اثر تجویز خوراکی بتائین بر پاسخ ایمنی هومورال موش به *بروسلا ابورتوس*

محمد خسروی[۱*]، مسعود قربانپور[۲]، سیدرضا فاطمی‌طباطبائی[۳] و یاسمین محمدعلی‌پور[۴]

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۶

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از بتائین در تغذیه‌ی انسان و حیوانات افزایش چشم‌گیری یافته است. تأثیر بتائین بر پاسخ‌های ایمنی هومورال تا حدودی ناشناخته می‌باشد. در این مطالعه اثر تجویز خوراکی بتائین بر ایجاد پاسخ ایمنی هومورال نسبت به آنتی‌ژن *بروسلا ابورتوس* در موش بررسی شد. تعداد ۱۲ سر موش نر بالغ به دو گروه تقسیم‌بندی شدند. تجویز بتائین در گروه آزمایش با دوز mg/kg/day ۵۰۰ و به مدت ۳۱ روز صورت گرفت. به همه موش‌ها آنتی‌ژن *بروسلا ابورتوس* به صورت داخل صفاقی، در روزهای ۷ و ۲۱ تزریق و در روزهای ۰، ۲۱ و ۳۱ خون‌گیری انجام شد. پاسخ ایمنی با آزمون‌های میکروآگلوتیناسیون، 2ME و الایزا بررسی گردید. کاهش غیر معنی‌دار در پاسخ اولیه و ثانویه‌ی ایمنی هومورال در گروه آزمون مشاهده شد. در گروه شاهد نسبت IgG: IgM در پاسخ اولیه و ثانویه به ترتیب ۱: ۱ و ۱: ۱/۷ بود. در گروه آزمون این نسبت‌ها به ترتیب ۷: ۱ و ۳/۲: ۱ ثبت شد. همچنین در آزمون الایزا تغییر معنی‌دار در عیار آنتی‌بادی مشاهده نشد. بر اساس این نتایج، بیش‌ترین تأثیر بتائین در پاسخ ایمنی هومورال بر تعویض کلاس آنتی‌بادی است.

کلمات کلیدی: بتائین، پاسخ ایمنی هومورال، *بروسلا ابورتوس*، موش

مقدمه

بتائین[۱] از ترکیبات طبیعی است که نخستین بار در قرن ۱۹ در چغندر قند کشف شد (Craig 2004) و پس از آن در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود آن اثبات شد (Kim and Kim 2002, Steenge et al. 2003). در سال‌های اخیر در تغذیه‌ی انسان و حیوانات، استفاده از بتائین به صورت روزافزونی افزایش یافته است که از طریق منابع متنوع غذایی تامین می‌شود. بتائین (تری متیل گلایسین) جزو ترکیبات دهنده‌ی متیل در واکنش‌های شیمایی بدن و دارای خواص حفاظتی از اسمولاریته‌ی خون بوده که به طور وسیعی در اندام‌های حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها توزیع شده است. رژیم‌های غذایی غنی از بتائین شامل غذاهای دریایی به ویژه مهره‌داران دریایی، ریشه و پوسته‌ی گندم و اسفناج است (Craig 2004). بتائین از اکسیداسیون برگشت‌ناپذیر کولین در میتوکندری‌های کبد و بافت کلیه به دست می‌آید (Ratriyanto et al. 2009) . همچنین به دلیل ساختار شیمیایی خاص بتائین، نقش‌های متنوعی برای آن پیشنهاد شده است. بتائین یک محافظ اسمزی در برابر دهیدراسیون است (Clayton 2007) و سلول‌ها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها را از استرس‌های محیطی حفظ می‌کند (Craig 2004) و دارای اثرات آنتی‌اکسیداتیو است (Hagar and Malki 2014). سیستم عصبی، ایمنی، قلب و عروق خونی، کلیه‌ها و کبد برای عملکرد طبیعی خود به گروه-های متیل وابسته‌اند (Kidd et al. 1997). استفاده از

[۱*] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: m.khosravi@scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۳] استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۴] دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

1- Betaine

بتائین در ماکیان (Zhan et al. 2006) خوک (Campbell et al. 1995) و غاز (Su et al. 2009) منجر به بهبود وزن-گیری و افزایش راندمان غذایی است. افزایش طول پرزهای دوازدهه‌ی روده، توزیع مناسب چربی و بهبود خصوصیات لاشه در اثر استفاده از بتائین ایجاد می‌شود (Huang et al. 2006, Wang et al. 2004). رشد مناسب عضلات و سیستم ایمنی وابسته به حضور بتائین است (Rama Rao et al. 2003). بتائین برای فعالیت‌های پایه‌ای سیستم ایمنی ضروری و بر فعالیت‌های ایمنی اثرگذار است (Clayton 2007). بر اساس برخی مطالعات انجام شده بتائین دارای اثرات ضدالتهابی است (Go et al. 2005). همچنین کموتاکسی و آزادسازی نیتریک اکسید از ماکروفاژ و مونوسیت‌ها با استفاده از بتائین (Kidd 2004)، و بهبود پاسخ ایمنی از دیگر موارد اشاره شده در تحقیقات است (Klasing et al. 2002, Zhang et al. 1996). بتائین همچنین با ممانعت از تولید پروستاگلندین در رت باعث تنظیم تولید سایتوکاین توسط ماکروفاژهای کبدی می‌شود (Zhang et al. 1996). بهبود شرایط فیزلوژیک بدن در شرایط استرس در اثر استفاده از بتائین گزارش شده است (Wang et al. 2004). کاهش شدید پروتئین واکنش‌پذیر C، اینترلوکین ۶ و TNFα در استفاده‌ی زیاد از بتائین ایجاد می‌شود (Zhang et al. 1996). اثرات ضدالتهابی بتائین از طریق کاهش ترکیبات واکنش‌پذیر و اثر بر گلوتاتیون است (Go et al. 2007). بتائین سبب کاهش میزان TNFα می‌شود (Fan et al. 2008, Kim et al. 2014, Lv et al. 2009, Olli et al. 2013). TNFα در ایجاد فولیکول‌های ثانویه در گره‌های لنفاوی و در ایجاد واکنش میان لنفوسوست‌های T و B نقشی ضروری دارد (Emma et al. 2012, FrancoSalinas et al. 2011, Pasparakis et al. 1996, Salinas et al. 2013). با توجه به این موارد، به نظر می‌رسد بتائین دارای اثراتی چشم‌گیر در ایجاد و گسترش پاسخ‌های ایمنی هومورال باشد. سایر محقیق این اثر را در ماکیان بررسی و در مواردی افزایش پاسخ (Ezzat et al. 2011, Swain and Johri 2000) کاهش (El Hadri et al. 2004) و یا عدم تغییر غیر معنی-دار (Hamidi et al. 2010, Kidd 2004) آن را گزارش کرده‌اند. در این تحقیق با توجه به نامشخص بودن این اثر، با روش‌های میکروآگلوتیناسیون، 2ME و الایزا، تلاش بر یافتن اثر بتائین بر پاسخ ایمنی هومورال در موش نسبت به باکتری *بروسلا ابورتوس* شده است.

مواد و روش کار

تعداد ۱۲ سر موش آلبینو نژاد NMRI جنس نر با وزن تقریبی ۳۰ گرم از مرکز رشد و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری شد. موش‌ها تحت شرایط مطلوب دمایی، رطوبت، نور و تغذیه در قفس با بستر مناسب نگهداری شدند. پس از اطمینان از سلامت موش‌ها، در دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم‌بندی شدند. اصول و حقوق کار با حیوانات آزمایشگاهی در کار بر روی حیوانات رعایت شد. تجویز خوراکی بتائین در گروه آزمایش به صورت ۵۰۰ mg/kg/day با استفاده از لوله‌ی مری و به مدت ۳۱ روز انجام شد. در همه‌ی موش‌ها آنتی‌ژن تجاری *بروسلا ابورتوس* (موسسه‌ی رازی) با رقت ۱/۱۰ و به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به صورت داخل صفاقی در روزهای ۷ و ۲۱ آزمون تزریق شد. در روزهای ۰، ۲۱ و ۳۱ خون‌گیری از طریق ورید دم انجام شد. سرم نمونه‌های خون جداسازی شد و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. از سرم موش‌هایی که بتائین و آنتی‌ژن خاصی دریافت ننموده بودند به عنوان شاهد در آزمون‌ها استفاده شد.

آزمون میکروآگلوتیناسیون مطابق با روش معمول (Sareyyupoglu et al. 2010) و به شرح ذیل انجام شد. رقت‌های متوالی دو برابر و سه برابر از هر نمونه سرم در حجم ۱۰۰ میکرولیتر با بافر فسفات سالین (PBS) در گوده‌های پلیت U شکل تهیه شد. آنتی‌ژن رایت تولید شده توسط موسسه‌ی واکسن و سرم‌سازی رازی با رقت ۱/۱۰ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر گوده اضافه شد. پس

از مخلوط کردن، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند و عکس آخرین رقتی که باعث حداقل ۵۰ درصد اگلوتیناسیون شده بود به عنوان عیار ثبت شد هر نمونه در ایجاد اگلوتیناسیون در ادامه قرائت شد و میانگین دو بار اندازه-گیری محاسبه و به عنوان عیار درنظر گرفته شد.

آزمون ۲- مرکاپتواتانول مشابه روش میکرو-آگلوتیناسیون ذکر شده در مرحله‌ی قبل ولی با بافر 2ME انجام شد (Sareyyupoglu et al. 2010).

آنتی‌ژن *بروسلا آبورتوس* پس از سونیکه شدن، با غلظت ۲۰ µg/ml در بافر کربنات- بی کربنات با pH برابر با ۹/۶ در حجم ۱۰۰ میکرولیتر در گوده‌های پلیت الایزا (کاریز مهر، ایران) ریخته شد و پلیت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن پلیت سه بار با بافر فسفات حاوی ۰/۵ درصد توئین ۲۰، شستشو شد. پلیت با شیر پس از چرخ ۴ درصد در PBS در حجم ۲۵۰ میکرولیتر و به مدت یک ساعت بلوک شد و مشابه قبل شستشو شد. هر نمونه سرم با سه رقت ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰ و ۱/۸۰۰ در حجم ۱۰۰ میکرولیتر و با دو بار تکرار اضافه شد و پس از یک ساعت، شست و شو انجام شد. آنتی IgG موشی کنژوگه با آنزیم پراکسیداز محصول شرکت Abcam (کد محصول: AB6789) که توانایی واکنش با زنجیره‌ی سبک آنتی‌بادی‌های موشی را داشت با رقت ۱/۱۰۰۰۰ و در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به هر گوده اضافه شد و پس از یک ساعت شستشو انجام شد. سوبسترای TMB[1] (PanReac، Cas No: 54827-17-7) در حجم ۷۰ میکرولیتر به هر گوده اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه محلول اسید سولفوریک ۱ نرمال به میزان ۷۰ میکرولیتر جهت توقف واکنش اضافه شد. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت کننده پلیت اندازه-گیری شد.

جهت مقایسه‌ی نتایج گروه‌های مورد آزمون از روش-های آمار توصیفی و آزمون t نرم‌افزار SPSS V.18 استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن نتایج با فرض (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

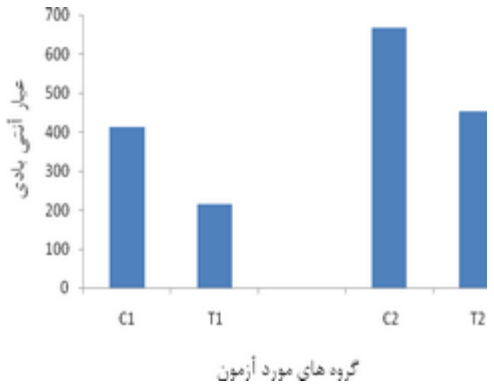
نتایج

در آزمون میکرواگلوتیناسیون میزان عیار آنتی‌بادی‌های ایجاد کننده آگلوتیناسیون در گروه دریافت کننده‌ی بتائین، در پاسخ اولیه ۱/۹ برابر و در پاسخ ثانویه ۱/۴ برابر کم‌تر از گروه کنترل بود (نمودار ۱). این کاهش عیار غیر معنی‌دار بود. در آزمایش میکروآگلوتیناسیون افزایش عیار پاسخ اولیه‌ی ایمنی هومورال نسبت به ثانویه در هر دو گروه کنترل و آزمون غیرمعنی‌دار بود.

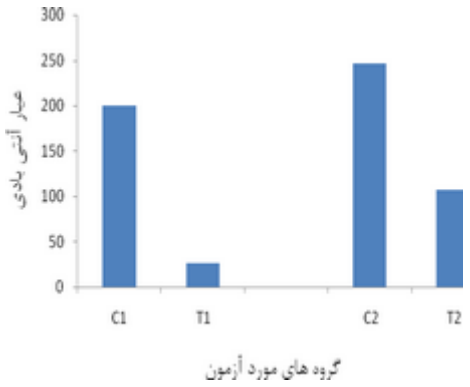
بر اساس آزمون 2ME عیار آنتی‌بادی‌های IgG گروه کنترل در پاسخ اولیه ۷/۵ برابر (معنی‌دار) و در پاسخ ثانویه ۲/۳ برابر (غیر معنی‌دار) گروه آزمون بود (نمودار ۲). بر اساس این نتایج علاوه بر کاهش عیار آنتی‌بادی-های ایجاد کننده‌ی آگلوتیناسیون، بیش‌ترین تأثیر بتائین بر تعویض زنجیره‌ی سنگین آنتی‌بادی و ممانعت از ایجاد آنتی‌بادی‌های IgG بوده است.

در الایزا عیار گروه آزمون در مقایسه با گروه کنترل در هر دو پاسخ اولیه و ثانویه افزایشی اندک و غیر معنی‌دار داشت (نمودار ۳). بر اساس نتایج الیزا افزایش عیار پاسخ ثانویه ایمنی هومورال نسبت به اولیه در هر دو گروه شاهد و آزمون معنی‌دار بود.

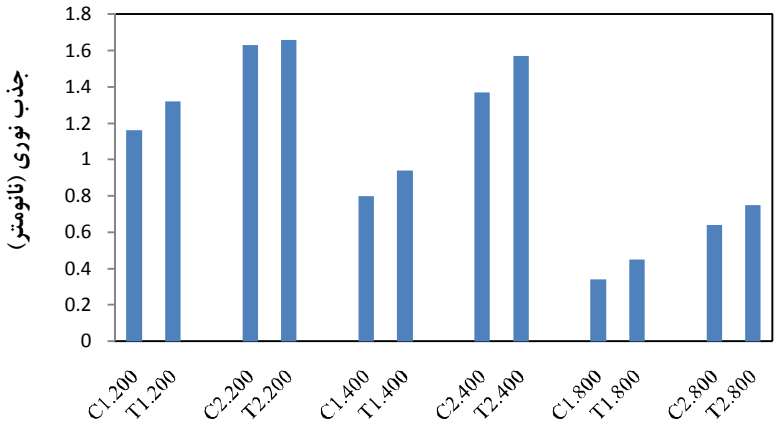
1- 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine



نمودار ۱: نتایج آزمون میکروآگلوتیناسیون در پاسخ اولیه (C1) و ثانویه (C2) گروه کنترل و پاسخ اولیه (T1) و ثانویه (T2) ایمنی هومورال گروه دریافت کننده‌ی بتائین



نمودار ۲: نتایج آزمون 2ME-میکروآگلوتیناسیون در پاسخ اولیه (C1) و ثانویه (C2) گروه کنترل و پاسخ اولیه (T1) و ثانویه (T2) ایمنی هومورال گروه دریافت کننده‌ی بتائین



نمودار ۳: نتایج آزمون الایزا در پاسخ اولیه (C1) و ثانویه (C2) گروه کنترل و پاسخ اولیه (T1) و ثانویه (T2) ایمنی هومورال گروه دریافت کننده‌ی بتائین. نتایج آزمون برای سه رقت ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰ و ۱/۸۰۰ از سرم ذکر شده است.

بحث

تجویز خوراکی بتائین منجر به کاهش پاسخ ایمنی هومورال شد، سرکوب تولید فاکتورهای التهابی از قبیل IL6 و TNFα را می‌توان در این زمینه مؤثر دانست (Fan et al. 2008, Lv et al. 2009, Kim et al. 2014, Olli et al. 2013). تأثیر بیش‌تر بر پاسخ اولیه نسبت به پاسخ ثانویه ممکن است مرتبط با تأثیر بیش‌تر بتائین بر سرکوب مسیر TNFα در پاسخ اولیه ایمنی هومورال باشد (Lu et al. 2009).

همان گونه که در تحقیق‌های پیشین گزارش شده است جلوگیری از ایجاد لمفوسیت‌های B خاطره از طریق ممانعت از ایجاد فولیکول‌های ثانویه از اثرات کاهش تولید TNFα است (Anolik et al. 2008) اینترلوکین ۶ سبب تمایز نهایی لمفوسیت B می‌شود و نقش مهمی در تولید IgG ایفا می‌نماید و استفاده از آنتی‌بادی ضد آن سبب سرکوب تولید IgG شده است (Maeda et al. 2010). نقش‌های شناخته شده اینترلوکین ۶ شامل تکثیر لمفوسیت‌های B (Tosato et al. 1988)، تولید آنتی‌بادی (Minges et al. 2002) و افزایش زنده مانی پلاسماسل‌ها (Kopf et al. 1994) است. تأثیر بتائین در پاسخ ایمنی

هومورال توسط محقیقین در ماکیان مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج حاصل شده هم‌خوانی چندانی با هم ندارند. عدم تغییر در پاسخ ایمنی هومورال و سلولی ماکیان در استفاده از بتائین مشاهده شده است (Tsiagbe et al. 1987). در مطالعه‌ی Ezzat و همکاران در سال ۲۰۱۱ تجویز بتائین در ماکیان سبب افزایش معنی‌دار پاسخ به گلبول قرمز گوسفند شده است. افزایش اندک و غیر معنی‌دار عیار هماگلوتیناسیون ماکیان نسبت به واکسن نیوکاسل در پرندگان با استفاده از بتائین نیز مشاهده شده است (Attia et al. 2005). اضافه نمودن بتائین به جیره‌ی ماکیان تحت جیره‌ی غذایی محدود سبب کاهش غیر معنی‌دار پاسخ به آنتی‌ژن *بروسلا ابورتوس* شده است (El Hadri et al. 2004). از دلایل متفاوت بودن نتایج می‌توان به شرایط مختلف انجام آزمون توسط محققین، مدت زمان دریافت بتائین، بررسی ناکافی کلاس‌های آنتی‌بادی ایجاد شده و روش انجام آزمون اشاره نمود.

با توجه به متفاوت بودن زیر رده‌های آنتی‌بادی ایجاد شده در دو گروه که توسط آزمون 2ME اثبات شده است و قابلیت واکنش آنتی‌بادی ضد موشی استفاده شده با زنجیره‌ی سبک کلاس‌های مختلف آنتی‌بادی، این افزایش جذب نوری را می‌توان انتظار داشت. افزایش سایر آنتی-بادی‌های غیر آگلوتینان را می‌توان از دیگر دلایل مهم متفاوت بودن نتایج آزمون میکروآگلوتیناسیون و الایزا دانست. در مطالعه‌ی Hamidi و همکاران در سال ۲۰۱۰ اضافه نمودن بتائین به جیره‌ی غذایی علی‌رغم عدم تغییر پاسخ به گلبول قرمز گوسفند، سبب افزایش معنی‌دار میزان IgA شده است.

با توجه به اثرات ضدالتهابی بتائین، به خصوص اثرات اثبات شده آن در کاهش TNFα و IL6، وجود گزارش-های متناقض در زمینه‌ی تجویز خوراکی بتائین و اثر آن بر سیستم ایمنی، در این مطالعه اثر تجویز خوراکی بتائین بر پاسخ اولیه و ثانویه ایمنی هومورال نسبت به آنتی‌ژن *بروسلا ابورتوس* در موش بررسی شد. پاسخ اولیه و ثانویه ایمنی هومورال در گروه مورد آزمون کاهشی غیر معنی‌دار داشت. میزان کم‌تر تولید آنتی‌بادی IgG در پاسخ اولیه مشهودتر و معنی‌دار بود. این یافته‌ها در راستای اثرات اثبات شده بتائین در کاهش تولید و ترشح سیتوکاین‌های مؤثر در تولید آنتی‌بادی، تعویض زنجیره‌ی سنگین آنتی‌بادی و اثرات ضدالتهابی آن است.

تشکر و قدردانی

با تشکر از حوزه‌ی پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که از این مطالعه در قالب تسهیلات پژوهشی حمایت نمودند.

منابع

Anolik, J.H.; Ravikumar, R.; Barnard, J.; Owen, T.; Almudevar, A.; Milner, E.C. et al. (2008). Cutting edge: anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis inhibits memory B lymphocytes *via* effects on lymphoid germinal centers and follicular dendritic cell networks. Journal of Immunology, 180*:* 688-692.

Attia, Y.A.; Hassan, R.A.; Shehatta, M.H. and Abd-El-Hady, S.B. (2005). Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing 2. Different levels of methionine. International Journal of Poultry Science, 4: 856-865.

Campbell, R.G.; Cadogan, D.J.; Morley, W.C.; Uusitalo, R. and Virtanen, E. (1995). Interrelationships between dietary methionine and betaine on the growth performance of pigs from 65 to 100 kg. Journal of Animal Sciences, 73: 82.

Clayton, P. (2007). Chapter11: Betaine-a new B Vitamin. P 162-166. Health Defence. 2nd Edition. Accelerated Learning Systems Ltd.

Craig, S.A. (2004). Betaine in human nutrition. The American Journal of Clinical Nutrition. 80:539-549.

El Hadri, L.; Garlich, J.D.; Qureshi, M.A.; Ferket, P.R. and Odetallah, N.H. (2004). Glucose and electrolyte supplementation of drinking water improve the immune responses of poults with inanition. Poultry Science. 83: 803-809.

Emma, L. (2012). Therapy: Response to T cell dependent vaccine thwarted by TNF blockade. Nature Reviews Rheumatology, 8: 632.

Ezzat, W.; Shoeib, M.S.; Mousa, S.M.M.; Bealish, A.M.A. and Ibrahiem, Z.A. (2011). Impact of betaine, vitamin C and folic acid supplementation to the diet on productive and reproductive performance of Matrouh poultry strain under Egyptian summer condition. Egyptian Poultry Science Journal, 31: 521-537.

Fan, R.X.; Lu, S.W.; Du, Y.P.; Hou, M.J. and Zhu, H.L. (2008). Anti-atherosclerotic effect of betaine in apolipoprotein E-deficient mice. Chinese Journal of Preventive Medicine, 42: 742-747.

FrancoSalinas, G.; Mai, H.L.; Jovanovic, V.; Moizant, F.; Vanhave, B.; Boeffard, F. et al. (2011). TNF blockade abrogates the induction of T cell-dependent humoral responses in an allotransplantation model. Journal of Leukocyte Biology, 90: 367-375.

Go, E.K.; Jung, K.J.; Kim, J.Y.; Yu, B.P. and Chung H.Y. (2005). Betaine suppresses proinflammatory signaling during aging: the involvement of nuclear factor-kappaB via nuclear factor-inducing kinase/IkappaB kinase and mitogen-activated protein kinases. The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences, 60: 1252-1264.

Go, E.K.; Jung, K.J.; Kim, J.M.; Lim, H.; Lim, H.K.; Yu, B.P. et al. (2007). Betaine modulates age-related NF-kappaB by thiol-enhancing action. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 30: 2244-2249.

Hagar, H. and Malki, W. (2014). Betaine supplementation protects against renal injury induced by cadmium intoxication in rats: role of oxidative stress and caspase. Environmental Toxicology and Pharmacology, 37: 803-811.

Hamidi, H.; Jahanian, R. and Pourreza, J. (2010). Effect of dietary betaine on performance, immunocompetence and gut contents osmolarity of broilers challenged with a mixed coccidial infection. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 5: 193-201.

Huang, Q.C.; Xu, Z.R.; Han, X.Y. and Li, W.F. (2006). Changes in hormones, growth factor and lipid metabolism in finishing pigs fed betaine. Livestock Science, 105: 78-85.

Kidd, M.T. (2004). Nutritional modulation of immune function in broilers. Poultry Science, 83: 650-657.

Kidd, M.T.; Ferket, P.R. and Garlich, J.D. (1997). Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. World's Poultry Science Journal, 53: 125-139.

Kim, D.H.; Sung, B.; Kang, Y.J.; Jang, J.Y.; Hwang, S.Y.; Lee, Y. et al. (2014). Anti-inflammatory effects of betaine on AOM/DSSinduced colon tumorigenesis in ICR male mice. International Journal of Oncology, 45: 1250-1256.

Kim, S.K. and Kim, Y.C. (2002). Attenuation of bacterial lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity by betaine or taurine in rats. Food and Chemical Toxicology, 40: 545-549.

Klasing, K.C.; Adler, K.L.; Remus, J.C. and Calvert, C.C. (2002). Dietary betaine increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidia-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. The Journal of Nutrition, 132: 2274-2282.

Kopf, M.; Baumann, H.; Freer, G.; Freudenberg, M.; Lamers, M.; Kishimoto, T. et al. (1994). Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. Nature, 368: 339-342.

Lv, S.; Fan, R.; Du, Y.; Hou, M.; Tang, Z.; Ling, W. and Zhu, H. (2009). Betaine supplementation attenuates atherosclerotic lesion in apolipoprotein E-deficient mice. European Journal of Nutrition, 48: 205-212.

Maeda, K.; Mehta, H.; Drevets, D.A. and Coggeshall, K.M. (2010). IL-6 increases B-cell IgG production in a feed-forward proinflammatory mechanism to skew hematopoiesis and elevate myeloid production. Blood, 115: 4699-4706.

Minges Wols, H.A.; Underhill, G.H.; Kansas, G.S. and Witte, P.L. (2002). The role of bone marrow-derived stromal cells in the maintenance of plasma cell longevity. Journal of Immunology, 169: 4213-4221.

Olli, K.; Lahtinen, S.; Rautonen, N. and Tiihonen, K. (2013). Betaine reduces the expression of inflammatory adipokines caused by hypoxia in human adipocytes. The British Journal of Nutrition, 109: 43-49.

Pasparakis, M.; Alexopoulou, L.; Episkopou, V. and Kollias, G. (1996). Immune and inflammatory responses in TNFα-deficient mice a critical requirement for TNFα in the formation of primary B cell follicles, follicular dendritic cell networks and germinal centers, and in the maturation of the humoral immune response. The Journal of Experimental Medicine, 184: 1397-1411.

Rama Rao, S.V.; Praharaj, N.K.; Reddy, M.R. and Panda, A.K. (2003). Interaction between genotype and dietary concentrations of methionine for immune function in commercial broilers. British Poultry Science, 44:104-112.

Ratriyanto, A.; Mosenthin, R.; Bauer, E. and Eklund, M. (2009). Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22: 1461-1476.

Salinas, G.F.; De Rycke, L.; Barendregt, B.; Paramarta, J.E.; Hreggvidstdottir, H.; Cantaert, T. et al. (2013). Anti-TNF treatment blocks the induction of T cell-dependent humoral responses. Annals of the Rheumatic Diseases, 72: 1037-1043.

Sareyyupoglu, B.; Cantekin, Z. and Mustak, H.K. (2010). Investigation of *Brucella* antibodies in bovine sera by rose Bengal plate test (RBPT), serum agglutination test (SAT), microagglutination test (MAT) and 2-mercaptoethanol - microagglutination (2-ME-MAT) test. Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 57: 157-160.

Steenge, G.R.; Verhoef, P. and Katan, M.B. (2003). Betaine supplementation lowers plasma homocysteine in healthy men and women. Journal of Nutrition, 133: 1291-1295.

Su, S.Y.; Dodson, M.V.; Li, X.B.; Li, Q.F.; Wang, H.W. and Xie, Z. (2009). The effects of dietary betaine supplementation on fatty liver performance, serum parameters, histological changes, methylation status and the mRNA expression level of Spot14α in Landes goose fatty liver. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 154: 308-314.

Swain, B.K. and Johri T.S. (2000). Effect of supplemental methionine, choline and their combinations on the performance and immune response of broilers. British Poultry Science, 41: 83-88.

Tosato, G.; Seamon, K.B.; Goldman, N.D.; Sehgal, P.B.; May, L.T.; Washington, G.C. et al. (1988). Monocyte-derived human B-cell growth factor identified as interferon-beta 2 (BSF-2, IL-6). Science, 239: 502-504.

Tsiagbe, V.K.; Cook, M.E.; Harper, A.E. and Sunde, M.L. (1987). Enhanced immune responses in broiler chicks fed methionine-supplemented diets. Poultry Science, 66: 1147-1154.

Wang, Y.Z.; Xu, Z.R. and Feng, J. (2004). The effect of betaine and DL-methionine on growth performance and carcass characteristics in meat ducks. Animal Feed Science and Technology, 116: 151-159.

Zhan, X.A.; Li, J.X.; Xu, Z.R. and Zhao R.Q. (2006). Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcase composition and metabolism of lipids in male broilers. British Poultry Science, 47: 576-580.

Zhang, F.; Warskulat, U. and Haussinger, D. (1996). Modulation of tumor necrosis factor-α release by anisoosmolarity and betaine in rat liver macrophages (Kupffer cells). Federation of European Biochemical Societies Letters, 391: 293-296.

The effects of oral administration of betain on mice humoral immune response against *Brucella abortus*

Khosravi, M.[1]; Ghorbanpour, M.[2]; Fatemi Tabatabaei, S.R.[3] and Mohammad Alipour, Y.[4]

Received: 20.08.2016 Accepted: 16.05.2017

Abstract

The use of betaine in animal and human nutrition has been increased dramatically in recent years. The effects of betaine on humoral immune responses are to some extent unknown. The current study investigated the effect of oral administration of betaine on antibody response against *Brucella abortus* in mice. A total of 12 male adult mice were divided into two groups. Betaine was orally administered to the test group at a daily dose of 500 mg / kg / day for 31 days. *Brucella abortus* antigen were injected intraperitoneally to all of the mice on days 7, 21 and the blood samples were collected on days 0, 21 and 31. Immune response was evaluated by microagglutination test, 2ME and ELISA. The primary and secondary humoral immune responses were decreased insignificantly in the test group. The IgM / IgG ratio in primary and secondary immune response of the control group was 1: 1 and 1: 1.7, respectively. In the test group the mentioned ratios were recorded as 7: 1 and 3.2: 1, respectively. Also, there was no significant difference in ELISA titers. Based on the above results, it is concluded that, the main effect of betaine on humoral immune response is on antibody class switching.

Key words: Betaine, Homoral immune response, Mouse

1- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
2- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
3- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
3- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Khosravi, M., E-mail: m.khosravi@scu.ac.ir