

The Effect of Camel Milk on Social Interaction and Repetitive Behaviors of Valproic acid-induced Autistic Rats

Sahar Heydari¹, Bahareh Amin², Akbar Pejhan³, Seyed Jamal Mirmousavi⁴, Mohammad Mohammadzadeh^{5*}

1. M.Sc. Student of Medical Physiology, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Iran
2. Associate Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Iran
3. Professor of Physiology, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Iran
4. Assistant Professor, Department of Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
5. Professor of Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Iran

Received: 2021/02/02

Accepted: 2021/05/02

Abstract

Introduction: Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental syndrome with two main symptoms: repetitive behavior and social interaction disorder. Camel milk, due to its antioxidant, immune-modulating, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties maybe have beneficial effects on ASD.

Materials and Methods: Pregnant rats were injected intraperitoneally on day 12.5 of gestation with 500 mg/kg valproic acid. Then male neonatal rats were divided into five groups: Control group, valproic acid group, camel raw milk group + risperidone, and pasteurized camel milk group + risperidone. For the treatment period, rats have injected with risperidone (0.2 mg/kg) three times a week, and raw and boiled camel milk was given daily (10 ml/kg) for 42 days. Experiments of social interaction and repetitive behavior were measured at the beginning and end of the treatment period.

Results: The offspring of mothers who received valproic acid had problems in social interactions, and sociability and social preference indexes were significantly reduced. Repetitive self-grooming behaviors also increased in VPA-rats. The treatment groups improved their social and repetitive behaviors after receiving camel milk and risperidone and were significantly different from the valproic acid and pre-treatment groups. Moreover, sociability and social preference indexes showed an increase after treatment with camel milk. Sociability index, social preference, social preference index, and repetitive behaviors before and after treatment between groups improved significantly ($p < 0.001$) after treatment.

Conclusion: Treatment with a camel milk diet improved the main behaviors of autism symptoms, such as social interactions and repetitive movements.

***Corresponding Author:** Mohammad Mohammadzadeh

Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Iran

Tel: 051-44264462

E-mail: mohamad1353@gmail.com

Keywords: Autism, Behavior test, Camel milk, Valproic acid

How to cite this article: Heydari S., Amin B., Pejhan A., Mirmousavi S.J., Mohammadzadeh M. The Effect of Camel Milk on Social Interaction and Repetitive Behaviors of Valproic acid-induced Autistic Rats, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2021; 28(6):911-922.

Introduction

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental syndrome with two main symptoms: repetitive behavior and social interaction disorder. For the first time, a scientist named Leo Kanner in 1943 described children with communication deficits and behavioral problems such as stereotypes and repetitive actions. Extensive evidence reported that exposure to antiepileptic drugs during pregnancy increases the risk of autism in children. There is evidence that pregnant mothers exposed to valproic acid (VPA) in the first trimester of pregnancy have a higher risk of having children with autism. Also, among the developed models for autism, the animal model established with VPA has the closest symptoms to autism in humans. Since there is no definitive drug for the treatment of autism, antipsychotic drugs such as risperidone are licensed and approved by the Food and Drug Administration of the United States for treating some symptoms of autism. The social interaction test is one of the most critical behavioral tests used to diagnose and evaluate autistic models. In this test, the sociability and social preference of autistic models are examined. Camel milk has unique compounds that distinguish it from other mammal milk. Different populations used camel milk due to its great variety of therapeutic properties and disease prevention mechanisms. Camel milk has unique compounds that distinguish it from the milk of other mammals. Camel milk has antioxidant, immunomodulatory, anti-inflammatory, insulin-like and anti-apoptotic properties. For this reason, it is used in the treatment of various diseases such as diabetes, allergies, immune disorders and cancer. Camel milk is traditionally used in clinical and observational studies in some parts of the world to treat autism. This study aims to investigate the effect of camel milk on improving social interaction and repetitive behavior, two main symptoms of autism.

Methodology

The Wistar rats used in this study were obtained from the Animal Laboratory Center of Mashhad University of Medical Sciences. Rats were housed in an acrylic plastic cage at room temperature of 25.2 ° C with 55 ° C relative humidity and 12 hours of light / dark cycle. The animal had access to standard and adequate food and water throughout the experiment.. Five female and one male rat were placed in each cage, and vaginal smear tests were performed twice a day (8:30 pm and 8:30 am) to

detect pregnancy plaques. After diagnosis, the mice were transferred to separate cages, and this day was considered the first day of pregnancy (GD1).

Pregnant rats were randomly divided into two groups (group A: five female and group B: two female rats). Valproic acid was administered intraperitoneally (I.P.) at a 500 mg/kg dose for pregnant females and normal saline for female rats on day 12.5. Valproic acid was dissolved in 0.9% saline solution, and the injection volume was 10 ml/kg. All Rats were weaned 30 days after their birthday. Then 30 male rats were weaned and divided into five groups for the following experiments. Ctrl: Rats whose mothers did not receive valproic acid; Valproic acid group: Rats whose mothers received valproic acid but did not receive treatment; Risperidone group: Rats whose mothers received valproic acid and were injected with risperidone in the treatment period; Raw camel milk+ risperidone: These animals received risperidone and raw milk in treatment period; and Pasteurized camel milk+risperidone: receive risperidone and the pasteurized milk. Due to that male rats exposed to valproic acid show more autistic symptoms, we only select male rats (6 in each group) for the following grouping.

In the treatment period, the effect of raw or pasteurized camel+risperidone (Sobhan Darou Company) diet was evaluated via the behavior and antioxidant test. In this way, risperidone was dissolved in saline solution (0.9% sodium chloride salt solution) and then injected intraperitoneally (I.P) at a dose of 0.2 mg/kg body weight daily. Raw and pasteurized camel milk (10 ml/kg) was fed by gavage daily. The course of treatment was 42 days (days 35 to 77). Behavioral tests were performed before and after treatment.

Social interaction test in sociability and social novelty was evaluated in rats before and after treatment using the three-chamber box. The three-chamber box comprises a plexiglass box (20 × 45 × 45 cm) separated into equal interactive compartments. The test was done in three parts. The rat was located in the empty central division and habituated for 5 min in the first part. After adjusting, a new rat was familiarized in the left division as stranger zone 1, whereas the right compartment was restricted to an empty wire cage for the sociability test. The sociability test is defined as the natural feeling of rats to cooperate with other unfamiliar rats. The rat in the central compartment was

permitted to discover the two divisions after opening the doors freely. Time spending and number crossing among the compartment documented for 10 min using a digital camera. The social novelty preference test was defined as rats' desire to cooperate with unfamiliar rats than familiars. The rat was kept in central division, then a second unfamiliar rat, as stranger zone 2, was located in the other division. The trial rat's spending time in both side chambers was recorded for 10 min with the digital camera. The index of sociality and social novelty preference were also calculated.

Repetitive behaviors were assessed by monitoring the self-grooming of rats. The rat was individually placed in an empty cage for 10 minutes to acclimatize, then the time spent grooming was recorded for 10 minutes. Grooming included spending time in wiping, licking, and spin around.

Two-way ANOVA was used to analyze behavioral test data. Tukey's post hoc was performed for multiple comparisons to determine differences between the five groups. P-value ≤ 0.05 was considered statically significant. All statistical analysis was performed by Microsoft Excel 2013 and Graphpad Prism 9.

Results

Two-way ANOVA showed a significant effect of Valporic acid for inducing autistic offspring rats, and after treatment for the Sociability. Post hoc analysis revealed that Naive rats spent significantly more time with an unfamiliar rat than in an empty chamber, reflecting normal Sociability. However, in- Utero VPA treated rats spend significantly more time in the empty chamber than unfamiliar rats (stranger 1) ($p < 0.05$), in the comparison to control indicative of a reduction in Sociability ($p < 0.001$) (Figure 2 A). In addition, valproic acid-induced rats showed a significant decrease in pre-treatment Sociability index compared to control rats ($P < 0.0001$). After 42 days of treatment with raw and pasteurized camel milk with risperidone, the raw camel milk+risperidone group spent less time in the empty chamber than the control group ($p < 0.05$). In contrast, treatment with risperidone without camel milk did not significantly improve. In addition, the social index in the two groups of treatment with raw milk and pasteurized camel compared to the valporic acid group, were significantly different ($p < 0.001$). In the social novelty preference test, the control rat spent more time in the new chamber (stranger two) than in the familiar chamber (stranger

one), a natural social preference behavior. Valproic acid-induced offspring autistic rats showed less time in the new chamber ($p < 0.05$) and more time in the familiar chamber ($p < 0.001$) than the control group, and there was a statistically significant difference between stranger one and two ($P < 0.01$). These data indicate low social preference in autistic rats induced by valproic acid before birth. Also, autistic rats showed a significant decrease in social preference index ($p < 0.01$) compared to control rats). Two-way ANOVA for the treatment with camel milk and risperidone in autism rats showed that the animals spent less time in the familiar chamber (stranger one) than the valproic acid group. These differences were significant based on Poc hoc statistical tests for raw milk+risperidone ($p < 0.01$), pasteurized milk+risperidone ($p < 0.001$) and risperidone alone ($p < 0.05$). However, these treatment groups were not significantly different from the control group. Also, the time spent in treatment groups in the new chamber (stranger two) was not significantly different from the control group. On the other hand, the camel pasteurized milk group spent more time with unfamiliar strangers than a familiar rat ($p < 0.01$). The results also showed no significant difference between the treatment groups and the control group in the new chamber (stranger two). The social preference index of the treatment groups compared to the valproic acid group had a significant increase ($p < 0.001$). Also, the analysis of the results showed that the index of social preference in the treatment groups was significantly different than before the treatment. Significant in compared to before treatment: in the group of raw milk + risperidone ($p < 0.05$), pasteurized milk + risperidone ($p < 0.001$) and risperidone ($p < 0.05$).

Another factor of repetitive behavior that we considered in our study was self-Grooming. After placing the rats in the chamber for 10 minutes; Self-grooming time was calculated. According Two-way ANOVA reveals significant effect. According to Tukey's multiple comparisons tests, rats receiving parentally valproic acid showed more repetitive behaviors than control ($p < 0.001$). After treatment, we saw a decrease in repetitive behavior in treatment groups. There was a significant difference between the raw camel milk+risperidone treatment group and the valproic acid group ($p < 0.01$). Also, between before and after treatment of the two groups of raw camel milk + risperidone ($p < 0.01$) and pasteurized milk+risperidone group ($p < 0.05$), an improvement in repetitive behavior was observed.

Discussion

Camel milk seems to have potential therapeutic effects on autism. It covers a wide range of study objectives. This study aimed to evaluate the effect of camel milk consumption on social and behavioral tests on autistic rats. Firstly, a model of autistic rats was established. In this context, valproic acid was injected on the 12.5th day of pregnancy. Male offspring of those mothers exposed to valproic acid at the prenatal stage showed decreased social interaction and increased repetitive behaviors. In contrast, treatment with camel milk and risperidone improved behavioral disorders in rats. Previous studies comparing different doses of valproic acid administered on day 12.5 of pregnancy were observed that the dose of 500 mg/kg has more autism-like symptoms. According to the results of this study in behavioral and biochemical tests, it was observed that offspring rats whose mothers received valproic acid were significantly different from control and confirmed previous studies.

According to studies, social interactions tests using the three-chamber method showed that autistic mice were more inclined to be in the empty chamber. In our study also indicates that autistic mice spent more time in the empty chamber than healthy mice. Furthermore, after receiving camel milk and risperidone, their tendency to communicate and be with strangers increased. In a previous study by Alamin et al. In 2015, parental rats exposed to valproic acid had low social interactions by measuring the number of inhalations. Poor social behavior can be caused by fear, anxiety, or a poor understanding of the communication signal of stranger mice. They used astaxanthin to improve social communication disorders in animals born before exposure to valproic acid. In another study by Hara, et al. in 2017 showed that sniffing was significantly reduced in parental mice exposed to valproic acid, and risperidone treatment showed an increase in sniffing that significantly improved social interactions. Our studies were consistent with their study, and the duration of sniffing in autistic rats was reduced. However, camel milk and risperidone ameliorate the social defects in autism-like rats. This study showed that raw milk+risperidone was more effective in improving social relationships than other treatments. These

findings are consistent with previous studies with other therapies by Al-Amin et al., 2015, Fontes-Dutra et al., 2019, Hara, Ago, Taruta, et al., 2017, and Matsuo et al., 2020. In a study by Shabo & Yagil, in 2005, camel milk was consumed for 30 days and the symptoms of autism disappeared in children under 15 years old. A study of 60 patients with autism (2 to 12 years old) in Saudi Arabia by Arabia Mihic et al., 2016 showed significant improvement in cognitive and behavioral tests and reduced effects of oxidative stress. A case report in 2013 by Adams reported that a boy with autism symptoms after consuming camel milk daily for six years their autism symptoms. Another clinical study by Bashir & Al-Ayadhi in 2014 examined the effect of camel milk on biochemical markers. They demonstrated that the outcomes of autism clinical signs significantly improved, and serum levels of "thymus and chemokine regulation-activity" (TARC) decreased in children with autism. Repetitive behaviors may be due to impaired oxidative homeostasis by activating the Wnt / β -catenin signaling pathway due to valproic acid induction. In this regard, Mirza and Sharma in 2019 recently reported that valproic acid caused social harm and repetitive behaviors. Two studies by Matsuo et al., 2020, Moldrich et al., 2013 on autistic animal's models have shown an increase in self-grooming. In the present study, after injecting valproic acid on day 12.5 before birth, rats spent more time than the Naïve group, wandering with paws, licking tails, and spinning. These features are an indicator of repetitive behavior.

Conclusion

In our study, camel milk was introduced as a nutrient that can be useful in treating behavioral disorders. Extensive molecular and clinical studies are needed to understand better the effect of camel milk in the treatment of autism.

Acknowledgment

Finally, the researchers thank all the patients who participated in this study and made this research possible.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

بررسی تأثیر شیر شتر بر رفتارهای شبه‌اوتیسمی در موش‌های آزمایشگاهی

سحر حیدری^۱، بهاره امین^۲، اکبر پزهان^۳، سید جمال میرموسوی^۴، محمد محمدزاده^{۵*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پزشکی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، ایران
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، ایران
۳. استاد گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، ایران
۴. استادیار گروه طب سنتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۵. استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: اختلال طیف اوتیسم (ASD) نوعی اختلال عصبی است که رفتار تکراری و اختلال ارتباط اجتماعی دو علائم اصلی آن است. شیر شتر به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و ضدالتهاب ممکن است بتواند در درمان اوتیسم مؤثر واقع شود.

مواد و روش‌ها: موش‌های باردار به‌طور تصادفی به‌صورت داخل صفاقی ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم والپروئیک اسید (VPA) در روز ۱۲/۵ حاملگی تزریق شد. سپس نوزادهای نر به پنج گروه کنترل، گروه VPA، گروه شیر خام شتر + ریسپریدون و گروه شیر شتر پاستوریزه + ریسپریدون و ریسپریدون تقسیم شدند. برای دوره درمان ریسپریدون (۰/۲ mg/kg) تزریق شد و شیر خام و پاستوریزه شده شتر روزانه (۱۰ ml/kg) به مدت ۴۲ روز به موش‌ها داده شد. آزمایش‌های تداخل رفتاری-اجتماعی و تکراری در ابتدا و انتهای دوره درمان سنجیده شد.

یافته‌ها: شاخص‌های جامعه‌پذیری و ترجیح اجتماعی زاده‌های مادرانی که VPA دریافت کردند کاهش معناداری داشت. همچنین رفتارهای تکراری خودآراستگی در این حیوانات افزایش یافت. گروه‌های درمانی پس از دریافت رژیم شیر شتر و داروی ریسپریدون، رفتارهای اجتماعی و تکراری در آن‌ها بهبود یافت و نسبت به گروه‌های VPA و نیز قبل از درمان اختلاف معناداری داشتند و شاخص‌های اجتماعی افزایش نشان داد. شاخص جامعه‌پذیری، ترجیح اجتماعی، شاخص ترجیح اجتماعی و نیز رفتارهای تکراری در قبل و نیز در بعد درمان بین گروه‌ها به‌طور معنی‌داری ($p < 0.001$) بعد از درمان بهبود یافت.

نتیجه‌گیری: درمان با رژیم شیر شتر رفتارهای اصلی علائم اوتیسم مانند تعاملات اجتماعی و حرکات تکراری را بهبود بخشید.

* نویسنده مسئول: محمد محمدزاده

نشانی: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
تلفن: ۰۵۱-۴۴۲۶۴۴۶۲

رایانامه: mohamad1353@gmail.com
شناسه ORCID:

0000-0002-5250-6092

شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0001-8910-7194

کلیدواژه‌ها:

اوتیسم، شیر شتر، آزمون رفتاری، والپروئیک اسید

۱. مقدمه

بیماری طیفی اوتیسم^۱ (Autism spectrum disorder) حاصل طیف وسیعی از اختلال در تکامل سیستم عصبی است. ویژگی‌های شناخته‌شده در اوتیسم عموماً شامل: تداخل در

ارتباط اجتماعی متقابل، برقرار نشدن ارتباط و علائق محدود و رفتارهای تکرارشونده فیزیکی بی‌هدف هستند (۱). نخستین بار کانر در سال ۱۹۴۳ به توصیف کودکانی پرداخت که از نقایص ارتباطی و مشکلات رفتاری نظیر اعمال قالبی^۲ و تکراری^۳

3 Repetitive

1 Autism
2 Stereotype

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۸، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۴۰۰، ص ۹۱۱-۹۲۲
آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

۲. مواد و روش‌ها

حیوانات

موش‌های صحرایی ویستار مورد استفاده در این تحقیق از مرکز آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، به دست آمده‌اند. موش‌ها در یک قفس پلاستیکی آکرلیک در دمای اتاق 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 55 ± 5 و ۱۲ ساعت چرخه نور/ تاریکی قرار گرفتند. در تمام مدت آزمایش، دسترسی راحت به آب و غذای استاندارد و کافی داشتند. همه موارد با رعایت استاندارد مربوط به قوانین اخلاقی با کد اخلاق (IR.MUMS. MEDICAL. REC.1398.264) توسط کمیته اخلاق تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، صورت گرفت. پنج موش ماده و یک موش نر در هر قفس قرار داده شد و آزمایش اسمیر واژن برای تشخیص پلاک‌های بارداری دو بار در روز (۸:۳۰ بعدازظهر و ۸:۳۰ صبح) انجام شد. پس از تشخیص، موش‌ها به قفس‌های جداگانه منتقل شدند و این روز اولین روز بارداری (GD1) در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی موش اوتیسمی به‌وسیله القا والپروئیک اسید

موش‌های باردار به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند (تعداد = ۵ و تعداد = ۲). ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم والپروئیک اسید به پنج ماده باردار (زاده‌های نر آن‌ها چهار گروه دریافت‌کننده والپروئیک اسید را تشکیل دادند) و دو موش ماده باردار (که از زاده‌های نر آن‌ها به‌عنوان کنترل) آب تقطیرشده در روز ۱۲/۵ حاملگی به‌صورت داخل صفاقی (I.P.) تزریق شد (۱۶، ۱۷). والپروئیک اسید در محلول سالین ۰/۹ درصد حل شد و حجم تزریق ۱۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم بود. همه موش‌ها تا زمان از شیر گرفتن تا روز ۳۰ پس از تولد (PND 30) نگهداری شدند. سپس ۳۰ موش از شیر گرفته و برای آزمایش‌های پس از زایمان گروه‌بندی شدند. گروه کنترل: موش‌هایی که والپروئیک اسید دریافت نکرده‌اند ($n = 6$)، گروه والپروئیک اسید: موش‌هایی که والپروئیک اسید دریافت کردند ولی درمانی دریافت نکردند ($n = 6$)، گروه ریسپریدون: موش‌هایی که پس از دریافت والپروئیک اسید داروی ریسپریدون دریافت کردند ($n = 6$)، گروه شیر خام شتر + ریسپریدون: پس از دریافت والپروئیک اسید، شیر خام به همراه داروی ریسپریدون دریافت کردند ($n = 6$) و گروه شیر شتر پاستوریزه + ریسپریدون: پس از دریافت والپروئیک اسید، شیر پاستوریزه به همراه داروی ریسپریدون دریافت کردند ($n = 6$). با توجه به مطالعات گذشته که موش نر در معرض والپروئیک اسید اوتیسمیک بیشتری نشان می‌دهند تنها موش‌های نر در گروه‌ها

برخوردار بودند. این کودکان نمی‌توانستند با دیگران ارتباط برقرار کنند و به هر آنچه به آن‌ها عرضه می‌شد، بی‌توجهی نشان می‌دادند (۲). دامنه علائم ممکن است خفیف تا شدید باشد. (۳). مدل‌های حیوانی اوتیسم همچنین اختلالات رفتاری اوتیسم در انسان را به‌خوبی نشان می‌دهد (۴). بسیاری از شواهد نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض داروهای ضدصرع در دوران بارداری خطر ابتلا به اوتیسم را در کودکان افزایش می‌دهد (۵). طبق شواهد، مادران بارداری که در سه‌ماهه اول بارداری در معرض والپروئیک قرار بگیرند، خطر بالایی برای تولد کودکان اوتیسمی دارند (۶). همچنین در میان مدل‌های توسعه‌یافته برای اوتیسم، مدل حیوانی اسید والپروئیک (VPA) نزدیک‌ترین علائم به بیماری اوتیسم در انسان را دارد (۴). با بسته شدن لوله عصبی، اعصاب جمجمه در روز ۱۲ تا ۱۳ حاملگی که یک دوره زمانی حساس برای اعصاب حسی و حرکتی است. فرزندان موش‌های صحرایی تحت تیمار با والپروئیک در روز ۱۲/۵ حاملگی رفتارها و مشخصات بیماران اوتیسم را نشان می‌دهند (۷). آزمون تعامل اجتماعی ۱ یکی از آزمون‌های مهم رفتاری در تشخیص و بررسی بیماران اوتیسمیک به‌کار می‌رود که در آن جامعه‌پذیری ۲ و ترجیح اجتماعی ۳ بیماران اوتیسمیک بررسی می‌شود. با توجه به اینکه دارویی قطعی برای درمان اوتیسم وجود ندارد با این حال سازمان غذا و داروی ایالات متحده به داروی ضدروان‌پریشی ریسپریدون ۴ مجوز و گواهی تأیید داد (۸).

شیر شتر به دلیل تنوع زیاد خاصیت‌های درمانی و مکانیسم‌های پیشگیری از بیماری‌ها مورد استقبال جمعیت‌های مختلف است (۹). شیر شتر دارای ترکیبات منحصر به فردی است که آن را از شیر سایر پستانداران متمایز می‌کند (۱۰، ۱۱). شیر شتر، خواص آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، ضدالتهاب، انسولین شکل و ضدآپوپتوز دارد (۱۲). به همین دلیل از آن در درمان بیماری‌های مختلف مانند دیابت، آلرژی، اختلالات ایمنی و سرطان استفاده می‌شود (۱۱). از شیر شتر به‌طور سنتی و مطالعات بالینی و مشاهده‌ای در برخی از مناطق جهان در درمان اوتیسم استفاده می‌شود (۱۳-۱۵).

در این مطالعه تلاش می‌شود تأثیر رژیم حاوی شیر شتر به همراه داروی ریسپریدون بر بهبود علائم رفتاری - اجتماعی بیماری اوتیسم از جمله توانایی برقراری ارتباط با افراد ناآشنا بررسی شود.

لحاظ شد (۱۸).

تجویز دارو و رژیم شیر شتر

برای دوره درمان از رژیم شیر خام یا پاسستوریزه شتر + ریسپریدون (شرکت سبحان دارو) برای ارزیابی آزمون تعاملات اجتماعی استفاده شد. ریسپریدون در محلول سالین (محلول ۰/۹ درصد نمک سدیم کلراید) حل شد. ریسپریدون به صورت داخل صفاقی (I.P) دوز ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن هر روز براساس مطالعات گذشته تزریق شد (۱۹). شیر خام و پاسستوریزه شتر روزانه (۱۰ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰۰ گرم وزن بدن) به صورت گاوژ به موش‌ها داده شد. دوره درمان به مدت ۴۲ روز (۳۵ تا ۷۷) آغاز صورت گرفت. آزمایش‌های رفتاری به مدت هفت روز قبل دوره درمان در روز سی‌ام و نیز در آخرین روز درمان روز هفتاد و هفتم انجام شد.

بررسی آزمون رفتاری، تعاملات اجتماعی

نقص در تعامل اجتماعی، یکی از اصلی‌ترین علائم اوتیسم است. آزمون تعامل اجتماعی در جامعه‌پذیری و ترجیح اجتماعی در موش صحرایی در دو دوره قبل و بعد از درمان، با استفاده از دستگاه سه‌دالانی ارزیابی شد (۲۰).

دستگاه آزمون رفتار اجتماعی از جنس پلکسی گلاس: این دستگاه شامل سه دالان در سایز (۲۰×۴۵×۴۵) سانتی‌متر است. دیواره‌های جداکننده از جنس پلکسی گلاس شفاف است. قسمت میانی هر دیواره قابل جابه‌جایی است تا دسترسی موش صحرایی به دالان‌ها تحت کنترل باشد. دو ظرف فنجان مانند سیمی با درپوش قابل جابه‌جایی به اندازه‌ای که یک موش صحرایی به راحتی در آن قرار بگیرد در قسمت داخل و میانی دالان راست و چپ قرار گرفت. دیواره طرف‌ها از جنس سیم است تا هوا به راحتی منتقل شود اما فاصله سیم‌ها طوری است که از تماس مستقیم فیزیکی بین موش‌های صحرایی داخل ظرف و موش سوژه جلوگیری کند.

این آزمون در دو مرحله برای تشخیص موش‌های صحرایی اوتیسمی انجام گرفت؛ بدین شکل که در ده دقیقه اول در دالان اول کاپ خالی و در دالان وسط موش سوژه و در دالان سوم کاپی قرار گرفت که زیر آن موش غریبه (سالیم) قرار داشت. با قرار دادن دیواره‌های پلکسی گلاس دالان‌ها را از یکدیگر جدا کردند. موش سوژه در دالان وسط قرار گرفت و پنج دقیقه برای آشنایی با محیط زمان داده شد. با شروع آزمایش دیواره‌های جداکننده از جنس پلکسی گلاس برای رفت‌وآمد موش سوژه در بین سه دالان برداشته شد. به موش

سوژه اجازه کشف و شناسایی دالان‌ها داده شد. سپس رفتارهای موش سوژه زیر نظر گرفته شد و از ایجاد هرگونه سروصدا و استرس به موش جلوگیری شد.

آزمون جامعه‌پذیری به‌عنوان احساس طبیعی موش‌ها برای همکاری با سایر موش‌های ناآشنا تعریف شده است. موش صحرایی در محفظه مرکزی مجاز به کشف دو محفظه پس از باز کردن درها به صورت آزادانه بود. مدت زمان صرف شده در هر دالان به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت شد. آزمون ترجیح اجتماعی به‌عنوان احساس موش‌ها برای همکاری بیشتر با موش‌های ناآشنا نسبت به افراد آشنا تعریف شد. موش در دالان مرکزی نگه داشته شد. سپس موش دوم ناشناخته با همان سن و جنس منطقه غریبه دو در قفس خالی قبلی آزمون اجتماعی قرار گرفت (۲۰). زمان صرف آزمایش موش صحرایی در هر دو دالان کناری به مدت ۱۰ دقیقه با دوربین دیجیتال ثبت گردید. شاخص اجتماعی بودن و شاخص ترجیح اجتماعی نیز طبق معادلات زیر محاسبه شد.

$$\text{شاخص اجتماعی بودن} = \frac{\text{زمان صرف شده با موش غریبه یک}}{\text{زمان صرف شده در دالان خالی}}$$

$$\text{شاخص ترجیح اجتماعی} = \frac{\text{زمان صرف شده با موش غریبه دو}}{\text{زمان صرف شده با موش غریبه یک}}$$

بررسی رفتارهای تکراری

رفتارهای تکراری با مانیتور کردن خودآراستگی^۱ موش‌ها ارزیابی شد (۲۱). موش به صورت جداگانه ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در یک قفس خالی برای خو گرفتن گذاشته شدند، سپس مدت‌زمان صرف شده برای خودآراستگی به مدت ۱۰ دقیقه ثبت گردید. خودآراستگی شامل زمان و رفتن با سرو پنجه‌ها، لیسیدن و چرخیدن دور خود بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

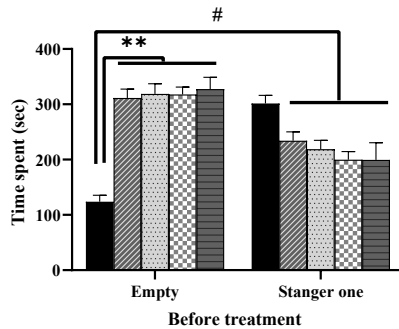
برای آنالیز داده‌های آزمون‌های رفتاری از ANOVA دوطرفه استفاده شد. مقایسه‌های چندگانه توسط Tukey's post hoc برای تعیین تفاوت بین پنج گروه انجام شد. نتایج به صورت میانگین \pm SEM بیان شدند و $P\text{-value} \leq 0.05$ یا $P\text{-value} \leq 0.01$ برای معنی‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط Microsoft Excel 2013 و Graphpad Prism 9 انجام شد.

۳. یافته ها

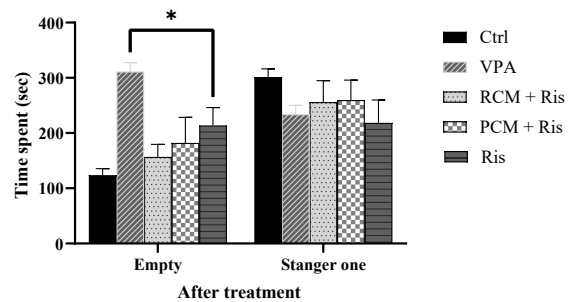
جامعه‌پذیری و شاخص اجتماعی بودن

در آزمون جامعه‌پذیری، موش‌های کنترل، زمان بیشتری را در دالان غریبه نسبت به دالان خالی که نشان‌گر یک رفتار اجتماعی طبیعی است، گذراندند. موش‌هایی که قبل از تولد با والپروئیک تیمار شده بودند کاهش قابل توجهی را در زمان صرف شده در دالان غریبه نشان دادند ($P < 0/05$) در حالی که زمان بیشتری را در دالان خالی در مقایسه با کنترل گذراندند ($P < 0/001$) (شکل A۱). این نتایج نشان‌دهنده جامعه‌پذیری پایین موش‌های صحرایی اوتیسمی القاشده با والپروئیک است. علاوه بر این موش‌های صحرایی القاشده با والپروئیک اسید در مقایسه با موش‌های کنترل کاهش قابل توجهی در شاخص اجتماعی قبل از شروع درمان نشان دادند ($P < 0/001$) (شکل C-۱).

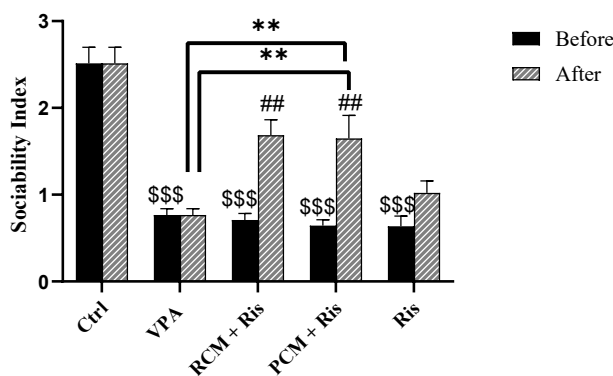
پس از درمان ۴۲ روزه با شیر خام و پاستوریزه شتر به همراه داروی ریسپریدون آزمون رفتاری- اجتماعی در موش‌های اوتیسمی، گروه شیر خام شتر همراه داروی ریسپریدون بهبود نسبی داشت؛ به طوری که گروه شیر خام + ریسپریدون در دالان خالی زمان کمتری در مقایسه با گروه والپروئیک اسید گذراندند ($P < 0/05$) (شکل B-۱). در حالی که درمان با داروی ریسپریدون بدون شیر شتر بهبود معناداری با گروه والپروئیک اسید مشاهده نشد. موش‌های تحت درمان با شیر خام و پاستوریزه + ریسپریدون که زمان کمتری را قبل از درمان در دالان غریبه گذرانیده بودند، پس از دریافت درمان شاخص اجتماعی آن‌ها بهبود بخشید ($P < 0/001$) و زمان کمتری را در دالان خالی سپری کردند. شاخص اجتماعی در دو گروه درمان با شیر خام و پاستوریزه شتر در قیاس با گروه والپروئیک اسید همان‌طور که در شکل ۱ (C) نشان داده شده است، اختلاف معناداری داشتند ($P < 0/001$).



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱. اثر شیر خام و پاستوریزه شتر به همراه داروی ریسپریدون بر آزمون تداخلات اجتماعی موش‌های صحرایی القاشده با والپروئیک اسید. (A, B) آزمون قبل و بعد از درمان جامعه‌پذیری. * تفاوت بین گروه‌ها در یک دالان، # تفاوت بین دالان‌ها بین گروه‌ها. اختلاف معناداری برای (* نشان‌دهنده $P < 0/05$), (** نشان‌دهنده $P < 0/01$) و (***) نشان‌دهنده $P < 0/001$) (C) شاخص اجتماعی بودن. اختلاف معناداری برای (# نشان‌دهنده $P < 0/05$), (## نشان‌دهنده $P < 0/01$), (### نشان‌دهنده $P < 0/001$) برای مقایسه قبل و بعد از درمان، (* نشان‌دهنده $P < 0/05$), (** نشان‌دهنده $P < 0/01$) و (***) نشان‌دهنده $P < 0/001$) برای مقایسه بین گروه‌ها بعد درمان (\$ نشان‌دهنده $P < 0/05$), (\$\$ نشان‌دهنده $P < 0/01$) و (\$\$\$ نشان‌دهنده $P < 0/001$) برای مقایسه کنترل قبل از درمان با سایر گروه‌ها. تعداد موش‌های صحرایی ($n=6$) در نظر گرفته شد. اختصارات گروه‌ها شامل: کنترل (Ctrl)، شیر خام شتر (RCM)، شیر پاستوریزه شتر (PCM)، ریسپریدون (Ris)، والپروئیک اسید (VPA)

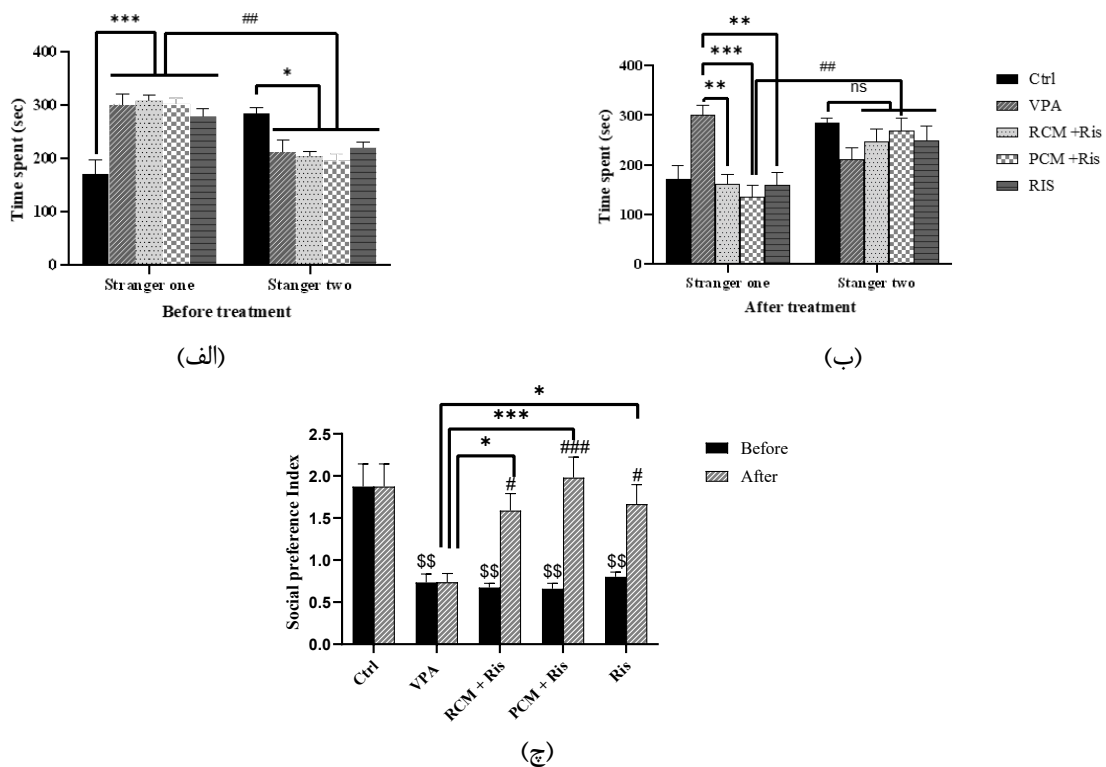
ترجیح اجتماعی و شاخص ترجیح اجتماعی

در آزمون ترجیح اجتماعی، موش‌های کنترل زمان بیشتری را در دالان جدید (غریبه دو) در مقایسه با دالان آشنا (غریبه یک) صرف کردند که رفتار طبیعی ترجیح اجتماعی می‌باشد. موش‌های صحرایی القاشده با والپروئیک اسید زمان کمتری را در دالان جدید ($P < 0.05$) و زمان بیشتری را در دالان آشنا ($P < 0.001$) نسبت به گروه کنترل به نمایش گذاشتند و اختلاف آماری بین دو دالان یک و دو به صورت ($P < 0.01$) بود (شکل ۲- A). این داده‌ها نشان‌دهنده ترجیح اجتماعی پایین در موش‌های القاشده با والپروئیک اسید در قبل از تولد است. همچنین، موش‌های صحرایی اوتیسمی در مقایسه با موش‌های کنترل کاهش قابل توجهی در شاخص ترجیح اجتماعی ($P < 0.01$) نشان دادند (شکل ۲- C).

در حالی که نتایج درمان با شیر شتر و ریسپریدون نشان داد موش‌های صحرایی زمان کمتری را در دالان آشنا (غریبه یک) نسبت به گروه والپروئیک اسید صرف کرده بودند که اختلافات معنادار براساس آزمون آماری برای شیر خام + ریسپریدون ($P < 0.01$)

($P < 0.001$)، شیر پاستوریزه + ریسپریدون ($P < 0.001$) و داروی ریسپریدون تنها ($P < 0.05$) بود و نیز این گروه‌های درمانی با گروه کنترل اختلاف معناداری نداشتند. همچنین گروه‌های درمانی زمان قرارگیری آن‌ها در دالان جدید (غریبه دو) نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری نداشتند. از طرفی گروه شیر پاستوریزه شتر طبق نتایج همانند گروه کنترل زمان بیشتری را با موش غریبه ناآشنا نسبت به موش آشنا گذراند ($P < 0.01$). همچنین نتایج نشان داد که بین گروه‌های درمانی و گروه کنترل در دالان جدید (موش غریبه دو) اختلاف معناداری وجود ندارد (شکل ۲- B).

شاخص ترجیح اجتماعی گروه‌های درمانی ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه والپروئیک اسید همان‌طور که در شکل ۲ (C) نشان داده شده است، افزایش داشت. همچنین طبق نتایج، گروه‌های درمانی نسبت به قبل مطالعه اختلاف معناداری پیدا کردند. معناداری به تفکیک گروه به صورت شیر خام + ریسپریدون ($P < 0.05$)، شیر پاستوریزه + ریسپریدون ($P < 0.001$) و داروی ریسپریدون تنها ($P < 0.05$) بود.

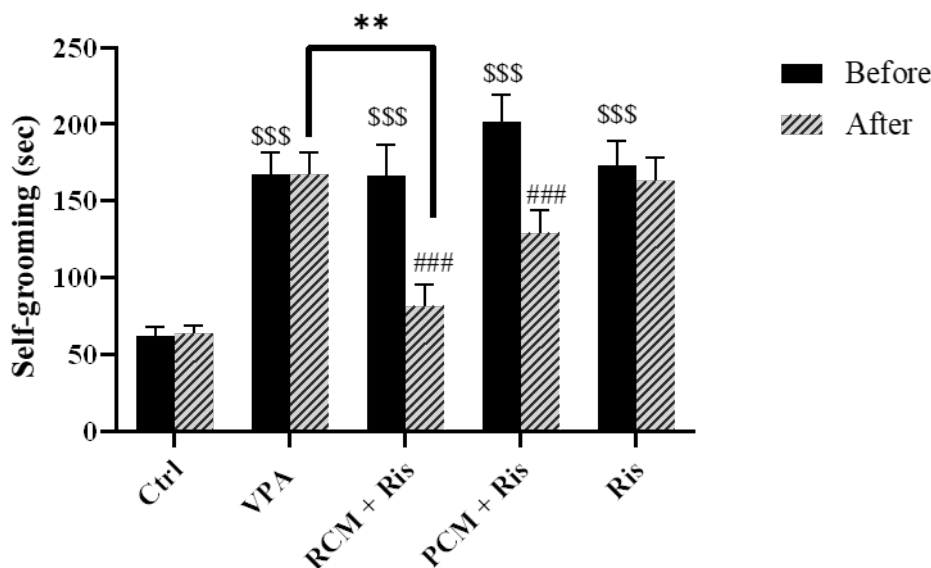


شکل ۲. اثر شیر خام و پاستوریزه شتر به همراه داروی ریسپریدون بر آزمون تداخلات اجتماعی موش‌های صحرایی القاشده با والپروئیک اسید. A, B آزمون قبل و بعد از درمان ترجیح اجتماعی. * تفاوت بین گروه‌ها در یک دالان، # تفاوت بین دالان‌ها بین گروه‌ها. اختلاف معناداری برای (* نشان‌دهنده $P < 0.05$), (** نشان‌دهنده $P < 0.01$) و (***) نشان‌دهنده $P < 0.001$) C شاخص ترجیح اجتماعی. اختلاف معناداری برای (# نشان‌دهنده $P < 0.05$), (## نشان‌دهنده $P < 0.01$), (### نشان‌دهنده $P < 0.001$) و برای مقایسه قبل و بعد از درمان، (* نشان‌دهنده $P < 0.05$), (** نشان‌دهنده $P < 0.01$) و (***) نشان‌دهنده $P < 0.001$) برای مقایسه بین گروه‌ها بعد درمان (\$) نشان‌دهنده $P < 0.05$), (** نشان‌دهنده $P < 0.01$) و (***) نشان‌دهنده $P < 0.001$) برای مقایسه کنترل قبل از درمان با سایر گروه‌ها. تعداد موش‌های صحرایی ($n=6$) در نظر گرفته شد. اختصارات گروه‌ها شامل: کنترل (Ctrl)، شیر خام شتر (RCM)، شیر پاستوریزه شتر (PCM)، ریسپریدون (Ris)، والپروئیک اسید (VPA)

نتایج آزمون رفتارهای تکراری

پس از قرار دادن موش‌های صحرایی به مدت ۱۰ دقیقه در دالان‌ها، زمان خودآراستگی به‌عنوان فاکتور رفتار تکراری محاسبه شد. با توجه به نتایج موش‌هایی که والپروئیک اسید دریافت کرده بودند نسبت به کنترل رفتارهای تکراری بیشتری از جمله بازی با سر و پنجه، خاراندن بدن و لیسیدن بدن و دم و چرخیدن دور خود نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند

($P < 0.001$). پس از درمان، شاهد کم شدن رفتار تکراری در گروه‌های درمانی بودیم؛ به‌طوری‌که بین گروه‌درمانی شیر خام شتر + ریسپریدون و گروه والپروئیک اسید اختلاف معناداری وجود داشت ($P < 0.001$). همچنین بین دو گروه شیر خام شتر + ریسپریدون در قبل و بعد از درمان ($P < 0.001$) و گروه شیر پاستوریزه + ریسپریدون در قبل و بعد از درمان ($P < 0.05$)، بهبود رفتار تکراری مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر شیر خام و پاستوریزه شتر به همراه داروی ریسپریدون بر آزمون رفتارهای تکراری موش‌های صحرایی القا شده با والپروئیک اسید. اختلاف معناداری برای (# نشان‌دهنده $P < 0.05$ ، ## نشان‌دهنده $P < 0.01$ ، ### نشان‌دهنده $P < 0.001$) برای مقایسه قبل و بعد از درمان، (* نشان‌دهنده $P < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $P < 0.01$)، (### نشان‌دهنده $P < 0.001$) و (## نشان‌دهنده $P < 0.01$) برای مقایسه بین گروه‌ها بعد درمان (\$ نشان‌دهنده $P < 0.05$ ، \$\$ نشان‌دهنده $P < 0.01$ ، \$\$\$ نشان‌دهنده $P < 0.001$) برای مقایسه کنترل قبل از درمان با سایر گروه‌ها. تعداد موش‌های صحرایی ($n=6$) در نظر گرفته شد. اختصارات گروه‌ها شامل: کنترل (Ctrl)، شیر خام شتر (RCM)، شیر پاستوریزه شتر (PCM)، ریسپریدون (Ris)، والپروئیک اسید (VPA)

۴. بحث و نتیجه‌گیری

شیر شتر که به‌نظر می‌رسد دارای اثرات درمانی بالقوه در اوتیسم می‌باشد اهداف مطالعاتی گسترده‌ای را در بر گرفته است. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تأثیر مصرف شیر شتر بر آزمون رفتاری-اجتماعی روی موش‌های صحرایی اوتیسمی است. در مطالعه حاضر ابتدا مدل موش اوتیسم ایجاد شد. در این زمینه، اسید والپروئیک در روز ۱۲/۵ حاملگی تزریق شد. حیواناتی که در مرحله قبل از تولد در معرض اسید والپروئیک قرار گرفتند، کاهش اجتماعی بودن، ترجیح اجتماعی و همچنین افزایش رفتارهای تکراری را نشان دادند در حالی که درمان با شیر شتر و ریسپریدون باعث بهبود اختلال رفتاری در موش‌های صحرایی شد. در مطالعه‌ای با مقایسه دوزهای مختلف والپروئیک که در روز

۱۲/۵ حاملگی تجویز شد مشاهده گردید که دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ارتباطات اجتماعی و تبعیض اجتماعی در فرزندان را نشان می‌دهد و دوزهای ۳۰۰ تا ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فنوتیپ‌های شبه‌اوتیسم در سویه‌های مختلف موش‌ها ایجاد می‌کند (۲۲). با این حال، دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مؤثرترین دوز در موش‌های ماده باردار در ایجاد علائم اصلی اوتیسم در فرزندان می‌باشد (۲۳). با توجه به نتایج این مطالعه در آزمون‌های تداخلات رفتاری و نیز تکراری مشاهده شد که موش‌هایی که والپروئیک اسید دریافت کرده بودند نسبت به کنترل، اختلاف معناداری داشتند و مؤید مطالعات گذشته است.

همان‌طور که در کتاب «راهنمای تشخیصی و آماری اختلال‌های روانی^۱ (DSM-5)» شرح داده شده است اولین

دستگاه گوارش بهبود یافته است. در مطالعه‌ای که روی ۶۰ بیمار مبتلا به اوتیسم (۲ تا ۱۲ سال) در عربستان سعودی انجام شد وقتی ۵۰۰ میلی‌لیتر شیر دو بار در روز و به مدت دو هفته به کودکان داده شد در تجزیه و تحلیل سطح پایه آنتی‌اکسیدان‌ها در همه کودکان پایین بود و بهبود قابل توجهی در آزمون‌های شناختی و رفتاری و کاهش اثرات استرس اکسیداتیو را نشان داد. محققان نشان دادند که شیر شتر در تنظیم سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مواد آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیماتیک، نقش مهمی دارد و اثرات استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و علائم روان‌شناختی را بهبود می‌بخشد (۱۳). در گزارش موردی در سال ۲۰۱۳، پسری دارای علائم اوتیسم به مدت شش سال (۲۰۱۳-۲۰۰۷) با مصرف هر شب یک لیوان شیر شتر بهبود علائم اوتیسمی داشت (۱۴). یک مطالعه بالینی دیگر، تأثیر شیر شتر بر نشانگرهای بیوشیمیایی را بررسی کرد. چهل و پنج کودک مبتلا به اوتیسم به‌طور تصادفی به مدت دو هفته؛ شیر شتر پاستوریزه برای گروه I (۱۵ نفر)، شیر شتر خام برای گروه II (۱۵ نفر) و دارونما برای گروه III (۱۵ نفر) دریافت کردند که نتایج علائم بالینی اوتیسم را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشید و سطح سرمی تیموس و کموکین تنظیم-فعالیت ۲ (TARC) را در کودکان اوتیسم کاهش داد (۱۵).

مطالعه‌ای روی شیر خام و پاستوریزه شتر در کودکان اوتیسمی نشان داد بین آن‌ها اختلاف معناداری وجود ندارد. شیر شتر می‌تواند با تغییر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان غیرآنزیماتیک و همچنین بهبود رفتار اجتماعی اوتیسم در مقیاس رتبه‌بندی اوتیسم در دوران کودکی^۳ (CARS) نقش مهمی در درمان اوتیسم داشته باشد (۳۰). در مطالعه پیش رو شیر شتر به‌عنوان یک مواد مغزی که می‌تواند در درمان بیماری‌های اختلال رفتاری مفید باشد معرفی شد. برای درک بهتر اثر شیر شتر در درمان اوتیسم نیاز به مطالعات گسترده ملکولی و بالینی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران از کلیه همکاران که در تحقیق مشارکت داشتند سپاسگزارند.

علامت مهم، نقص در روابط اجتماعی و دومین علامت مهم دیگر در بیماری اوتیسم، رفتارهای تکراری/کلیشه‌ای مانند تکرار صدای غیرمعمول یا حرکات تکراری یا اقدامات با بدن خود یا با اشیاء است (۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فرزندان در معرض والپروئیک دارای تعاملات اجتماعی ضعیفی هستند (صرف وقت کمتر با غریبه‌ها). رفتار ضعیف اجتماعی می‌تواند نتیجه ترس، اضطراب یا اختلال در درک سیگنال‌های ارتباطی از موش‌های غریبه باشد. طبق مطالعات گذشته، بررسی تداخلات اجتماعی و رفتاری با استفاده از روش سه‌دالانی نشان داد که موش‌های اوتیسمی بیشتر تمایل داشتند در دالان‌های خالی قرار بگیرند (۲۴، ۲۵). این تحقیق نیز نشان داد موش‌های اوتیسمی نسبت به موش‌های کنترل، زمان بیشتری را در دالان‌های خالی سپری می‌کنند. در ارتباط با رفتارهای تکراری نیز مطالعات زیادی در مدل والپروئیک نشان داد که افزایش خودآراستگی را در بر دارد (۲۱، ۲۶). در مطالعه حال حاضر نیز پس از تزریق والپروئیک اسید در روز ۱۲/۵ قبل تولد، موش‌های صحرائی با توجه به آزمون خودآراستگی نسبت به گروه کنترل زمان بیشتری را مشغول و رفتن با سر و پنجه و نیز لیسیدن دم و دور خود چرخیدن صرف بودند. این نتایج با نتایج ماستو و همکاران در سال ۲۰۲۰ مطابقت داشت (۲۱) و در آن مطالعه گروه والپروئیک اسید به میزان ($P < 0.01$)، با گروه کنترل اختلاف معنادار داشتند.

با این حال پس از دریافت شیر شتر به همراه ریسپریدون، تمایلات موش‌های صحرائی به ارتباط و قرار گرفتن در کنار موش غریبه بیشتر شد. در نهایت ارتباط اجتماعی آسیب‌دیده در حیواناتی که قبل از تولد در معرض والپروئیک قرار داشتند، بهبود پیدا کرد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی با دیگر درمان‌ها مطابقت دارد (۱۹، ۲۱، ۲۷، ۲۸). در بررسی رفتارهای تکراری نیز پس از دریافت شیر شتر به همراه داروی ریسپریدون، خودآراستگی موش‌ها به‌طور محسوسی کاهش یافت و با دیگر درمان‌ها که باعث کاهش خودآراستگی شامل و رفتن با سر و پنجه و لیسیدن دم و دور خود چرخیدن بود مطابقت داشت (۲۱، ۲۶).

در مطالعه‌ای مشاهده شد که با مصرف شیر شتر به مدت ۳۰ روز، علائم اوتیسم در کودکان زیر ۱۵ سال ناپدید شد (۲۹). برخی از والدین گزارش دادند که پس از استفاده شیر شتر، برخی از علائم فرزند مبتلا به اوتیسم مانند خواب، افزایش برنامه‌ریزی حرکتی، آگاهی فضایی^۱، افزایش تماس چشمی، گفتار و عملکرد

References

- [1]. Vieta E. DSM-5.1. Acta Psychiatr Scand. 2016 Sep;134(3):187-8. PubMed PMID: 27500779. Epub 2016/08/09.
- [2]. Rosenhan D. Seligman. ME (1995). Abnormal psychology. New York: Academic Press.
- [3]. Jin Y, Wee CY, Shi F, Thung KH, Yap PT, Shen D. Identification of Infants at Risk for Autism Using Multi-parameter Hierarchical White Matter Connectomes. Mach Learn Med Imaging. 2015;9352:170-7. PubMed PMID: 26900607. Pubmed Central PMCID: Pmc4758369. Epub 2016/02/24.
- [4]. Yenkovyan K, Grigoryan A, Fereshetyan K, Yepremyan D. Advances in understanding the pathophysiology of autism spectrum disorders. Behav Brain Res. 2017 Jul 28;331:92-101. PubMed PMID: 28499914. Epub 2017/05/14.
- [5]. Kellogg M, Meador KJ. Neurodevelopmental Effects of Antiepileptic Drugs. Neurochemical research. 2017 Jul;42(7):2065-70. PubMed PMID: 28424947. Pubmed Central PMCID: Pmc6390972. Epub 2017/04/21.
- [6]. Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus? Reproductive toxicology (Elmsford, NY). 2009 Jul;28(1):1-10. PubMed PMID: 19490988. Epub 2009/06/06.
- [7]. Inui T, Kumagaya S, Myowa-Yamakoshi M. Neurodevelopmental Hypothesis about the Etiology of Autism Spectrum Disorders. Front Hum Neurosci. 2017;11:354. PubMed PMID: 28744208. Pubmed Central PMCID: Pmc5504094. Epub 2017/07/27.
- [8]. Lamy M, Erickson CA. Pharmacological management of behavioral disturbances in children and adolescents with autism spectrum disorders. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care. 2018 Oct;48(10):250-64. PubMed PMID: 30262163. Epub 2018/09/29.
- [9]. Yagil R. Camel milk and its unique anti-diarrheal properties. Isr Med Assoc J. 2013 Jan;15(1):35-6. PubMed PMID: 23484237. Epub 2013/03/15.
- [10]. Singh R, Mal G, Kumar D, Patil NV, Pathak KML. Camel Milk: An Important Natural Adjuvant. Agric Res. 2017;6(4):327-40.
- [11]. Hammam ARA. Compositional and therapeutic properties of camel milk: A review. Emirates J Food Agric. 2019;31(3):148-52.
- [12]. Izadi A, Khedmat L, Mojtahedi SY. Nutritional and therapeutic perspectives of camel milk and its protein hydrolysates: A review on versatile biofunctional properties. J Funct Foods. 2019 2019/09/01/;60:103441.
- [13]. Al-Ayadhi LY, Elamin NE. Camel milk as a potential therapy as an antioxidant in autism spectrum disorder (ASD). Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013.
- [14]. Adams CM. Patient report: autism spectrum disorder treated with camel milk. Global Advances in Health and Medicine. 2013;2(6):78-80.
- [15]. Bashir S, Al-Ayadhi LY. Effect of camel milk on thymus and activation-regulated chemokine in autistic children: double-blind study. Pediatr Res. 2014;75(4):559-63.
- [16]. Mirza R, Sharma B. Benefits of Fenofibrate in prenatal valproic acid-induced autism spectrum disorder related phenotype in rats. Brain Res Bull. 2019;147:36-46.
- [17]. Hamzawy MA, El-Ghandour YB, Abdel-Aziem SH, Ali ZH. Leptin and camel milk abate oxidative stress status, genotoxicity induced in valproic acid rat model of autism. Int J Immunopathol Pharmacol. 2018;32:2058738418785514.
- [18]. Hara Y, Takuma K, Takano E, Katashiba K, Taruta A, Higashino K, et al. Reduced prefrontal dopaminergic activity in valproic acid-treated mouse autism model. Behav Brain Res. 2015;289:39-47.
- [19]. Hara Y, Ago Y, Taruta A, Hasebe S, Kawase H, Tanabe W, et al. Risperidone and aripiprazole alleviate prenatal valproic acid-induced abnormalities in behaviors and dendritic spine density in mice. Psychopharmacology (Berl). 2017;234(21):3217-28.
- [20]. Ishola IO, Balogun AO, Adeyemi OO. Novel potential of metformin on valproic acid-induced autism spectrum disorder in rats: involvement of antioxidant defence system. Fundam Clin Pharmacol. 2020;34(6):650-61.
- [21]. Matsuo K, Yabuki Y, Fukunaga K. 5-aminolevulinic acid inhibits oxidative stress and ameliorates autistic-like behaviors in prenatal valproic acid-exposed rats. Neuropharmacology. 2020;168:107975.
- [22]. Servadio M, Manduca A, Melancia F, Leboffe L, Schiavi S, Campolongo P, et al. Impaired repair of DNA damage is associated with autistic-like traits in rats prenatally exposed to valproic acid. Eur Neuropsychopharmacol. 2018;28(1):85-96.
- [23]. Hara Y, Ago Y, Higuchi M, Hasebe S, Nakazawa T, Hashimoto H, et al. Oxytocin attenuates deficits in social interaction but not recognition memory in a prenatal valproic acid-induced mouse model of autism. Horm Behav. 2017;96:130-6.
- [24]. Campolongo M, Kazlauskas N, Falasco G, Urrutia L, Salgueiro N, Höcht C, et al. Sociability deficits after prenatal exposure to valproic acid are rescued by early social enrichment. 2018;9:36.
- [25]. Melancia F, Schiavi S, Servadio M, Cartocci V, Campolongo P, Palmery M, et al. Sex-specific autistic endophenotypes induced by prenatal exposure to valproic acid involve anandamide signalling. 2018;175(18):3699-712.
- [26]. Moldrich RX, Leanage G, She D, Dolan-Evans E, Nelson M, Reza N, et al. Inhibition of histone deacetylase in utero causes sociability deficits in postnatal mice. Behav Brain Res. 2013;257:253-64.
- [27]. Fontes-Dutra M, Della-Flora Nunes G, Santos-Terra J, Souza-Nunes W, Bauer-Negrini G, Hirsch MM, et al. Abnormal empathy-like pro-social behaviour in the valproic acid model of autism spectrum disorder. Behav Brain Res. 2019;364:11-8.
- [28]. Al-Amin MM, Rahman MM, Khan FR, Zaman F, Mahmud Reza H. Astaxanthin improves behavioral disorder and oxidative stress in prenatal valproic acid-induced mice model of autism. Behav Brain Res. 2015;286:112-21.
- [29]. Zibae S, Hosseini SMA-R, Yousefi M, Taghipour A, Kiani MA, Noras MR. Nutritional and Therapeutic Characteristics of Camel Milk in Children: A Systematic Review. Electron Physician. 2015;7(7):1523-8.
- [30]. Al-Ayadhi LY, Elamin NE. Camel Milk as a Potential Therapy as an Antioxidant in Autism Spectrum Disorder (ASD). Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2013;2013:602834.