک در بخش‌های مختلف مغز بکاهد (۱۰).

در سلول‌های عصبی ال-کارنیتین با جابه‌جایی استیل، زمینه را برای تولید استیل‌کولین و استیل-ال-کارنیتین در مغز فراهم می‌کند. تجویز ال-کارنیتین در شرایط اختلال متابولیک که بدن در برابر کاهش آدنوزین تری‌فسفات (ATP (Adenosine triphosphate) آسیب‌پذیر است، حائز اهمیت می‌باشد زیرا با ورود اسیدهای چرب بلند زنجیر به داخل میتوکندری و شروع چرخه‌ی کریس و نیز بتا اکسیداسیون آن‌ها باعث تولید آدنوزین تری‌فسفات (ATP) می‌شود که نقش مؤثری در تولید انرژی ایفا می‌نماید. همچنین ال-کارنیتین به عنوان ماده‌ی اولیه در ساخت لیپیدها، میلیناسیون، رشد سلولی و یا در ساختار گلوتامات، گلوتامین و گابا به کار گرفته می‌شود (۱۱، ۱۲). در ضمن، ال-کارنیتین می‌تواند جذب گوارشی و سطح خونی اتانول و همچنین تمایل به مصرف آن را در افراد معتاد به الکل کاهش دهد. بنابراین، از این طریق نیز می‌تواند عوارض اتانول را کاهش دهد (۱۳).

با توجه به اینکه رشد و تکامل مغز و تکمیل پروسه‌های عصبی در دوره‌های مختلف بارداری متفاوت است، بنابراین تأثیر عوامل آسیب‌رسان بر آن و یا عوامل خنثی‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد، بر اساس زمان تجویز آن‌ها، می‌تواند متفاوت باشد (۱۴). بدیهی است که تجویز ترکیبات نوروپروتکتیو زمانی که مغز جنین فعالانه در حال شکل‌گیری، رشد و تکمیل پروسه‌های حیاتی فیزیولوژیک خود

بارداری خود به شکل گاوآژ دریافت کردند.

گروه‌های ال-کارنیتین دهه‌ی دوم بارداری: ضمن دریافت اتانول ۱۰ درصد در طول بارداری، بسته به زیرگروه خود، هر یک از دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۱۵۰ ال-کارنیتین را در ۱۰ روز دوم بارداری خود به شکل گاوآژ دریافت نمودند.

گروه‌های ال-کارنیتین دهه‌ی سوم بارداری (۱۰ روز اول نوزادی): این گروه‌ها شامل رت‌های بارداری بودند که در دوران بارداری، اتانول ۱۰ درصد در آب آشامیدنی را دریافت کردند و اکنون به منظور شبیه‌سازی سه ماهه‌ی سوم بارداری، نوزادان آن‌ها تا ۱۰ روز پس از تولد، مورد تیمار با ال-کارنیتین قرار گرفتند. نوزادان این رت‌ها بسته به زیرگروه خود هر یک از دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۱۵۰ ال-کارنیتین را به مدت ۱۰ روز پیاپی از طریق گاوآژ دریافت کردند.

گاوآژ به رت‌ها بین ساعت ۸ الی ۱۰ صبح انجام گرفت. در ۵ روز اول پس از تولد، مادران، اتانول را به صورت کاهشی از ۱۰ درصد تا ۲/۵ درصد دریافت کردند تا دچار سندرم قطع مصرف نگردند. پس از تولد، به طور میانگین، تعداد ۱۳ نوزاد نر در هر گروه در نظر گرفته شد که وزن آن‌ها ۵/۷-۶/۳ گرم بود. نوزادان تا ۲۳ روز در کنار مادر خود برای شیردهی نگهداری شدند. پس از آن، آن‌ها را جدا کرده و در قفس‌هایی که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند، نگهداری شدند. وزن نوزادان پس از دو ماه به ۱۷۰/۱۴۵-۱۷۰/۴۷ گرم رسید و فعالیت شناختی رت‌های فرزند نر با دو روش آزمون اجتنابی غیرفعال (PAT) و آزمون تشخیص شیء جدید (Object recognition test) (ORT) مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی فعالیت شناختی: آزمون اجتنابی غیرفعال: این آزمون بر اساس آنچه در مطالعه‌ی Safavi و همکاران (۱۶) توضیح داده شده، صورت گرفت. به طور خلاصه در این روش، هر رت در اتاقک روشنی قرار گرفت که با یک درب از اتاقک تاریک مجاور جدا شده است. پس از ۶ ثانیه، درب واسط باز می‌شد و رت، ۳ دقیقه فرصت داشت تا به محفظه‌ی تاریک برود. پس از ورود، درب بسته شده و شوک ۱ میلی‌آمپر به رت وارد می‌شد. این مرحله، فاز آموزش بود و سپس موش به قفس برگردانده شد. ۲۴ ساعت بعد، مرحله‌ی آزمون انجام گرفت که در آن، رت در اتاقک روشن رها شد. و پس از ۶ ثانیه درب باز شد و به حیوان به مدت ۳ دقیقه فرصت داده شد تا وارد محفظه‌ی تاریک شود. زمان تأخیر در ورود به اتاقک تاریک (یا مدت زمان ماندن در اتاقک روشن Latency time) به عنوان پارامتر نشان‌دهنده‌ی حافظه‌ی حیوان ثبت گردید.

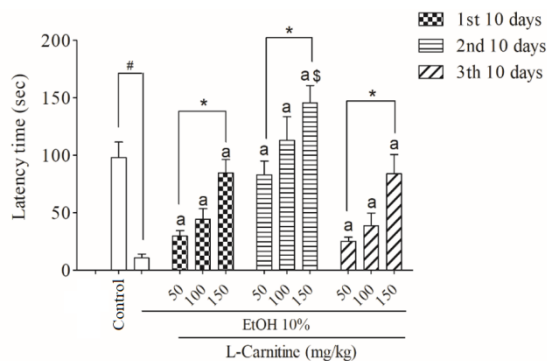
آزمون تشخیص شیء جدید: این آزمون بر اساس آنچه در مطالعه‌ی حسینی شریف‌آباد و همکاران (۱۷) توضیح داده شده، صورت گرفت. در مرحله‌ی آموزش، به حیوان ۵ دقیقه فرصت داده

شد تا دو شیء یکسان که با فاصله‌ی مشخص از هم در یک عرصه‌ی دایره‌ای قرار گرفته‌اند را اکتشاف کند. ۲۴ ساعت بعد در مرحله‌ی آزمون، حیوان به مدت ۵ دقیقه در همان عرصه و در مواجهه با یک شیء آشنا و یک شیء جدید قرار داده شد تا اشیاء را اکتشاف کند. شاخص تمایز (Discrimination index) d_2 که عبارت است از اختلاف زمان صرف شده برای کاوش شیء جدید و شیء آشنا تقسیم بر مجموع زمان صرف شده برای اکتشاف هر دو شیء، به عنوان معیاری برای سنجش حافظه در نظر گرفته شد.

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism و Two-way ANOVA انجام شد. جهت مقایسه‌ی آماری تفاوت بین گروه‌های مختلف پس از Two-way ANOVA از آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شد. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها به دست آمد.

یافته‌ها

در بررسی اثر مصرف اتانول در بارداری بر فاکتورهای زمان تأخیر در PAT و شاخص تمایز در ORT فرزندان دو ماهه‌ی رت، با افزودن ۱۰ درصد اتانول به آب آشامیدنی رت‌های باردار، کاهش معنی‌داری در معیار زمان تأخیر ورود به اتاقک تاریک در آزمون PAT نسبت به گروه شاهد ($P < 0/001$) و کاهش قابل ملاحظه‌ای در شاخص تمایز (d2) در آزمون ORT فرزندان دو ماهه‌ی آن‌ها نسبت به گروه شاهد گردید ($P < 0/001$) (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. اثر تجویز دوزهای متفاوت ال-کارنیتین در دوره‌های مختلف بارداری بر معیار زمان تأخیر در آزمون PAT در فرزندان دو ماهه‌ی رت که در دوران جنینی با الکل مواجه بودند. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است.

نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد با $P < 0/001$ می‌باشد، a نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه اتانول با $P < 0/001$ می‌باشد، * نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه‌های نشان داده شده با $P < 0/001$ است، † نشانگر اختلاف معنی‌دار با ۱۰ روز اول و سوم بارداری با $P < 0/001$ می‌باشد. Latency time: معیار زمان تأخیر در ورود به اتاقک تاریک، ETOH: اتانول، sec: ثانیه، Control: کنترل.

در معیار زمان تأخیر ورود به اتاقک تاریک در آزمون PAT و شاخص تمایز در آزمون ORT فرزندان دو ماهه‌ی آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد گردید. نکته‌ی قابل توجه این بود که به عنوان مثال، دوز ۱۵۰ mg/kg ال-کارنیتین که بهترین پاسخ را در بین تمام دوزهای به کار رفته نشان داد، زمانی که در فاز دوم (۱۰ روز دوم) بارداری تجویز شد، باعث افزایش قابل توجه در معیارهای بیان شده نسبت به تجویز در فازهای اول و سوم بارداری گردید ($P < 0/001$) (شکل ۱ و ۲).

بحث

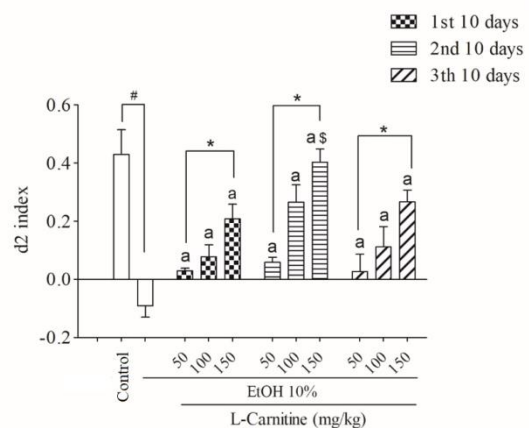
طبق بررسی‌های ما، در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار، تأثیر دوزهای مختلف ال-کارنیتین، طی دوره‌های مختلف بارداری رت بر روی فعالیت شناختی فرزندان دو ماهه‌ی که در دوران جنینی در مواجهه با الکل بودند، بررسی گردید. تاکنون مطالعه‌ای با هدف ارزیابی نقش متفاوت تجویز ال-کارنیتین در دوره‌های مختلف بارداری منتشر نشده است (۱۸، ۱۹). در این مطالعه الکل به شکل خوراکی در آب آشامیدنی به میزان ۱۰ درصد تجویز شد. علت استفاده از این روش، غیرتهاجمی بودن، مرگ و میر کمتر و شباهت بیشتر به نحوه‌ی مصرف الکل در انسان بود (۲۰).

طبق یافته‌های این مطالعه، همانند بسیاری از مطالعات دیگر، مصرف الکل در دوران بارداری، باعث ایجاد اختلالات شناختی در فرزندان بالغ گردید (۳، ۴، ۲۰، ۲۱). علت آسیب‌های آناتومیک و عملکردی به سیستم عصبی مرکزی متعاقب مواجهه با الکل را به تغییر عملکرد جفت، هیپوکسی جنین، اختلال در عملکرد میتوکندری سلول‌های مغز، کاهش ATP، افزایش میزان رادیکال‌های آزاد، استرس‌های اکسیداتیو و افزایش آپوپتوز سلولی نسبت می‌دهند (۲، ۴، ۲۲).

مطالعاتی همسو با نتایج مطالعه‌ی حاضر وجود دارند که اثر محافظتی ترکیبات مختلف را جهت مقابله با اثر سوء اتانول بر حافظه‌ی فرزندان که در دوران جنینی با الکل مواجه بودند، اثبات می‌کنند. اگرچه در طول مدت تجویز، دوز، مدت بررسی حافظه و روش‌های تجویز با مطالعه‌ی فعلی تفاوت‌هایی داشته‌اند. به عنوان مثال Mahdinia و همکاران، اثرات مثبت ویتامین E بر حافظه‌ی تخریب شده‌ی ناشی از اتانول در بارداری را با آزمون حافظه‌ی ماز آبی موریس اثبات کرده‌اند (۷).

در مطالعه‌ی دیگر که توسط Waddell و همکاران انجام شد، اثرات مثبت کولین بر حافظه‌ی تخریب شده‌ی ناشی از اتانول در بارداری را با آزمون حافظه‌ی ماز تی اثبات کردند (۶).

در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که دوزهای مختلف ال-کارنیتین، باعث بهبود حافظه‌ی تخریب شده‌ی ناشی از مواجهه‌ی جنین با الکل در فرزندان دو ماهه‌ی رت می‌شود. ال-کارنیتین،



شکل ۲: اثر تجویز دوزهای متفاوت ال-کارنیتین در دوره‌های مختلف بارداری بر شاخص تمایز در ORT در فرزندان دو ماهه‌ی رت که در دوران جنینی با اتانول مواجه بودند. داده به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است.

نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد با $P < 0/001$ می‌باشد، a نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه اتانول با $P < 0/001$ است، ° نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه‌های نشان داده شده با $P < 0/001$ می‌باشد، § نشانگر اختلاف معنی‌دار با ۱۰ روز اول و سوم بارداری با $P < 0/001$ است. d2 index: شاخص تمایز، EtOH: اتانول، Control: کنترل.

اثر مصرف دوزهای متفاوت ال-کارنیتین در دوران بارداری بر فاکتورهای زمان تأخیر در PAT و شاخص تمایز در ORT فرزندان دو ماهه بدین صورت بود که با تجویز دوزهای ۵۰ mg/kg یا ۱۰۰ یا ۱۵۰ ال-کارنیتین در هر کدام از فازهای بارداری در گروهی که اتانول ۱۰ درصد در آب آشامیدنی استفاده می‌کردند، باعث شد که فرزندان دو ماهه‌ی آن‌ها در معیار زمان تأخیر ورود به اتاقک تاریک در آزمون PAT نسبت به فرزندان گروه اتانول افزایش معنی‌داری نشان دهند ($P < 0/001$). در آزمون ORT نیز افزایش قابل توجهی در شاخص تمایز در فرزندان دو ماهه‌ی رت‌هایی که مادران آن‌ها دوزهای متفاوت ال-کارنیتین را دریافت کرده بودند، نسبت به گروه اتانول مشاهده شد ($P < 0/001$). در هر سه فاز بارداری ال-کارنیتین با دوز ۱۵۰ mg/kg اختلاف قابل توجهی را در معیار زمان تأخیر و شاخص تمایز در فرزندان دو ماهه‌ی رت نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی ال-کارنیتین با دوز ۵۰ mg/kg نشان داد ($P < 0/001$) (شکل ۱ و ۲).

تأثیر دوزهای متفاوت ال-کارنیتین در فازهای مختلف بارداری بر فاکتورهای زمان تأخیر در PAT و شاخص تمایز در ORT فرزندان دو ماهه، همان گونه است که شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهند. تجویز هر کدام از دوزهای ذکر شده‌ی ال-کارنیتین به رت‌های باردار در فازهای اول، دوم یا سوم بارداری باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای

ماکرومولکول‌های سلولی مثل فاکتورهای نوروتروفیک و نورهورمون‌ها و انتقال سیناپسی نوروترانسمیترهای متنوع از دیگر وظایف آن می‌باشد. در ضمن، ال-کارنیتین به شکل مستقیم و یا غیرمستقیم در ساختار استیل کولین، گلوتامات، گلوتامین و گابا به کار گرفته می‌شود و یا به عنوان ماده‌ی اولیه در ساخت لیپیدها، میلیناسیون و رشد نورونی عمل می‌کند و باعث ایجاد اثرات مفیدی بر فرایند شناختی می‌گردد (۱۱، ۱۲).

مطالعاتی مبنی بر تأثیر مثبت تجویز ال-کارنیتین بر حافظه در دوزهای بالا در مقایسه با دوزهای پایین‌تر آن وجود دارد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همخوانی داشتند. به عنوان مثال در مطالعه‌ی عیدی و همکاران نشان داده شد که با افزایش غلظت ال-کارنیتین، افزایش معنی‌داری در میزان به خاطرآوری در آزمون اجتنابی غیرفعال در رت‌های ماده‌ی بالغ اوریکتومی ایجاد می‌شود. تفاوت این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر، در دوزهای کمتر استفاده شده، تعداد کمتر آزمون‌های حافظه و جنس رت‌های مورد بررسی بوده است (۲۸). طبیعی است که هرچه دوز ال-کارنیتین بیشتر باشد، مقادیر بیشتری از آن به خون و سپس به مغز نوزاد می‌رسد. از آنجایی که اکثر مکانیسم‌های دخیل در عملکرد ال-کارنیتین، مکانیسم‌هایی هستند که با افزایش دوز آن تشدید می‌شوند، اثرات بهتر ال-کارنیتین توسط دوزهای بالاتر در این مطالعه قابل توجیه است.

از دیگر یافته‌های مطالعه‌ی حاضر این بود که وقتی ال-کارنیتین در دهه‌ی دوم بارداری و به طور همزمان با مصرف اتانول تجویز شد، بهبود قابل توجه‌تری در معیارهای معرف حافظه‌ی فرزندان دو ماهه در ORT و PAT در مقایسه با تجویز ال-کارنیتین در دهه‌ی اول یا سوم، نشان داد. ۱۰ روز اول و دوم بارداری و ۱۰ روز اول نوزادی در رت به ترتیب معادل سه ماهه اول، دوم و سوم بارداری در انسان است. اگرچه گفته می‌شود بیشترین میزان توسعه‌ی مغز در سه ماهه‌ی سوم بارداری رخ می‌دهد (۲۰)، ولی در این مطالعه بهترین نتایج در ۱۰ روز دوم بارداری مشاهده شد. شاید این موضوع مرتبط با تمایز بیشتر بخش‌های عصبی مغز، مهاجرت (Migration) و تولید (Generation) سلول‌های عصبی کورتکس مغز و هیپوکامپ در سه ماهه‌ی دوم بارداری باشد (۲۱). رشد هیپوکامپ در جوندگان از نیمه‌ی دوم بارداری شروع و تا ۱۴ روز اول جنینی ادامه می‌یابد، اما پیک تولید نورون‌های داخل هیپوکامپ بین روز ۱۳ تا ۱۴ بارداری است (۲۹). از طرف دیگر شاید این موضوع مرتبط با کوچک بودن رت‌های نوزاد در سه ماهه‌ی سوم و خطای گاوژ باشد.

حافظه‌ی شرطی و حافظه‌ی غیرشرطی رت‌ها را بهبود بخشید. نکته‌ی قابل توجه این بود که دوز 150 mg/kg ال-کارنیتین، که بالاترین دوز به کار رفته در این مطالعه بود، بهترین پاسخ مثبت را در برابر تخریب حافظه‌ی ناشی از مواجهه جنینی با الکل نشان داد. این یافته‌ها تأییدکننده‌ی نتایج مطالعاتی هستند که اثرات بهبود دهنده‌ی ال-کارنیتین در برابر آسیب‌های ناشی از الکل را به اثبات رسانیده‌اند، اگرچه این مطالعات در روش بررسی، هدف و دوز تجویزی ال-کارنیتین و اتانول با مطالعه‌ی حاضر تفاوت‌هایی داشته‌اند.

Skrzydewska و Augustyniak ثابت کردند که ال-کارنیتین می‌تواند آسیب‌های عصبی ناشی از مواجهه‌ی مزمن با اتانول را خنثی نماید (۱۰، ۲۳).

در مطالعه‌ی دیگر که توسط Alzoubi و همکاران انجام شد، ثابت گردید که مصرف ال-کارنیتین باعث جلوگیری از اختلال حافظه از طریق متعادل کردن عمل آنتی‌اکسیدان‌ها در هیپوکامپ می‌شود (۲۴).

در موارد دیگر Chan و همکاران ثابت کردند که تجویز ال-کارنیتین در دوران بارداری مادران باردار و شیرده‌ی سیگاری باعث مقابله با آسیب‌های مغزی شده و به سلامت سیستم عصبی آن‌ها کمک می‌کند (۱۸). در مطالعه‌ی Dobrzyńska و همکاران مشخص شد که ال-کارنیتین، می‌تواند با مسمومیت کبدی ناشی از اتانول مقابله نماید (۲۵).

لازم به ذکر است که در پروسه‌ی ساخت ال-کارنیتین در بدن، دو آنزیم حاوی آهن دخیل هستند و احتمالاً فقر آهن در مادران باردار سبب کاهش سطح ال-کارنیتین در دوران بارداری می‌شود. از طرف دیگر مصرف اتانول در دوران بارداری با وجود افزایش ذخایر آهن کبدی، زنان باردار را در معرض خطر آنمی فقر آهن و به دنبال آن کمبود مضاعف ال-کارنیتین قرار می‌دهد. بنابراین تجویز ال-کارنیتین در مادران بارداری که اتانول مصرف می‌کنند، می‌تواند سطح کاهش یافته‌ی ال-کارنیتین را در بدن به حالت طبیعی برگرداند (۲۶، ۲۷).

ال-کارنیتین با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و ذخایر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در مغز، با فرایندهای استرس اکسیداتیو که یکی از مکانیسم‌های بارز آسیب‌رسان اتانول است، مقابله می‌نماید و از اکسیداسیون و تخریب ماکرومولکول‌های نورون‌ها جلوگیری می‌کند (۱۰). ثابت شده است که ال-کارنیتین در شرایط متابولیسم ناقص، نقش بسیار مهمی در ورود اسیدهای چرب بلند زنجیر به داخل میتوکندری، چرخه‌ی کربس، بتا‌اکسیداسیون آن‌ها و در نهایت، تولید ATP ایفا می‌کند. در سلول‌های عصبی ال-کارنیتین با جابه‌جایی استیل، زمینه را برای تولید استیل کولین، استیل-ال-کارنیتین و تولید انرژی برای مغز فراهم می‌کند. تولید

نتیجه‌گیری

با این حال از یافته‌های این مطالعه برداشت می‌شود که

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامی دانشجویی دکترای داروسازی به شماره طرح ۳۹۹۰۲۹ بوده و توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد حمایت مالی قرار گرفته است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده‌ی داروسازی و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، و همچنین از راهنمایی و مساعدت‌های آقای شریفی کارشناس لانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی داروسازی اصفهان، تقدیر و تشکر می‌شود.

ال-کارنیتین به ویژه در دوزهای بالا و زمانی که در ۱۰ روز دوم بارداری گروه‌هایی که در دوران بارداری خود اتانول مصرف کرده‌اند، تجویز شود باعث بهبود حافظه‌ی شرطی و غیرشرطی فرزندان دو ماهه‌ی آن‌ها می‌شود. ارزیابی تعداد و اندازه‌ی نورون‌های بخش‌های مختلف مغز به روش استریولوژی و مطالعه‌ی مولکولی مغز فرزندان رت که در دوران جنینی در مواجهه با الکل بودند، می‌تواند مکانیسم دقیق ال-کارنیتین در ایجاد پاسخ‌های مفید علیه آسیب‌های اتانول را مشخص کند.

References

- Chang G. Maternal substance use: Consequences, identification, and interventions. *Alcohol Res* 2020; 40(2): 06.
- Dejong K, Olyaei A, Lo JO. Alcohol use in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2019; 62(1): 142-55.
- Abbott CW, Kozanian OO, Kanaan J, Wendel KM, Huffman KJ. The impact of prenatal ethanol exposure on neuroanatomical and behavioral development in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2016; 40(1): 122-33.
- Tapia-Rojas C, José Pérez M, Jara C, Vergara EH, Quintanilla RA. Ethanol consumption affects neuronal function: Role of the mitochondria. In: Taskin E, Guven C, Sevgiler Y, editors. *Mitochondrial disease*. 1st ed. London, UK: IntechOpen; 2018. p. 361-84.
- Tunc-Ozcan E, Harper KM, Graf EN, Redei EE. Thyroxine administration prevents matrilineal intergenerational consequences of in utero ethanol exposure in rats. *Horm Behav* 2016; 82: 1-10.
- Waddell J, Hill E, Tang S, Jiang L, Xu S, Mooney SM. Choline plus working memory training improves prenatal alcohol-induced deficits in cognitive flexibility and functional connectivity in adulthood in rats. *Nutrients* 2020; 12(11): 3513.
- Mahdinia R, Goudarzi I, Lashkarbolouki T, Salmani ME. Vitamin E attenuates alterations in learning, memory and BDNF levels caused by perinatal ethanol exposure. *Nutr Neurosci* 2021; 24(10): 747-61.
- Lee KH, Cha M, Lee BH. Neuroprotective effect of antioxidants in the brain. *Int J Mol Sci* 2020; 21(19): 7152.
- Almannai M, Alfadhel M, El-Hattab AW. Carnitine inborn errors of metabolism. *Molecules* 2019; 24(18): 3251.
- Augustyniak A, Skrzydlewska E. The influence of L-carnitine supplementation on the antioxidative abilities of serum and the central nervous system of ethanol-induced rats. *Metab Brain Dis* 2010; 25(4): 381-9.
- Magi S, Preziuso A, Piccirillo S, Giampieri F, Cianciosi D, Orciani M, et al. The neuroprotective effect of L-carnitine against glyceraldehyde-induced metabolic impairment: Possible implications in Alzheimer's disease. *Cells* 2021; 10(8): 2109.
- Ferreira GC, McKenna MC. L-Carnitine and Acetyl-L-carnitine roles and neuroprotection in developing brain. *Neurochem Res* 2017; 42(6): 1661-75.
- Bota AB, Simmons JG, DiBattista A, Wilson K. Carnitine in alcohol use disorders: A scoping review. *Alcohol Clin Exp Res* 2021; 45(4): 666-74.
- Rice D, Barone Jr S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* 2000; 108(Suppl 3): 511-33.
- Allan AM, Chynoweth J, Tyler LA, Caldwell KK. A mouse model of prenatal ethanol exposure using a voluntary drinking paradigm. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27(12): 2009-16.
- Safavi M, Hosseini-Sharifabad A, Seyed-Yousefi Y, Rabbani M. Protective effects of citicoline and benfotiamine each alone and in combination on streptozotocin-induced memory impairment in mice. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 2020; 18(1): 81-92.
- Hosseini-Sharifabad A, Rabbani M, Sheikh-Darani A. The effect of long-term pregabalin administration on memory of rat in object recognition task. *J Isfahan Med Sch* 2020; 38(575): 325-31. [In Persian].
- Chan YL, Saad S, Al-Odat I, Oliver BG, Pollock C, Jones NM, et al. Maternal L-carnitine supplementation improves brain health in offspring from cigarette smoke exposed mothers. *Front Mol Neurosci* 2017; 10: 33.
- Xi L, Brown K, Woodworth J, Shim K, Johnson B, Odle J. Maternal dietary L-carnitine supplementation influences fetal carnitine status and stimulates carnitine palmitoyltransferase and pyruvate dehydrogenase complex activities in swine. *J Nutr* 2008; 138(12): 2356-62.
- Patten AR, Fontaine CJ, Christie BR. A comparison of the different animal models of fetal alcohol spectrum disorders and their use in studying complex behaviors. *Front Pediatr* 2014; 2: 93.
- Gil-Mohapel J, Boehme F, Kainer L, Christie BR. Hippocampal cell loss and neurogenesis after fetal alcohol exposure: insights from different rodent models. *Brain Res Rev* 2010; 64(2): 283-303.
- Gualdoni GS, Jacobo PV, Barril C, Ventureira MR, Cebal E. Early abnormal placentation and evidence of vascular endothelial growth factor system dysregulation at the feto-maternal interface after periconceptional alcohol consumption. *Front Physiol* 2022; 12: 815760.
- Augustyniak A, Skrzydlewska E. L-Carnitine in the lipid and protein protection against ethanol-induced oxidative stress. *Alcohol* 2009; 43(3): 217-23.
- Alzoubi KH, Rababa'h AM, Owaisi A, Khabour OF. L-carnitine prevents memory impairment induced by

- chronic REM-sleep deprivation. *Brain Res Bull* 2017; 131: 176-82.
25. Dobrzyńska I, Szachowicz-Petelska B, Skrzydlewska E, Figaszewski Z. Effect of L-carnitine on liver cell membranes in ethanol-intoxicated rats. *Chem Biol Interact* 2010; 188(1): 44-51.
26. Keller U, van der Wal C, Seliger G, Scheler C, Röpke F, Eder K. Carnitine status of pregnant women: effect of carnitine supplementation and correlation between iron status and plasma carnitine concentration. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63(9): 1098-105.
27. Kwan STC, Kezer CA, Helfrich KK, Saini N, Huebner SM, Flentke GR, et al. Maternal iron nutriture modulates placental development in a rat model of fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol* 2020; 84: 57-66.
28. Eidi A, Abolhasanpour N, Haeri Rohani A. Effects of L-carnitine on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Iran J Biol Sci* 2011; 6(1): 39-46. [In Persian].
29. Helfer JL, White ER, Christie BR. Enhanced deficits in long-term potentiation in the adult dentate gyrus with 2nd trimester ethanol consumption. *PLoS One* 2012; 7(12): e51344.

The Comparative Effect of L-carnitine in Different Stages of Pregnancy on Alcohol-induced Memory Impairment in Adult Rat Offspring

Zahra Iranpour¹, Ali Hosseini-Sharifabad², Mohammad Rabbani³, Mohammad Seyedabadi⁴

Original Article

Abstract

Background: Neuroprotective effects of L-carnitine on damage caused by fetal exposure to ethanol have been demonstrated. The purpose of this study was to evaluate the effects of different doses of L-carnitine at different stages of pregnancy on the memory of two month old offsprings whose mothers consumed alcohol during pregnancy.

Methods: For the purpose of this study, 55 pregnant female rats were randomly divided into 11 groups of 5, including control group, which received drinking water, and the ethanol group which received drinking water containing 10 % (w/v) ethanol. L-Carnitine treated group received L-carnitine in doses of 50, 100, or 150 mg/kg in addition to the ethanol, in the first 10 days or the second 10 days of pregnancy. For modeling the third trimester of pregnancy, doses of L-carnitine were gavaged to the rat neonates for 10 days. After two months of birth, the memories of offsprings were evaluated using Passive Avoidance Task (PAT) and Novel Object Recognition Test (ORT).

Findings: Administration of L-carnitine significantly increased discrimination of the ORT index and the escape latency of entry to dark compartment in PAT by two month old offspring compared to the ethanol group. The mentioned indices were significantly increased at a dose of 150 mg/kg compared to the dose of 50 mg/kg throughout all pregnancy periods. These indices were significantly different when L-carnitine was administered in the second 10 days of pregnancy compared to any other periods.

Conclusion: The administration of L-carnitine during pregnancy can prevent alcohol-induced memory impairment in rat offsprings. This effect was more significant at higher doses of L-carnitine. The best response was seen when L-carnitine was administered to mothers in the second 10 days of pregnancy.

Keywords: Carnitine; Memory disorders; Ethanol; Pregnancy

Citation: Iranpour Z, Hosseini-Sharifabad A, Rabbani M, Seyedabadi M. **The Comparative Effect of L-carnitine in Different Stages of Pregnancy on Alcohol-induced Memory Impairment in Adult Rat Offspring.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(667): 223-30.

1- Pharmacy Student, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Corresponding Author: Ali Hosseini-Sharifabad, Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;

Email: z.iranpour7392@gmail.com