

## اثر بتائین بر تغییرات بافتی مخچه، تعادل و عملکرد حرکتی در موش‌های صحرایی نر مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس

سمانه راهدار<sup>۱</sup>، زهرا بصیر<sup>۲</sup>، محمدرضا تابنده<sup>۳</sup>، زهره قطب الدین<sup>۴</sup>، کاوه خزائیل<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** یکی از بیماری‌های التهابی مزمن سیستم عصبی مرکزی، مالتیپل اسکلروزیس (MS (Multiple sclerosis است. بتائین دارای قابلیت اثرات ضد التهابی و محافظت عصبی است. مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثر بتائین بر تغییرات بافتی مخچه و فعالیت‌های حرکتی در مدل تجربی MS انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۲۰ سر رت نر بالغ ۱۲ هفته‌ای به گروه‌های شاهد، MS، +MS بتائین و بتائین تقسیم شدند. برای ایجاد مدل MS، حیوانات به مدت ۱۲ هفته با غذای حاوی کوپریزون ۰/۵ درصد تغذیه شدند. برای درمان بتائین با دوز ۱ درصد در آب آشامیدنی به مدت ۶ هفته انتهایی داده شد. در پایان دوره، به‌منظور سنجش تعادل و هماهنگی حرکتی تست‌های روتارود، میدان‌باز و تست توری معکوس انجام و همچنین مخچه حیوانات از نظر تغییرات بافت‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته‌ها:** فعالیت‌های حرکتی و حفظ تعادل در گروه MS نسبت به گروه شاهد کاهش شدیدی نشان داد در حالیکه درمان با بتائین سبب بهبود این علائم شد. در بررسی‌های بافت‌شناسی، تغییرات بافتی در سلول‌های پورکینز از جمله کاهش تعداد، متراکم و پیکنوز شدن هسته، کاهش قطر جسم سلولی و هسته این سلول‌ها در گروه MS دیده شد. در حالیکه گروه MS دریافت‌کننده بتائین تغییرات به‌شکل واضحی بهبود یافته بود و سلول‌های پورکینز توانسته بودند تعداد و شکل خود را حفظ کنند.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، بتائین می‌تواند به‌عنوان یک بیومولکول مؤثر در روند ترمیم بافتی و بهبود رفتارهای حرکتی در بیماران مبتلا به MS در نظر گرفته شود.

**واژگان کلیدی:** بتائین؛ سلول‌های پورکینز؛ مخچه؛ مهارت‌های حرکتی؛ مالتیپل اسکلروزیس

**ارجاع:** راهدار سمانه، بصیر زهرا، تابنده محمدرضا، قطب الدین زهره، خزائیل کاوه. اثر بتائین بر تغییرات بافتی مخچه، تعادل و عملکرد حرکتی در

موش‌های صحرایی نر مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۳۴): ۷۷۹-۷۷۳

در ادامه، الیگودندروسیت‌ها ترمیم غلاف میلین را به کندی انجام می‌دهند و در نتیجه نوروها قادر به ارسال مؤثر سیگنال عصبی نمی‌باشند (۲). مدل‌های حیوانی ایجاد این بیماری شامل تخریب میلین با ویروس، فعال کردن دستگاه ایمنی یا تخریب میلین با استفاده از مواد شیمیایی نظیر اتیدیوم بروماید، لیزولستین و کوپریزون است (۳). تحقیقات نشان داده‌اند که کوپریزون با اثر مستقیم بر الیگودندروسیت‌های بالغ، منجر به آپوپتوز الیگودندروسیت‌ها و دژنراسیون غلاف میلین، افزایش استرس شبکه‌ی آندوپلاسمی،

### مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (MS (Multiple sclerosis، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی است. این بیماری ناشی از یک اختلال خودایمنی در سیستم عصبی مرکزی بوده که در افراد مستعد ژنتیکی بروز می‌یابد. از علائم اصلی این بیماری می‌توان به فلجی، فقدان حس، خستگی، نقایص شناختی، اسپاسم عضلانی، لرزش، درد و اختلال در حافظه اشاره کرد (۱). در این بیماری سیستم ایمنی بدن غلاف میلین را بیگانه شناخته و باعث تخریب پروتئین‌های اصلی میلین می‌شود و

۱- دانشجوی دکتری بافت‌شناسی مقایسه‌ای، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استادیار، گروه علوم پایه، بخش بافت‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم پایه، بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

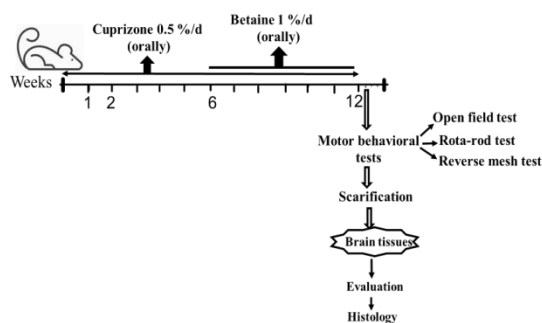
۴- دانشیار، گروه علوم پایه، بخش فیزیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- استادیار، گروه علوم پایه، بخش آناتومی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زهرا بصیر؛ استادیار، گروه علوم پایه، بخش بافت‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

سازگاری با محیط نگهداری شدند. موش‌ها تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی با دمای ثابت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی، همراه با تهویه مناسب نگهداری شدند و با پلت مخصوص جوندگان (پارس، تهران) تغذیه شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. حیوانات بطور تصادفی به چهار گروه تقسیم‌بندی شدند:

- گروه اول (شاهد): در این گروه، موش‌ها با تغذیه معمولی و شرایط محیطی یکسان با سایر گروه‌ها نگهداری شدند.
- گروه دوم (MS): به منظور القاء بیماری MS، کوپریزون (مرک، آلمان) با نسبت وزنی ۰/۵ درصد به مدت ۱۲ هفته به غذای حیوانات افزوده شد (۹).
- گروه سوم (MS+ Betaine): در این گروه موش‌ها پس از القاء MS با بتائین (بیوبیسک، کانادا) با دز ۱ درصد محلول در آب آشامیدنی به مدت ۶ هفته انتهایی درمان شدند (۱۰).
- گروه چهارم (Betaine): در این گروه بتائین در آب آشامیدنی روزانه (۱ درصد) در طول ۶ هفته به موش‌های سالم داده شد (۱۰) (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر شماتیکی از پژوهش حاضر

تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید چمران اهواز، طراحی و با کد اخلاق EE/1401.2.24.82873/scu.ac.ir اجرا شد.

**تست‌های رفتار حرکتی و حفظ تعادل:** در پایان دوره تحقیق، به منظور ارزیابی فعالیت حرکتی، هماهنگی حرکتی و تعادل از آزمون‌های جعبه باز، روتارود و آزمون توری معکوس استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها در دوره روشنایی فعالیت حیوان و در محدوده زمانی ساعت ۹ صبح تا ۱۲ ظهر انجام شدند.

در آزمون جعبه باز، فعالیت حرکتی حیوان، بر اساس جابه‌جایی از یک نقطه به نقطه دیگر، توسط دوربین دستگاه اندازه‌گیری و محاسبه شد. تجهیزات این دستگاه شامل یک جعبه مکعبی روباز با کف چوبی که کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم می‌شد. موش‌ها در مرکز صفحه

استرس اکسیداتیو، دژنراسیون آکسونی بعلاوه میکروگلیوز، آستروگلیوز، پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ در سلول‌ها می‌شود که در نهایت منجر به ایجاد بیماری MS می‌گردد (۴).

مخچه، نقش مهمی در برخی از یادگیری‌های حرکتی، حرکات بدن و حفظ وضعیت ایستایی بدن دارد. با توجه به موقعیت مکانی مخچه که میان قشر مغز و نخاع قرار دارد، اطلاعات حسی دریافتی از نخاع را باهم ادغام و همسان‌سازی می‌نماید. بطور کلی آسیب به مخچه باعث اختلال در هماهنگی حرکات می‌شود. تنها خروجی قشر مخچه از طریق آکسون‌های سلول‌های پورکینژ است. آکسون سلول‌های پورکینژ، به سمت هسته‌های عمقی مخچه‌ای و هسته‌های دهلیزی خارجی می‌روند. این خروجی مهارتی قشر مخچه می‌تواند سرعت، محدوده نیرو و جهت حرکات را تنظیم کند. بدنبال ایجاد بیماری MS در سیستم عصبی مرکزی، التهاب بافتی و مرگ سلول‌های عصبی به ویژه در مخچه رخ می‌دهد (۵).

بتائین (تری‌متیل گلیسین)، یک ترکیب ۴ ظرفیتی آمونومی می‌باشد که به‌دنبال اکسیداسیون کولین در غشای داخلی میتوکندری تولید می‌شود و در بافت‌های مختلف اعمال بیولوژیکی متعددی را انجام می‌دهد. بتائین به‌دلیل دارا بودن گروه‌های آمینی و کربوکسیل در تنظیم فشار اسمزی درون سلولی نقش ایفا می‌کند. مهم‌ترین نقش بتائین، مشارکت در واکنش انتقال گروه متیل در آنزیم بتائین هموسیستئین متیل ترانسفراز می‌باشد که یک واکنش ضروری در بیوسنتز اسیدهای آمینه متیونین و سیستئین محسوب می‌گردد (۶).

Rahmani و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ی خود اثرات نوروپروتکتیو بتائین را مدل پارکینسونی القا شده با ۶-هیدروکسی دوپا نشان دادند (۷).

Zhang و همکاران بیان کردند که بتائین همچنین می‌تواند بر تولید/بازیافت گابا و مسیره‌های گاباژیک تأثیر بگذارد. گابا، انتقال‌دهنده عصبی مهارتی در سیستم عصبی مرکزی است و عدم تعادل در میزان گابا می‌تواند با بسیاری از بیماری‌های عصبی مانند اختلال طیف اوتیسم، اسکیزوفرنی، صرع، افسردگی، پارکینسون و بیماری آلزایمر مرتبط باشد (۸). این مطالعه به منظور تعیین اثرات و استفاده از بتائین بر تغییرات بافت‌شناسی مخچه و فعالیت حرکتی در موش‌های صحرایی نر مدل تجربی مالتیپل اسکلروزیس انجام شد.

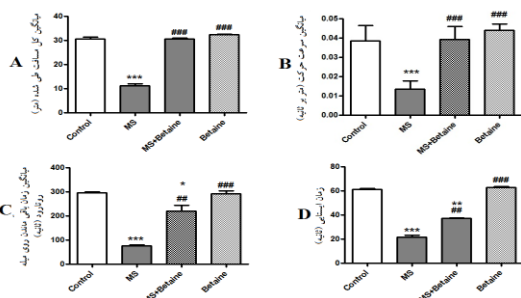
## روش‌ها

**حیوانات و شرایط آزمایشگاهی:** این تحقیق تجربی با استفاده از ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ ۱۲ هفته‌ای (۵ سر در هر گروه) که از مرکز رویان اصفهان خریداری شده بود، انجام شد. موش‌ها ابتدا در خانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی دامپزشکی به مدت یک هفته به منظور

ارزیابی نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey مقایسه‌ی بین گروه‌های شاهد و آزمایش استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

**رفتارهای حرکتی و تعادل:** آنالیز آماری واریانس یک‌طرفه و بررسی مقایسه‌ی نتایج بدست آمده بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که در آزمون جعبه باز، میانگین مسافت طی شده و سرعت حرکت در حیوانات گروه MS نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ( $P < 0/001$ ). در حالی که مصرف بتائین باعث افزایش معنی‌داری سرعت و مسافت طی شده نسبت به گروه MS شد ( $P < 0/001$ ). بین گروه شاهد و بتائین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). مطابق نتایج به دست آمده از آزمون روتارود، مدت زمان حفظ تعادل و هماهنگی حرکتی در گروه‌های MS ( $P < 0/001$ ) و MS+Betaine ( $P < 0/05$ ) نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری یافت. در حالی که بین گروه بتائین و شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. زمان حفظ تعادل بر روی میله چرخان روتارود در گروه MS+Betaine نسبت به گروه MS به تنهایی، افزایش معنی‌داری یافت ( $P < 0/01$ ). نتایج زمان حفظ تعادل و استقامت بر روی توری معکوس نیز نشان می‌دهد که زمان ایستایی در گروه‌های MS ( $P < 0/001$ ) و MS+Betaine ( $P < 0/01$ ) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت، اما تیمار با بتائین باعث افزایش زمان ایستایی در گروه MS+Betaine نسبت به گروه MS شد ( $P < 0/01$ ) (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  انحراف معیار رفتارهای حرکتی بین گروه‌های آزمایشی مختلف ( $n = 5$ ): A: مسافت طی شده (متر)، B: سرعت حرکت (متر بر ثانیه) در آزمون جعبه باز، C: زمان حفظ تعادل در آزمون روتارود و D: زمان ایستایی در آزمون توری معکوس را نشان می‌دهند.  $P < 0/05$ : \*،  $P < 0/01$ : \*\*،  $P < 0/001$ : \*\*\*؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد و # تفاوت را در مقایسه با گروه MS: ###،  $P < 0/01$ ،  $P < 0/001$ . ### نشان می‌دهند.

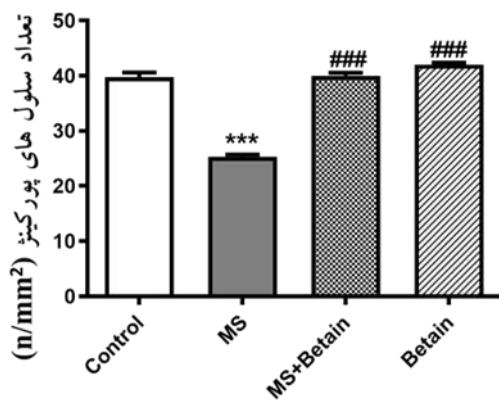
قرار می‌گرفتند و ۱۰ دقیقه در جعبه‌ی باز سپری می‌کردند. ۵ دقیقه‌ی اول برای سازش با دستگاه در نظر گرفته می‌شد و ۵ دقیقه‌ی دوم برای ارزیابی فعالیت حرکتی حیوان (کل مسافت طی شده و سرعت حرکت) ثبت و مورد بررسی قرار می‌گرفت (۱۱).

آزمون روتارود برای ارزیابی تعادل و قدرت هماهنگی بین اندام‌های حرکتی استفاده شد. دستگاه روتارود شامل یک گردونه (روی میله‌ی افقی چرخنده) است. گردونه حدود ۲۰ cm از زمین فاصله دارد و توسط صفحات کروی شکل، به ۴ بخش مجزا تقسیم می‌شود. در این آزمایش سرعت چرخیدن ۷ rpm در نظر گرفته شده که تقریباً ۱۱-۱۰ دور در دقیقه است. برای ارزیابی تعادل توسط این دستگاه، حیوان بر روی گردونه در حال چرخش که سرعت آن از ۵ به ۴۵ دور در دقیقه در مدت ۳۰۰ ثانیه افزایش داده می‌شود، قرار گرفته و زمان حفظ تعادل و باقی ماندن روی میله برای هر حیوان (سه بار و هر بار ۵ دقیقه با فاصله‌ی ۱۵ دقیقه) ثبت و میانگین آن‌ها برحسب ثانیه یادداشت شد (۱۲).

آزمون توری معکوس با هدف ثبت هماهنگی حرکتی، بررسی نقص سیستم حسی حرکتی و تعادل در جوندگان استفاده می‌شود. برای این منظور، موش‌ها در مرکز یک سبد مستطیلی (به طول ۶۰ سانتی‌متر و عرض ۵۰ سانتی‌متر) قرار می‌گرفتند و سپس سبد را بلافاصله واژگون و در فاصله‌ی ۵۰ سانتی‌متری بالای سطح زمین نگه‌داشته و زمان افتادن موش‌ها از سبد ثبت شد. این آزمایش برای هر موش ۳ بار انجام شده و مدت زمان استقامت حیوان بر روی توری ثبت شد (۱۳).

**بررسی‌های بافتی:** به منظور بررسی بافتی مخچه‌ی حیوانات پس از انجام تست‌های حرکتی با استفاده از مخلوط کتامین و زایلازین ( $10+100 \text{ mg/kg}$ ) آسان‌کشی شدند، سپس با برداشت پوست و برش حجمه، بافت مغز جدا گردید. بافت‌های مخچه به منظور بررسی و انجام آزمایش‌های بافتی در محلول تثبیت‌کننده‌ی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شدند. جهت تهیه‌ی مقاطع میکروسکوپی، ابتدا نمونه‌ها توسط دستگاه هیستوکانت (RX-11B، آلمان) مراحل آگیری با الکل‌های صعودی و شفاف‌سازی توسط گزیلول و آغستگی به پارافین را طی کردند و بعد از تهیه‌ی قالب‌های پارافینی توسط میکروتوم دستی دوار (مدل RM2245-LEICA، آلمان)، برش‌هایی به ضخامت ۶-۵ میکرومتر تهیه و مقاطع بافتی آماده گردیدند. سپس، توسط رنگ‌آمیزی عمومی هماتوکسیلین-انوزین (H&E) (مرک، آلمان) رنگ‌آمیزی شدند. سپس لام‌های تهیه شده جهت مطالعه‌ی هیستومورفولوژیک ساختار بافتی مخچه از نظر تعداد سلول‌ها و هسته این سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPadPrism-9 انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد بیان شد.



شکل ۴. مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  انحراف معیار تعداد سلول‌های پورکینز در هر میلی‌متر مربع از لایه‌ی پورکینز بین گروه‌های آزمایشی مختلف ( $n = 5$ ).  
 ° نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد:  $P < 0.001$ ؛  
 # نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه MS و  $P < 0.001$ ؛ ###

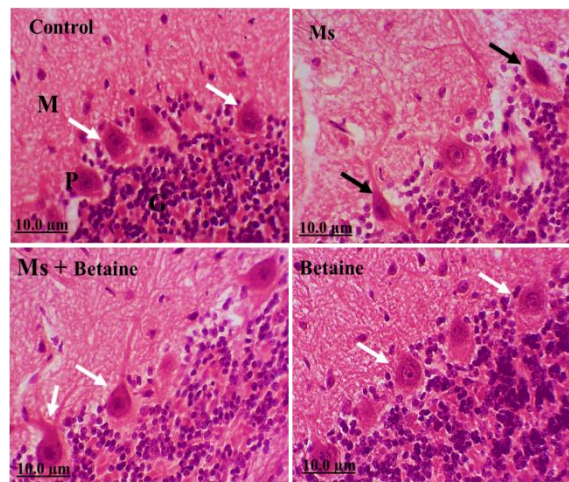
### بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که القاء MS در موش‌ها باعث کاهش قابل توجهی در فعالیت حرکتی در تست جعبه باز و حفظ تعادل روی روتارود و حفظ استقامت در سبده معکوس در مقایسه با گروه شاهد شد. به دنبال بررسی‌های بافتی نیز تغییرات محسوسی در سلول‌های پورکینز (کاهش تعداد و کاهش قطر، کاهش سیتوپلاسم سلول‌های پورکینز) دیده شد. در گروه دارای MS و به دنبال آن دریافت‌کننده‌ی بتائین این نقایص حرکتی و بافتی بهبود یافت. از آن‌جایی که بتائین به‌عنوان یک ترکیب طبیعی جایگزین گروه متیل و یا کلریدکولین در نظر گرفته می‌شود و دارای خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کنندگی عصبی است (۱۴).

در مطالعه‌ی جدید دانشمندان دریافتند که موش‌هایی که ژن CHDH (ژن دخیل در ساختن بتائین) را از دست داده بودند، رفتارهای افسردگی را نشان دادند و سطح بتائین آن‌ها در مغز و خون پایین شد. با مصرف مکمل بتائین به این موش‌ها سطح بتائین در مغز آن‌ها افزایش یافت و مشخص شد که این ماده می‌تواند از سد خونی-مغزی عبور کند (۱۵). این نتایج همسو با مطالعات قبلی است که نشان دادند، MS ناشی از کوپریزون می‌تواند باعث اختلال حافظه، کاهش زمان ماندن بر روی میله چرخان، عدم تعادل و اختلال حرکتی شود (۱۵-۱۷).

همسو با تحقیقات ما در مطالعه‌ی Özcan و Ünsal در سال ۲۰۱۸ گزارش کردند که مصرف کوپریزون، سبب دمیالیناسیون، کاهش سرعت هدایت عصب، کاهش دامنه و سطح زیر منحنی پتانسیل عمل ماهیچه، کاهش وزن بدن، کاهش جذب غذا و همزمان افزایش تأخیر در پتانسیل عمل ماهیچه‌ای می‌شود (۱۸).

نتایج هیستولوژی بافت مخچه: در بررسی میکروسکوپی مقاطع بافتی تهیه شده از مخچه‌ی موش صحرایی، مشخص شد که سلول‌های پورکینز در گروه شاهد، دارای سیتوپلاسمی اتوزینوفیلی و هسته‌ای روشن و بزرگ هستند. در گروه MS در مقایسه با گروه شاهد، مقداری پرخونی در لایه‌ی مولکولی مشاهده شد و سلول‌های پورکینز پراکنده، نامنظم و کوچک‌تر از حد معمول بودند، هسته‌ی سلول‌ها چروکیده و متراکم و سیتوپلاسم تیره شده بود. در گروه MS تحت درمان با بتائین این آسیب‌ها کاهش یافته بود و از نظر ظاهری مشابه گروه شاهد شده بودند. در گروه دریافت‌کننده‌ی بتائین به تنهایی نیز بافت مخچه مشابه گروه شاهد بود (شکل ۳).



شکل ۳. تصویر میکروسکوپی بافت مخچه در گروه‌های آزمایشی مختلف ( $H\&E \times 400$ ). فلش‌های سفید، سلول‌های پورکینز طبیعی را نشان می‌دهند. فلش‌های سیاه، سلول‌های پورکینز تغییر شکل یافته و پیکنوتیک را نشان می‌دهند.

در شمارش سلولی تعداد سلول‌های پورکینز در هر میلی‌متر مربع از لایه پورکینز قشر خاکستری مخچه، تعداد این سلول‌ها در گروه MS در مقایسه با گروه شاهد، بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ( $P < 0.001$ ). با درمان توسط بتائین در گروه دارای MS، تعداد این سلول‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافته بود ( $P < 0.001$ ) (شکل ۴). در بررسی قطر جسم سلولی و هسته‌ی این سلول‌ها مشخص شد که با القای بیماری قطر جسم سلولی و هسته‌ی آن‌ها نسبت به گروه شاهد، بطور معنی‌داری کاهش یافته بود ( $P < 0.001$ ) و در گروه دارای MS درمان توسط بتائین در مقایسه با گروه MS، توانسته بود این کاهش را بطور معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) برای جسم سلولی و ( $P < 0.001$  برای هسته) جبران کند.

واسطه‌ی متابولیک عمل می‌کند، بر مسیرهای تولید/بازیافت انتقال‌دهنده‌ی عصبی بازدارنده تأثیر می‌گذارد و در مجموع بتائین در تعدیل فیزیولوژی عصبی هیپوکامپ و محافظت عصبی نقش دارد (۶).  
Alipourfard و همکاران در سال ۲۰۲۳ نشان دادند که تجویز خوراکی بتائین می‌تواند از اختلال حافظه‌ی ناشی از تزریق آمیلوئید بتا احتمالاً از طریق سرکوب استرس اکسیداتیو در ناحیه‌ی هیپوکامپ موش‌ها جلوگیری کند و اثر محافظت عصبی در بیماری آلزایمر دارد (۲۲). نتایج حاصل با کارهای انجام شده مشابه بوده و شواهد نشان می‌دهد که مصرف بتائین می‌تواند یک پنجره‌ی جدید برای درمان بیماری‌های عصبی مانند MS ایجاد کند.

### نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، درمان موش‌های مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس (القا شده به‌وسیله‌ی کوپریزون)، باعث بهبود فعالیت حرکتی، حفظ تعادل و کاهش آسیب‌های بافتی مخچه ناشی از القاء بیماری شد و استفاده از بتائین می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی جدید درمانی برای بهبود و کنترل شدت بیماری‌های اتوایمیون مانند MS مدنظر قرار گیرد. اما با این حال برای استفاده‌ی کلینیکی بتائین در درمان بیماران مبتلا به MS، مطالعات بیشتر و تأیید پتانسیل‌های درمانی بیشتری ضروری است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع PhD رشته‌ی بافت‌شناسی مقایسه‌ای دامپزشکی می‌باشد که در دانشگاه شهید چمران اهواز به تصویب رسیده و با حمایت مالی SCU.VB1402.103 به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تقدیر و تشکر می‌شود.

Omotoso و همکاران نشان دادند که مصرف کوپریزون منجر به کاهش قابل توجهی از فعالیت‌های حرکتی و آسیب به بافت مخچه در موش‌های صحرایی شد. آن‌ها بیان کردند که بدنال مصرف داروی کولایرون (داروی شیمیایی) به‌طور قابل توجهی عملکردهای رفتاری افزایش و انحطاط و تغییرات بافتی مخچه ناشی از کوپریزون بهبود یافت (۱۶).

در مطالعه‌ی Li و همکاران، پس از ایجاد ایسکمی و خون‌رسانی مجدد در بافت مغز با بررسی‌های بافتی ادم بینابینی و از هم‌گسیختگی نورون‌ها و متلاشی شدن هسته‌ها را مشاهده کردند. آن‌ها بیان کردند که درمان با بتائین با دوز بالا (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توانست هیستومورفولوژی کورتکس را به‌سطح طبیعی بازگرداند (۱۹).

Redondo و همکاران با استفاده از تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی در بیماری MS، تغییراتی را در نوروفیلامنت‌های سلول‌های پورکینز، از جمله از دست دادن سلول‌های پورکینز و کاهش تعداد سلول‌های پورکینز و دژنراسیون سلول‌های پورکینز را مشاهده کردند و بیان نمودند که در قشر مخچه، نورون‌ها دمیلینه می‌شوند (۲۰). در همین راستا، نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که در گروه‌های کنترل و بتائین سلول‌های پورکینز دارای هسته‌ای بزرگ و یوکروماتینی و سیتوپلاسم ائوزینوفیلی بودند. در گروه دریافت‌کننده‌ی کوپریزون بدنال ایجاد MS، کاهش تعداد و کاهش قطر، کاهش سیتوپلاسم سلول‌های پورکینز، کوچک و چروکیده شدن هسته‌ی این سلول‌ها مشاهده گردید و در گروه MS دریافت‌کننده‌ی بتائین بهبود تغییرات بافتی و سلول‌های پورکینز و هسته آن‌ها مشاهده گردید.

اسلامی و همکاران نیز نشان دادند که در گروه دریافت‌کننده‌ی ایتدیوم بروماید و بدنال القاء MS، تعداد سلول‌های پورکینز متراکم شده و پیکنوزه و دمیلینه شدن در بافت مغزی افزایش یافته است (۲۱). دانشمندان بیان کردند که بتائین علاوه بر اینکه به‌عنوان اسمولیت و

### References

1. Khezri S, Samadi S, Rahmani F, Tarbali S. Molecular study of the effect of progesterone on optic chiasm in male rat following ethidium bromide-induced demyelination [in Persian]. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 25(133): 206-17.
2. López-Muguruza E, Matute C. Alterations of oligodendrocyte and myelin energy metabolism in multiple sclerosis. *Int J Mol Sci* 2023; 24(16): 12912.
3. Shirazi A, Golab F, Sanadgol N, Barati M, Mohammad Salehi R, Vahabzadeh G, et al. Evaluation of the neurotrophic factors in animal model of myelin destruction induced by cuprizone in c57bl/6 mice [in Persian]. *Shefaye Khatam* 2016; 4(2): 47-54.
4. Ghaiad HR, Abd-Elmawla MA, Gad ES, Ahmed KA, Abdelmonem M. Modulating miR-146a expression by hydrogen sulfide ameliorates motor dysfunction and axonal demyelination in cuprizone-induced multiple sclerosis. *ACS Chem Neurosci* 2023; 14(17):3047-58.
5. Chasiotis AK, Kitsos DK, Stavrogianni K, Giannopoulos V, Papadopoulou M, Zompola C, et al. Rehabilitation on cerebellar ataxic patients with multiple sclerosis: A systematic review. *J Neurosci Res* 2023; 101(12):1773-80.
6. Sternbach S, McDonough J. Betaine as a neuroprotective therapy in multiple sclerosis. *Treatments, Nutraceuticals, Supplements, and Herbal Medicine in Neurological Disorders: Elsevier*; 2023. p. 443-52.

7. Rahmani B, Zendehtdel M, Babapour V, Sadeghinezhad J, Alirezaei M. Evaluation of betaine neuroprotective effects on 6-hydroxy dopamine induced hemi parkinsonism in male wistar rats. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 2019; 13(3): 290-302.
8. Zhang W, Xiong BR, Zhang LQ, Huang X, Yuan X, Tian YK, et al. The role of the GABAergic system in diseases of the central nervous system. *Neuroscience* 2021; 470: 88-99.
9. Zimmermann J, Emrich M, Krauthausen M, Saxe S, Nitsch L, Heneka MT, et al. IL-17A promotes granulocyte infiltration, myelin loss, microglia activation, and behavioral deficits during cuprizone-induced demyelination. *Mol Neurobiol* 2018; 55(2): 946-57.
10. Singhal NK, Sternbach S, Fleming S, Alkhayer K, Shelestak J, Popescu D, et al. Betaine restores epigenetic control and supports neuronal mitochondria in the cuprizone mouse model of multiple sclerosis. *Epigenetics* 2020; 15(8): 871-86.
11. Ghotbeddin Z, Basir Z, Jamshidian J, Delfi F. Modulation of behavioral responses and CA1 neuronal death by nitric oxide in the neonatal rat's hypoxia model. *Brain Behav* 2020; 10(11): e01841.
12. Ghotbeddin Z, Khazaeel K, Tabandeh MR, Aliheydari M, Yaghoubi H. Effects of omega-3 fatty acid supplementation during chronic maternal hypoxia on behavioral disorders in male rat offspring: The role of Trk family and oxidative stress. *Metabolic Brain Disease* 2022; 37(6): 1959-67.
13. Jansone B, Dzirkale Z, Jekabsons K, Pilipenko V, Beitnere U, Māgure I, et al. editors. Spruce needle polyphenols protect against atorvastatin-induced muscle weakness and do not influence central nervous system functions in rats. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural, Exact, and Applied Sciences* 2016; 70(1): 1320.
14. Omotoso GO, Gbadamosi IT, Afolabi TT, Abdulwahab AB, Akinlolu AA. Ameliorative effects of Moringa on cuprizone-induced memory decline in rat model of multiple sclerosis. *Anat Cell Biol* 2018; 51(2): 119-27.
15. Beckmann DV, Carvalho FB, Mazzanti CM, Dos Santos RP, Andrades AO, Aiello G, et al. Neuroprotective role of quercetin in locomotor activities and cholinergic neurotransmission in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide. *Life Sci* 2014; 103(2): 79-87.
16. Omotoso GO, Arietarhire LO, Ukwubile II, Gbadamosi IT. The protective effect of kolaviron on molecular, cellular, and behavioral characterization of cerebellum in the rat model of demyelinating diseases. *Basic Clin Neurosci* 2020; 11(5): 609-18.
17. Hashemi R, Morshedi M, Jafarabadi MA, Altafi D, Hosseini-Asl SS, Rafie-Arefhosseini S. Anti-inflammatory effects of dietary vitamin D3 in patients with multiple sclerosis. *Neurology genetics* 2018; 4(6): e278.
18. Ünsal C, Özcan M. Neurotoxicity of cuprizone in female and male rats: Electrophysiological observations. *Neurophysiology* 2018; 50: 108-15.
19. Li Q, Qu M, Wang N, Wang L, Fan G, Yang C. Betaine protects rats against ischemia/reperfusion injury-induced brain damage. *J Neurophysiol* 2022; 127(2): 444-51.
20. Redondo J, Kemp K, Hares K, Rice C, Scolding N, Wilkins A. Purkinje cell pathology and loss in multiple sclerosis cerebellum. *Brain Pathol* 2015; 25(6): 692-700.
21. Eslami M, Alizade L, Sayyah M. The effect of lipopolysaccharide pretreatment on trauma-induced dark neurons in the hippocampus [in Persian]. *Shefaye Khatam* 2018; 6(1): 41-8.
22. Alipourfard F, Shajiee H, Nazari-Serenjeh F, Hojati V, Alirezaie M. Betaine attenuates oxidative stress and cognitive dysfunction in an amyloid  $\beta$ -induced rat model of Alzheimer's disease. *Res Pharm Sci* 2023; 18(3): 270-8.

## The Effect of Betaine on Cerebellar Histological Alterations, Balance, Motor Function on Male Rats, an Experimental Model of Multiple Sclerosis

Samaneh Rahadr<sup>1</sup>, Zahra Basir<sup>2</sup>, Mohammad Reza Tabandeh<sup>3</sup>,  
Zohreh Ghotbeddin<sup>4</sup>, Kaveh Khazaeel<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** One of the chronic inflammatory diseases of the central nervous system is multiple sclerosis (MS). Betaine has anti-inflammatory and neuroprotective effects. The present study was conducted with the aim of investigating the effect of betaine on tissue changes of the cerebellum and motor activity in the experimental model of MS.

**Methods:** In this experimental research, 20 adult male rats (12-week-old) were divided into control, Ms, Ms+ betaine and betaine. To create the MS model, animals were fed food containing 0.5% cuprizone for 12 weeks. For treatment, betaine was given at a dose of 1% in drinking water for the last 6 weeks. At the end of period, in order to measure balance and motor coordination, rotarod, open field, and inverted grid tests were performed, and the cerebellum of the animals was studied in terms of histological alterations.

**Findings:** Motor activities and maintaining balance in the MS group showed a significant decrease compared to control group, while treatment with betaine improved these symptoms. In the histological studies, tissue changes in Purkinje cells, such as a decrease in the number, condensation and pyknosis of the nucleus, a decrease in the diameter of the cell body and the nucleus of these cells were seen in the MS group. While the MS group receiving betaine, the changes were clearly improved and the Purkinje cells were able to maintain their number and shape.

**Conclusion:** The betaine can be considered as an effective biomolecule in the process of nerve regeneration and improvement of motor behaviors in patients with MS.

**Keywords:** Cerebellum; Betaine; Motor Skills; Multiple sclerosis; Purkinje cells

**Citation:** Rahadr S, Basir Z, Tabandeh MR, Ghotbeddin Z, Khazaeel K. **The Effect of Betaine on Cerebellar Histological Alterations, Balance, Motor Function on Male Rats, an Experimental Model of Multiple Sclerosis.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(734): 773-9.

1- PhD Candidate of Comparative Histology, Division of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Division of Histology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Division of Biochemistry and Molecular Biology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Division of Physiology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

5- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Division of Anatomy and Embryology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

**Corresponding Author:** Zahra Basir, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Division of Histology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: z.basir@stu.scu.ac.ir