



## روش‌ها

۴۰ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار با محدودی وزنی  $10 \pm 200$  گرم تهیه و با غذای تجاری پلیت و دسترسی آزاد به آب، نگهداری شدند و به صورت تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند.

گروه شاهد، بدون دریافت دارو و با شرایط یکسان محیطی و تغذیه‌ی معمولی هم‌زمان با سایر گروه‌ها نگهداری شدند.

گروه دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری، به مدت ۱۰ هفته جیره‌ی پرکالری حاوی ۲۰ درصد چربی گاوی، ۲۰ درصد سوکروز و ۶۰ درصد غذای تجاری پلیت شده دریافت کردند. سپس ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم STZ، به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد.

گروه دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری و بتائین، به مدت ۱۰ هفته جیره‌ی پرکالری دریافت کردند و سپس داروی STZ به آنان تزریق گردید. در ادامه، روزانه به مدت ۲۸ روز، بتائین (یک درصد در آب مقطر) به صورت محلول در آب دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی بتائین، همراه با جیره‌ی غذایی معمول، روزانه به مدت ۲۸ روز بتائین ۱ درصد دریافت نمودند.

پس از پایان ۱۰ هفته، مقدار گلوکز و انسولین موش‌ها با استفاده از کیت تجاری (شرکت Randox، انگلستان) اندازه‌گیری گردید و در صورت افزایش قند خون به بیش از ۱۲۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و افزایش شاخص مقاومت به انسولین نسبت به گروه شاهد، بروز مقاومت به انسولین قابل قبول واقع شد (۱۱-۱۳).

پس از پایان دوره‌ی آزمایش، هر کدام از موش‌ها با استفاده از ترکیب ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کامین + ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین بیهوش و سرم آن‌ها جدا شد و تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی، در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از آسان‌کشی، برای جداسازی هیپوفیز، پوست سر برداشته شد و با برش جمجمه، بافت مغز جدا گردید. سپس هیپوفیز از گودی استخوان پروانه‌ای بیرون آورده شد و پس از توزین، برای انجام آزمون‌های هیستومورفومتری به فرمالین بافر ۱۰ درصد انتقال یافت.

**مطالعات هیستومورفومتری:** از نمونه‌های پایدار شده، مقاطع بافتی به روش استاندارد تهیه گردید. در این روش، پس از ثبوت و شستشو با آب جاری، مراحل مختلف پاساژ شامل آگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین با استفاده از دستگاه هیستوکینت انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری و پس از برش، به روش هماتوکسیلین-اِئوزین (Hematoxylin and Eosin یا H&E) رنگ‌آمیزی گردید (۱۴). در بررسی هیستومورفومتری، تغییرات سلولی بخش‌های اندوکرینی غده‌ی هیپوفیز (بخش‌های خلفی و میانی) مانند شمار سلول‌های اسیدوفیل، بازوفیل و کروموفوب شمارش شد. شمارش

می‌باشد و بسیاری از سلول‌های آن در این شرایط دچار تغییرات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک می‌شوند (۴).

استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدان، نقش بسزایی در کاهش عواقب ناشی از دیابت دارد. بتائین (تری متیل گلیسین)، نوعی ترکیب ۴ ظرفیتی آمونومی است که به دنبال اکسیداسیون کولین در غشای داخلی میتوکندری تولید می‌شود. مهم‌ترین بافت‌های تولیدکننده‌ی این ترکیب، کبد و کلیه می‌باشند. با این حال، در بافت‌های گوناگون، نقش‌های زیستی متفاوتی دارد (۵). چندین پژوهش نشان داده است که بتائین می‌تواند کاهش دهنده‌ی میزان رسوب چربی در بدن باشد (۶). همچنین، شواهدی بر افزایش گردش سطح آدیپونکتین و بهبود انسولین پلاسما و سطح گلوکز با استفاده از بتائین موجود می‌باشد که توانایی بالقوه‌ی بتائین در بهبود عملکرد بافت چربی و فعالیت انسولین را نشان می‌دهد (۷). گزارش شده است که بتائین، موجب افزایش حساسیت به انسولین می‌شود. همچنین، مشخص شده است که رژیم غذایی پرچرب در خوک، موجب کاهش سطح بتائین در پانکراس و روده‌ها می‌شود. در انسان نیز سطوح ناکافی بتائین در بیماران مبتلا به سندرم‌های متابولیک، اختلالات چربی و دیابت نوع ۲ مشاهده شده است (۸). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که بتائین در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی دارای ساکاروز بالا، باعث کاهش سطح کلسترول، تری‌گلیسرید و انسولین پلاسما می‌شود (۹). همچنین، بتائین منجر به افزایش حساسیت به انسولین و کاهش شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به دیابت و کبد چرب غیر الکلی تغذیه شده با جیره‌ی غنی از چربی می‌شود (۷).

به تازگی نقش بتائین بر عملکرد و ترشح هورمون‌های بافت چربی به تأیید رسیده است. تحقیقات نشان داده است که مصرف بتائین در موش‌های مبتلا به چاقی ناشی از جیره‌ی پرچرب، سبب کاهش تجمع لیپید در کبد و افزایش بیان آدیپونکتین و کاهش بیان ویزفاتین و لپتین می‌گردد (۱۰). افزایش حساسیت به انسولین از راه القای مسیر AMP-Activated protein kinase (AMPK) در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی تحت درمان با بتائین توأم با افزایش آدیپونکتین پلاسما گزارش شده است (۹). همچنین، القای مسیر انتقال پیام انسولین از دو مسیر پروتئین کیناز B و سیگنال تنظیم‌گر کیناز، در موش‌های چاق تغذیه شده با جیره‌ی پرچرب و بتائین مشاهده شد که این می‌تواند ناشی از اثر بتائین بر مسیر انتقال پیام انسولین در ادیپوسیت‌ها باشد (۷).

با توجه به نقش بتائین به عنوان یک ماده‌ی مغذی مرتبط با متابولیسم چربی و تأثیر جیره‌ی غذایی پرکالری بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تغییرات هیستومورفومتری بافت اندوکرینی غده‌ی هیپوفیز به دنبال مصرف جیره‌ی پرکالری و ارزیابی اثرات احتمالی بتائین بر ساختار و توان آنتی‌اکسیدانی مرتبط با این غدد بود.

انسولین در گروه چاقی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0/050$ ) (شکل ۱). افزایش معنی‌دار شاخص مقاومت به انسولین در هفته‌ی دهم در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید ( $P < 0/050$ ).

وزن غده‌ی هیپوفیز در گروه چاقی در مقایسه با گروه شاهد، افزایش معنی‌داری پیدا کرد ( $P < 0/050$ ). سلول‌های کروموفوب نیز که نسبت به دیگر سلول‌ها کوچک‌تر و تعداد آن‌ها از سلول‌های کروموفیل بیشتر است، به صورت دسته‌های سلولی که فقط هسته‌های آن‌ها مشخص است، قرار دارند. شمار سلول‌های اسیدوفیل در ناحیه‌ی حاشیه‌ای هیپوفیز خلفی، در گروه چاقی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/050$ ) (شکل ۲).

به دنبال مصرف بتائین در گروه چاقی-بتائین، تعداد این سلول‌ها نسبت به گروه چاقی افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0/050$ ). افزایش معنی‌داری در قطر هسته‌ی سلول‌های اسیدوفیل در موش‌های صحرایی گروه چاقی-بتائین نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده گردید ( $P < 0/050$ ) (جدول ۲).

به دنبال مصرف جیره‌ی پرکالری در گروه چاقی، تعداد سلول‌های اسیدوفیل در بخش مرکزی هیپوفیز خلفی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (جدول ۳). تعداد سلول‌های بازوفیل در ناحیه‌ی میانی به دنبال دریافت جیره‌ی پرکالری در گروه چاقی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/050$ ).

قطر هسته‌ی سلول‌های بازوفیل در هیپوفیز میانی در گروه چاقی-بتائین در مقایسه با گروه‌های شاهد، چاقی و بتائین به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/050$ ) (جدول ۴).

در روز صفر (شروع درمان)، سطح سرمی آنزیم SOD در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ( $P < 0/050$ ). به دنبال درمان با بتائین در گروه چاقی-بتائین، سطح سرمی آنزیم SOD نسبت به گروه چاقی افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0/050$ ) (شکل ۳).

شکل‌های ۴ و ۵ ساختار بافتی ناحیه‌ی مرکزی هیپوفیز خلفی و میانی در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

سلول‌ها و اندازه‌گیری لایه‌ها در واحد سطح و به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری (شرکت Olympus، ژاپن) و نرم‌افزار DinoCapture نسخه‌ی ۲ انجام گرفت.

**اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی در سرم:**  
فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase یا SOD) با استفاده از کیت تجاری SOD (Ransod، انگلستان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. پس از انجام آزمون، تغییرات جذب نمونه‌ها نسبت به شاهد در مدت یک دقیقه محاسبه و درصد مهار و فعالیت آنزیم در نمونه‌ها بر اساس فرمول به دست آمده محاسبه گردید. برای ارزیابی شاخص فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase یا GPX) از کیت‌های تجاری رنسل (شرکت Randox، انگلستان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. مالون دی‌آلدئید (MDA یا Malondialdehyde) با کمک روش Mihara و Uchiyama اندازه‌گیری شد (۱۵).

نتایج به صورت میانگین و خطای معیار گزارش گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های One-way ANOVA و Least significant difference (LSD) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

پس از تغذیه با جیره‌ی پرکالری (هفته‌ی دهم)، وزن موش‌ها در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ( $P < 0/050$ ). چهار هفته تجویز بتائین، موجب کاهش معنی‌دار وزن موش‌ها در گروه چاقی-بتائین نسبت به گروه چاقی شد ( $P < 0/050$ ). نتایج اندازه‌گیری قند خون در هفته‌ی چهاردهم حاکی از آن بود که میانگین قند خون در گروه چاقی نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $P < 0/001$ ) (جدول ۱).

در هفته‌ی دهم، سطح سرمی هورمون انسولین در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ( $P < 0/050$ ). در هفته‌ی چهاردهم، سطح سرمی هورمون

جدول ۱. میانگین وزن و قند خون موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

گروه	قند خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)		وزن بدن (گرم)		متغیر
	هفته‌ی چهاردهم	هفته‌ی دهم	هفته‌ی چهاردهم	هفته‌ی دهم	
شاهد	$96/20 \pm 6/37$	$88/80 \pm 1/25$	$211/30 \pm 80/58$	$197/20 \pm 60/42$	
چاقی	$152/80 \pm 3/67$	$185/20 \pm 8/96$	$227/10 \pm 0/51$	$230/30 \pm 80/27$	
چاقی-بتائین	$112/30 \pm 3/40$	$193/90 \pm 1/82$	$213/20 \pm 40/80$	$219/10 \pm 20/86$	
بتائین	$78/80 \pm 2/61$	-	$211/40 \pm 60/90$	$205/30 \pm 20/70$	

علایم متفاوت در هر ستون، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0/050$ ).

داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.

جدول ۲. میانگین وزن، قطر و تعداد سلول‌های حاشیه‌ی غده‌ی هیپوفیز در گروه‌های مورد بررسی

سلول‌ها	وزن هیپوفیز (گرم)	قطر هسته‌ی سلول‌های اسیدوفیل (میکرومتر)	قطر هسته‌ی سلول‌های بازوفیل (میکرومتر)	تعداد سلول‌های اسیدوفیل در حاشیه‌ی هیپوفیز خلفی	تعداد سلول‌های بازوفیل در حاشیه‌ی هیپوفیز خلفی	تعداد سلول‌های کروموفوب در حاشیه‌ی هیپوفیز خلفی	کل سلول‌های در حاشیه‌ی هیپوفیز
شاهد	$0.12 \pm 0.02$	$5.97 \pm 0.21$	$3.78 \pm 0.16$	$800 \pm 0.70$	$1014 \pm 0.38$	$880 \pm 0.57$	$2920 \pm 0.86$
چاقی	$0.33 \pm 0.02$	$5.93 \pm 0.70$	$3.61 \pm 0.14$	$470 \pm 0.70$	$485 \pm 0.71$	$1200 \pm 1.08$	$2477 \pm 0.45$
چاقی - بتائین	$0.33 \pm 0.02$	$6.65 \pm 0.35$	$4.15 \pm 0.13$	$676 \pm 1.58$	$666 \pm 0.64$	$1660 \pm 1.12$	$3024 \pm 0.45$
بتائین	$0.16 \pm 0.02$	$5.87 \pm 0.93$	$3.80 \pm 0.25$	$396 \pm 2.33$	$462 \pm 0.47$	$1460 \pm 1.20$	$2370 \pm 1.29$

علامت متفاوت در هر ستون، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ ). داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.

جدول ۳. میانگین قطر هسته و تعداد سلول‌های ناحیه‌ی مرکزی غده‌ی هیپوفیز در گروه‌های مورد بررسی

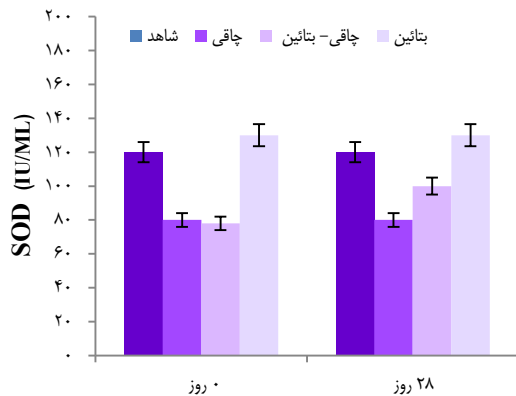
سلول‌ها	تعداد سلول‌های اسیدوفیل ناحیه‌ی مرکزی هیپوفیز خلفی	تعداد سلول‌های بازوفیل ناحیه‌ی مرکزی هیپوفیز خلفی	تعداد سلول‌های کروموفوب ناحیه‌ی مرکزی هیپوفیز خلفی	کل سلول‌های هیپوفیز ناحیه‌ی مرکزی	قطر هسته‌ی سلول‌های اسیدوفیل در مرکز هیپوفیز (میکرومتر)	قطر هسته‌ی سلول‌های بازوفیل در مرکز هیپوفیز (میکرومتر)
شاهد	$1733 \pm 0.24$	$973 \pm 0.19$	$1078 \pm 0.77$	$3591 \pm 2.51$	$6.46 \pm 0.36$	$4.17 \pm 0.11$
چاقی	$1292 \pm 0.79$	$813 \pm 0.76$	$696 \pm 0.88$	$2719 \pm 1.28$	$6.34 \pm 0.14$	$4.18 \pm 0.70$
چاقی / بتائین	$1320 \pm 0.32$	$713 \pm 0.53$	$576 \pm 0.82$	$2529 \pm 1.23$	$6.84 \pm 0.24$	$4.33 \pm 0.17$
بتائین	$1674 \pm 2.27$	$790 \pm 0.37$	$886 \pm 0.59$	$3029 \pm 1.45$	$6.29 \pm 0.22$	$4.10 \pm 0.22$

علامت متفاوت در هر ستون، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ ). داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.

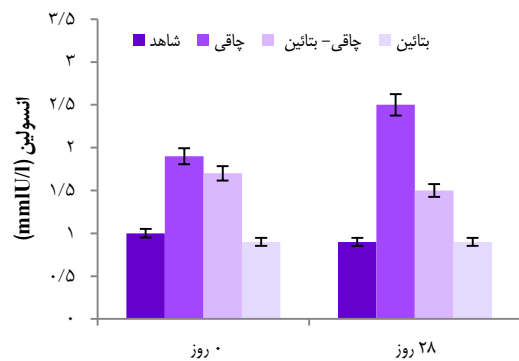
جدول ۴. میانگین تعداد و قطر سلول‌های مختلف ناحیه‌ی میانی غده‌ی هیپوفیز در گروه‌های مورد بررسی

سلول‌ها	تعداد سلول‌های بازوفیل در بخش هیپوفیز میانی	تعداد سلول‌های کروموفوب در بخش هیپوفیز میانی	تعداد کل سلول‌های هیپوفیز میانی	قطر هسته‌ی سلول‌های بازوفیل در مرکز هیپوفیز (میکرومتر)
شاهد	$942 \pm 0.66$	$1090 \pm 0.88$	$2654 \pm 0.88$	$4.82 \pm 0.22$
چاقی	$1210 \pm 1.03$	$722 \pm 1.11$	$2446 \pm 1.07$	$5.15 \pm 0.72$
چاقی / بتائین	$1129 \pm 1.75$	$536 \pm 1.35$	$2248 \pm 0.82$	$6.27 \pm 0.0$
بتائین	$1080 \pm 0.56$	$668 \pm 0.25$	$2436 \pm 0.46$	$4.81 \pm 0.31$

علامت متفاوت در هر ستون، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ ). داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.



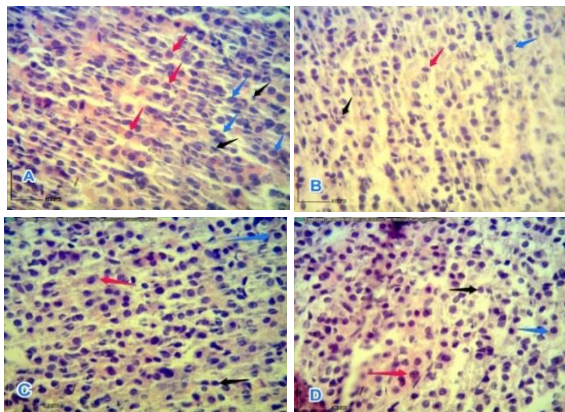
شکل ۳. مقایسه‌ی میانگین سطح سرمی آنزیم Superoxide dismutase (SOD) در گروه‌های شاهد، چاقی، چاقی-بتائین و بتائین



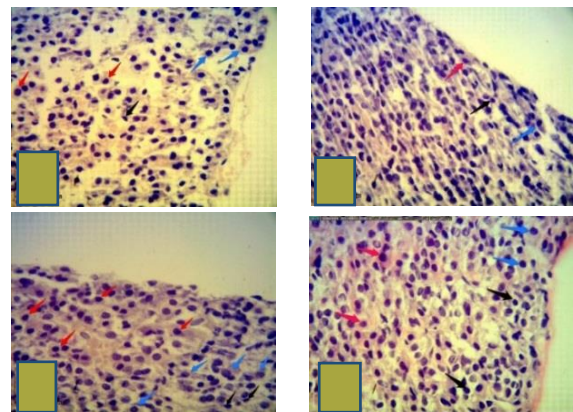
شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین سطح سرمی آنسولین بر حسب mmlU/l در گروه‌های مختلف

بر اساس نتایج مطالعه‌ی Srinivasan و همکاران، ۱۰ هفته تغذیه‌ی موش‌ها با جیره‌ی پرکالری، منجر به افزایش معنی‌دار وزن نسبت به گروه شاهد می‌شود ( $P < 0/050$ ) (۱۷). نتایج تحقیق حاضر نیز کاهش وزن بدن بعد از تزریق STZ در موش‌های دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری را نشان داد. هنگامی که ظرفیت ذخایر گلیکوژنی به طور کامل اشباع گردد، سطوح بالای گلوکز ممکن است باعث شروع فعالیت لیپوژنز شود که بیشتر در کبد انجام می‌گیرد. تجمع چربی در کبد، از طریق کاهش سنتز گلیکوژن و افزایش گلوکونئوژنز، سبب ایجاد مقاومت به انسولین می‌گردد (۱۸).

به دنبال تجویز بتائین در موش‌های گروه چاقی-بتائین، افزایش معنی‌داری در سطح سرمی آنزیم GPX نسبت به گروه چاقی مشاهده شد ( $P < 0/050$ ). در روز صفر (شروع درمان)، سطح سرمی آنزیم کاتالاز در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ( $P < 0/050$ ). سطح سرمی MDA در روز صفر، در گروه‌های چاقی و چاقی-بتائین نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/050$ ). در روز ۲۸ درمان، سطح سرمی MDA در گروه چاقی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ( $P < 0/050$ ).



شکل ۴. ساختار بافتی ناحیه‌ی مرکزی هیپوفیز خلفی در گروه‌های شاهد (A)، چاقی (B)، چاقی-بتائین (C) و بتائین (D) [H&E Hematoxylin and Eosin  $\times 40$ ]



شکل ۲. ساختار بافتی حاشیه‌ی هیپوفیز خلفی در گروه‌های شاهد (A)، چاقی (B)، چاقی-بتائین (C) و بتائین (D) [H&E Hematoxylin and Eosin  $\times 40$ ]

در پژوهش حاضر، مصرف بتائین موجب کاهش معنی‌دار سطوح قند خون، انسولین و شاخص مقاومت انسولینی و بهبود مقاومت انسولینی در موش‌های دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری گردید. Kathirvel و همکاران در مطالعه‌ی خود به این نتیجه رسیدند که مصرف بتائین منجر به افزایش حساسیت به انسولین و کاهش

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف ۱۰ هفته جیره‌ی پرکالری به همراه تزریق STZ با دز پایین و به میزان ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، سبب افزایش گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری می‌گردد.

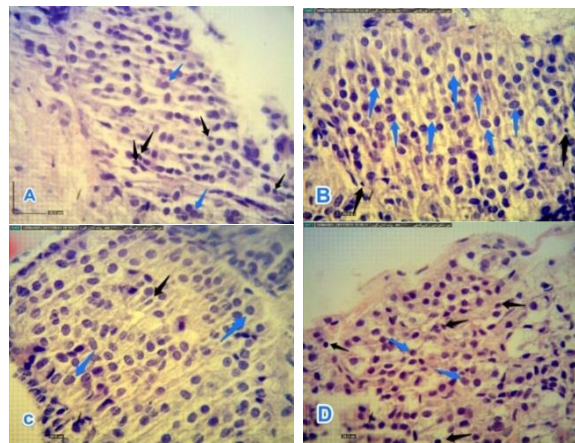
روزهای صفر و ۲۸ نمونه‌گیری تحت تأثیر استرس اکسیداتیو ناشی از جیره‌ی پرکالری و هیپرگلیسمی متعاقب ایجاد دیابت ناشی از آن کاهش یافت که این نتایج تحریک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی جهت مقابله با استرس اکسیداتیو را تأیید می‌نماید. پژوهشگران دیگری نیز به افزایش میزان MDA، ۸ هفته پس از ایجاد دیابت اشاره نمودند (۲۱). مطالعات بسیاری در مورد ارتباط بین هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو صورت گرفته است. به عنوان نمونه، نتایج پژوهشی نشان داد که از برخی ترکیبات مانند فلاونوئیدها می‌توان به عنوان یک عامل ضد استرس اکسیداتیو در کشت سلولی هیپرگلیسمی شده بهره برد (۲۲). حتی برخی از باکتری‌ها نیز توانایی کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و افزایش سوخت و ساز چربی‌ها را دارند (۲۳).

GPX و کاتالاز دو آنزیم آنتی‌اکسیدان مهم هستند که می‌توانند  $H_2O_2$  را به آب تجزیه کنند. SOD دیگر آنزیم آنتی‌اکسیدان می‌باشد که در سلول‌ها آنیون سوپراکسید O-2 را به سرعت به پراکسید هیدروژن کم‌خطر و GPX و کاتالاز آن را به آب تبدیل می‌نماید (۲۴). در نتیجه، آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در محدود کردن انتشار رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند که در غیر این صورت، منجر به پراکسیداسیون لیپیدی گسترده‌ای می‌شود. مصرف خوراکی بتائین، سبب کاهش معنی‌دار MDA و افزایش معنی‌دار هر سه آنزیم کاتالاز، GPX و SOD در موش‌های گروه چاقی - بتائین نسبت به گروه چاقی شد. نتایج تحقیقی نشان داد که کاتالاز در اثر مصرف اتانول، به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت و درمان با بتائین، منجر به افزایش معنی‌دار آن شد (۲۵). در واقع، چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مصرف خوراکی بتائین با کاهش میزان رسوب چربی در پلاسما و بافت‌ها، می‌تواند سبب کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دریافت جیره‌ی پرکالری، بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و به دنبال آن، بهبود اثرات تخریبی جیره‌ی پرکالری در بافت هیپوفیز گردد.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف جیره‌ی پرکالری، سبب هیپرگلیسمی، افزایش شاخص‌های بیوشیمیایی مانند هورمون انسولین و افزایش شاخص مقاومت به انسولین، ایجاد استرس اکسیداتیو و در نهایت، تغییرات بافتی در ساختار بافتی هیپوفیز گردید. بتائین، هیپرگلیسمی ایجاد شده در اثر دریافت جیره‌ی پرکالری در موش‌های خوراکی‌دهی شده را کاهش داد. از سوی دیگر، بتائین با بهبود سطح انسولین پلاسما و کاهش مقاومت انسولین، موجب افزایش حساسیت انسولینی شد. بنابراین، مصرف خوراکی بتائین می‌تواند اثرات سودمند و محافظتی بر شاخص‌های بیوشیمیایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بافت هیپوفیز داشته باشد. برای تأیید نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر،

شاخص مقاومت به انسولین در موش‌های مبتلا به دیابت و کبد چرب غیر الکلی تغذیه شده با جیره‌ی غنی از چربی شده است (۱۹). همچنین، برخی محققان گزارش کرده‌اند که بتائین می‌تواند میزان تجمع چربی در بافت‌های بدن مانند کبد را کاهش دهد (۲۰، ۶) که این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. یکی از غدده‌ی که در شرایط هیپرگلیسمی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، هیپوفیز است که منجر به افزایش اختلالات این بیماری می‌گردد و در شرایط ابتلا به دیابت، افزایش تغییرات سلولی در بخش‌های مختلف آن مشاهده می‌شود (۴). نتایج اندازه‌گیری وزن غده‌ی هیپوفیز در مطالعه‌ی حاضر، افزایش معنی‌دار وزن را در موش‌های دریافت‌کننده‌ی جیره‌ی پرکالری نسبت به موش‌های گروه شاهد نشان داد. در تحقیق حاضر، مقایسه‌ی تعداد سلول‌های بازوفیل در گروه‌های مختلف بسته به نواحی مختلف هیپوفیز، روند تغییرات یکسانی را دنبال نکرد و کاهش یا افزایش این سلول‌ها در نواحی مختلف هیپوفیز متفاوت بود که توجیه دقیق آن نیازمند بررسی‌های بیشتر و دقیق‌تر سلول‌های کورتیکوتروپ به روش ایمونوهیستوشیمی می‌باشد.



شکل ۵. ساختار بافتی ناحیه‌ی هیپوفیز میانی در گروه‌های شاهد (A)، چاقی (B)، چاقی - بتائین (C) و بتائین (D) [H&E Hematoxylin and Eosin  $\times 40$ ]

نتایج پژوهشی گزارش کرد که تغییرات سلولی اغلب پس از گذشت چهار هفته دیابت در بخش قدامی غده‌ی هیپوفیز قابل تشخیص است و بسیاری از سلول‌های آن در شرایط دیابت مشاهده نشده دچار تغییر می‌شوند (۴). از سوی دیگر، اختلال در حلقه‌های فیدبک منفی ترشح هورمون از غده‌ی هیپوفیز، منجر به تغییرات مورفولوژیک در این غده می‌شود. در مطالعه‌ی حاضر، به دنبال تغذیه‌ی موش‌ها با جیره‌ی پرکالری و اختلالات ایجاد شده‌ی ناشی از آن، تغییراتی در هیستومتری غده هیپوفیز ایجاد نمود.

در تحقیق حاضر، میزان هر سه آنزیم کاتالاز، GPX و SOD در

چمران اهواز با شماره‌ی ۳۱۲۳۴۹/ب ۴۱۹۶۱ و کد اخلاق EE/99.3.02.31536/scu.ac.ir می‌باشد که تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی این دانشگاه انجام گردید. بدین وسیله از کارشناسان بخش بافت‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز و جناب آقای ایرانشاهی که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

انجام تحقیقات بیشتر با جمعیت‌های گسترده‌تر و زمان مداخله‌ی طولانی‌تر در آینده پیشنهاد می‌شود.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح مصوب شورای پژوهشی دانشگاه شهید

### References

- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52(1): 102-10.
- Erkelens DW. Insulin resistance syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88(7B): 38J-42J.
- Viet Binh D, Dung NTK, Thao LT, Nhi NB, Van Chi P. Macro- and Microvascular Complications of Diabetes Induced by High-Fat Diet and Low-Dose Streptozotocin Injection in Rats Model. *Int J Diabetes Res* 2013; 2(3): 50-5.
- Arroba AI, Lechuga-Sancho AM, Frago LM, Argente J, Chowen JA. Cell-specific expression of X-linked inhibitor of apoptosis in the anterior pituitary of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol* 2007; 192(1): 215-27.
- Bidulescu A, Chambless LE, Siega-Riz AM, Zeisel SH, Heiss G. Usual choline and betaine dietary intake and incident coronary heart disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *BMC Cardiovasc Disord* 2007; 7: 20.
- Matthews JO, Southern LL, Higbie AD, Persica MA, Bidner TD. Effects of betaine on growth, carcass characteristics, pork quality, and plasma metabolites of finishing pigs. *J Anim Sci* 2001; 79(3): 722-8.
- Wang Z, Yao T, Pini M, Zhou Z, Fantuzzi G, Song Z. Betaine improved adipose tissue function in mice fed a high-fat diet: A mechanism for hepatoprotective effect of betaine in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298(5): G634-G642.
- Pekkinen J, Olli K, Huotari A, Tiihonen K, Keski-Rahkonen P, Lehtonen M, et al. Betaine supplementation causes increase in carnitine metabolites in the muscle and liver of mice fed a high-fat diet as studied by nontargeted LC-MS metabolomics approach. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(11): 1959-68.
- Song Z, Deaciuc I, Zhou Z, Song M, Chen T, Hill D, et al. Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293(4): G894-G902.
- Olli K, Lahtinen S, Rautonen N, Tiihonen K. Betaine reduces the expression of inflammatory adipokines caused by hypoxia in human adipocytes. *Br J Nutr* 2013; 109(1): 43-9.
- Nazari M, Moghimipour E, Tabandeh MR. Betaine down regulates apelin gene expression in cardiac and adipose tissues of insulin resistant diabetic rats fed by high-calorie diet. *Int J Pept Res Ther* 2017; 23(2): 181-90.
- Golmohammadi R, Beheshti-Naser SM, Akbari F. The effect of hydro-alcoholic extract of *Lavandula angustifolia* on Purkinje neurons following enforced swimming stress in male rats. *J Isfahan Med Sch* 2020; 37(555): 1338-46. [In Persian].
- Dashti G, Teimourinejad A, Salehi M, Sajadi SE, Torabinia N. The effect of hydroalcoholic extract of *dorema aucheri* on CD40 protein expression in thoracic aorta of male white rabbits fed with hypercholesterolemic diet. *J Isfahan Med Sch* 2012; 29(166): 2319-29. [In Persian].
- Bancroft GN, Sikavitsas VI, van den Dolder J, Sheffield TL, Ambrose CG, Jansen JA, et al. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(20): 12600-5.
- Roshanzamir T, Vahdat S. The relation between serum levels of oxidants and antioxidants with asthma severity. *J Isfahan Med Sch* 2011; 28(124): 2016-22.
- Nakamura H, Kimura T, Nakajima A, Shimoya K, Takemura M, Hashimoto K, et al. Detection of oxidative stress in seminal plasma and fractionated sperm from subfertile male patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 105(2): 155-60.
- Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005; 52(4): 313-20.
- Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005; 330(7503): 1304-5.
- Kathirvel E, Morgan K, Nandgiri G, Sandoval BC, Caudill MA, Bottiglieri T, et al. Betaine improves nonalcoholic fatty liver and associated hepatic insulin resistance: A potential mechanism for hepatoprotection by betaine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299(5): G1068-G1077.
- Fernandez-Figares I, Wray-Cahen D, Steele NC, Campbell RG, Hall DD, Virtanen E, et al. Effect of dietary betaine on nutrient utilization and partitioning in the young growing feed-restricted pig. *J Anim Sci* 2002; 80(2): 421-8.
- Mohasseb M, Ebied S, Yehia MA, Hussein N. Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *J Physiol Biochem* 2011; 67(2): 185-94.
- Yarahmadi A, Moradi SM, Sayahi A, Zal F.

- Protective effects of quercetin against hyperglycemia-induced oxidative stress in hepatic HepG2 cell line. *Avicenna J Phytomed* 2021; 11(3): 269-80.
23. Huang Y, Qu H, Liu D, Wa Y, Sang J, Yin B, et al. The effect of *Lactobacillus fermentum* DALI02 in reducing the oxidative stress and inflammatory response induced by high-fat diet of rats. *RSC Adv* 2020; 10(57): 34396-402.
24. Greifova H, Jambor T, Tokarova K, Spevakova I, Knizatova N, Lukac N. Resveratrol attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress in TM3 Leydig cells in vitro. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 2020; 55(5): 585-95.
25. Alirezaei M, Jelodar G, Niknam P, Ghayemi Z, Nazifi S. Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum. *J Physiol Biochem* 2011; 67(4): 605-12.
26. Akbarzadeh Z, Nourian M, Askari G, Maracy MR, Rafiei R. The effect of psyllium on anthropometric measurements and liver enzymes in overweight or obese adults with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Isfahan Med Sch* 2015; 33(355): 1771-82. [In Persian].



## Evaluation of the Effect of Betaine on Histomorphometry and Oxidative Index of Endocrine Tissue of Pituitary Gland in Rats Fed with High-Calorie Diet

Ali Ameri<sup>1</sup>, Shima Hosseinifar<sup>2</sup>, Naeem Erfani-Majd<sup>3</sup>, Mohammad Reza Tabandeh<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Betaine has improving role in adipose tissue function and insulin activity. On the other hand, a high-calorie diet has complex effects on the hypothalamic-pituitary axis. The aim of this study was to evaluate the effect of betaine on pituitary histomorphometry and oxidative index of rats fed with high-calorie diet.

**Methods:** 24 wistar rats were divided into 4 groups of control, fed with standard food, obesity with 10 weeks of feeding with high-calorie diet and then intraperitoneal injection of streptozotocin (20 mg/kg), obesity/betaine with 10 weeks of feeding with high-calorie diet, intraperitoneal streptozotocin, and then oral betaine for 28 days, and betaine with oral betaine for 28 days. At the end of the study, the histomorphometric structure of the pituitary glands [using hematoxylin and eosin (H&E)] and oxidative stress indices such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), and malondialdehyde (MDA) [using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)] were evaluated.

**Findings:** Body weight, blood sugar, insulin level, and insulin resistance index increased significantly in the obese group compared to the control group. The number of acidophilic and basophilic cells in the peripheral and central parts of the posterior pituitary gland decreased in the obese group. Serum levels of SOD, GPX, and catalase showed a significant increase in the obese group compared to the control group and in obese/betaine group compared to the obese group. Serum MDA levels increased in the obese group compared to the control group, and decreased in the obese/betaine group in compared to the obese group.

**Conclusion:** It is seems that betaine consumption had beneficial and protective effects on the pituitary gland and antioxidant capacity in rat fed with high-calorie diet, by reducing insulin resistance, reducing oxidative stress, and improving the pituitary tissue structure.

**Keywords:** Diet; Calorie intake; Oxidative stress; Histology; Morphology

**Citation:** Ameri A, Hosseinifar S, Erfani-Majd N, Tabandeh MR. Evaluation of the Effect of Betaine on Histomorphometry and Oxidative Index of Endocrine Tissue of Pituitary Gland in Rats Fed with High-Calorie Diet. J Isfahan Med Sch 2021; 39(620): 245-53.

1- Department of Basic Sciences, Histology Section, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

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

3- Professor, Department of Basic Sciences, Histology Section, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

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

**Corresponding Author:** Shima Hosseinifar, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Histology Section, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Email: sh.hosseinifar@scu.ac.ir