تاثیر ویتامین D3 در جلوگیری از پیشرفت بیماری انسفالومیلیت خود ایمن تجربی در موشهای نژاد C57BL/6

*دکتر قاسم مسیبی I
علی قضاوی II
محمدعلی پایانی III

چکیده

زمینه و هدف: بیماری مولتیپل اسکلروزیس(Multiple sclerosis=MS)، یک بیماری خود ایمن مزمن با اتیولوژی ناشناخته می‌باشد که سیستم عصبی مرکزی را گرفتار می‌سازد. شیوع بیماری در مناطقی که مصرف ویتامین D بالا است، کمتر می‌باشد. برخی مطالعات نشان می‌دهد که مصرف ویتامین D_3 در جلوگیری از انسفالومیلیت خود ایمن تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis=EAE)، در مدل حیوانی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، مؤثر است. چگونگی تاثیر این ویتامین در جلوگیری از EAE، مشخص نیست. ویتامین D_3 ممکن است با تاثیر بر سطح نیتریک اکساید در جلوگیری از پیشرفت بیماری مؤثر باشد. بدین منظور، در این مطالعه اثر ویتامین D_3 بر روند EAE القا شده با پپتید MOG35-55 (Myelin oligodendrocyte gylcoprotein) و سطح نیتریک اکساید در موشهای نژاد C57BL/6 مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: موشهای نر نژاد C57BL/6 در دو گروه درمانی(هر گروه ۸ سر) با شرایط سنی و وزنی مشابه قرار گرفتند. گروه اول شامل موشهای مبتلا به EAE بود که تحت درمان با ویتامین D_3، به میزان ۵ میکروگرم بر حسب وزن ویتامین D_3 هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی، از ۳ روز قبل تا ۱۹ روز پس از ایجاد بیماری، دریافت کردند و گروه دوم شامل موشهای مبتلا به EAE درمان نشده بود که تنها حلال ویتامین را با همان جدول زمانی دریافت نمودند. همچنین ۵ سر موش نر نژاد C57BL/6 با شرایط سنی و وزنی مشابه به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که شدت علایم کلینیکی در موشهای تحت درمان با ویتامین D_3(۰/۸±۳/۲) در مقایسه با گروه درمان نشده(۰/٤٤±۵/۳) به طور معنی‌داری کمتر می‌باشد(p=۰/۰۰۱). همچنین در روز شروع حمله بیماری بین گروه تحت درمان با ویتامین D_3 و درمان نشده(به ترتیب روز ۱ ±۱۱و روز۱±۱۵پس از القای بیماری)، اختلاف قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. غلظت نیتریک اکساید در موشهای تحت درمان با ویتامین D_3 در مقایسه با گروه درمان نشده، کمتر بود(p=۰/۰۰۸) ولی با گروه سالم، تفاوتی را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش نیتریک اکساید در پاتوژنز بیماری، به نظر می‌رسد که ویتامین D_3 با مهار تولید نیتریک اکساید و تعدیل پاسخ‌های ایمنی می‌تواند باعث کاهش شدت بیماری و تاخیر حمله بیماری گردد؛ لذا ویتامین D_3 می‌تواند در درمان مولتیپل اسکلروزیس مفید باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – مولتیپل اسکلروزیس ۲ – انسفالومیلیت خودایمن تجربی ۳ – ویتامین D_3 ۴ – نیتریک اکساید ۵ – موش نژاد C57BL/6

تاریخ دریافت: ۸٤/۸/۲۸، **تاریخ پذیرش:** ۸٤/۱۲/۱

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس(Multiple sclerosis=MS)، یک بیماری خودایمن است که باعث اختلال در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد. در این بیماری، سیستم ایمنی باعث تخریب میلین رشته‌های عصبی می‌گردد.[۱] اتیولوژی این بیماری مشخص نیست ولی فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در استعداد ابتلا به بیماری نقش دارند. با توجه به این که در این بیماری، سیستم عصبی مرکزی درگیر می‌شود و مشکلات و ناتوانی‌های متعددی را برای بیمار به دنبال دارد، جلوگیری از

I) استادیار گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، سردشت، مجتمع پردیس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اراک، اراک، ایران(*مؤلف مسؤول).
II) عضو هیات علمی گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، سردشت، مجتمع پردیس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اراک، اراک، ایران.
III) کارشناس گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، سردشت، مجتمع پردیس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اراک، اراک، ایران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

پیشرفت و کنترل بیماری، ارزشمند می‌باشد. بیماری MS درمان اختصاصی ندارد. استفاده از کورتون‌ها و عوامل مهار کننده سیستم ایمنی، متداول‌ترین روش درمانی است. این داروها باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌گردند و احتمال بروز سایر عفونت‌ها و سرطان‌ها را در این بیماران افزایش می‌دهند.[۲]

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که شیوع MS در مناطقی که بیش‌تر در معرض نور خورشید هستند، به دلیل نقشی مهمی که اشعه ماوراء بنفش در تولید ویتامین D دارد، کمتر است. همچنین در جوامعی که غذاهای سرشار از ویتامین D مصرف می‌کنند، شیوع و شدت بیماری کمتر می‌باشد. این مطالعات نشان از ارتباط ویتامین D با این بیماری دارد. اخیراً استفاده از ویتامین D به عنوان یک عامل تعدیل کننده سیستم ایمنی در درمان این بیماری، مورد توجه محققین قرار گرفته است. هر چند مطالعات in vivo و in vitro نشان می‌دهند که ویتامین D_3(فرم فعال ویتامینD) در کاهش شدت بیماری‌های خودایمن از جمله MS موثر است، ولی هنوز در خصوص چگونگی تاثیر ویتامین D_3 بر مهار بیماری، اطلاعات روشنی در دسترس نمی‌باشد.[۳-۵]

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که در این بیماران به دلیل اختلال در سیستم NADPH (Nicotinamide-adenine-dinucleotide phosphate) تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد.[۶] با توجه به این که در این بیماران سیستم NADPH دچار اختلال می‌شود، ممکن است میزان تولید نیتریک اکساید افزایش یابد. این عوامل باعث تشدید واکنش‌های التهابی و در نتیجه تشدید ضایعات مغزی می‌گردند.[۷] از این رو این فرضیه مطرح است که ویتامین D_3 ممکن است با مهار تولید نیتریک اکساید، از پیشرفت بیماری جلوگیری نماید.

در این مطالعه به منظور بررسی تاثیر این ویتامین در روند بیماری و تاثیر آن بر میزان تولید نیتریک اکساید، از مدل حیوانی بیماری مولتیپل اسکلروزیس یعنی انسفالومیلیت اتوایمیون تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis=EAE) استفاده شد.

روش بررسی

جامعه مورد مطالعه، موشهای خالص(inbred) نژاد C57BL/6 با محدوده سنی ۸-۶ هفته بودند، که از مرکز تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تهیه شدند.

این مطالعه از نوع تجربی است که به صورت موردی ـ شاهدی انجام شده است.

مقدار ۲۰۰ میکروگرم پپتید MOG35-55 (Myelin oligodendrocyte glycoprotein) با توالی (M-E-V-G-W-Y-R-S-P-F-S-R-V-V-H-L-Y-R-N-G-K) و درجه خلوص بیش‌تر از ۹۵٪(خریداری شده از شرکت Diapharm روسیه)، در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (Phosphate buffered saline=PBS) با ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند (Sigma)، مخلوط و به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت به هر موش C57BL/6 تزریق گردید. مقدار ۴۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه(Pertussis toxin; Sigma) در حجم ۴۰۰-۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات در مرحله صفر و ۴۸ ساعت بعد از ایمونیزاسیون، به صورت داخل صفاقی تجویز شد.[۸] جهت گروه کنترل نیز مراحل فوق، اعمال شد با این تفاوت که به آنها پپتید MOG35-55 تجویز نشد. روزانه، روند بیماری و تغییرات وزن موشها مورد بررسی قرار گرفت و شدت بیماری از صفر تا ۸ درجه‌بندی شد(جدول شماره ۱).[۹]

جدول شماره ۱- درجه‌بندی شدت بیماری براساس علایم و پیامدهای تجویز ناشی از پپتید MOG35-55

درجه شدت بیماری	علایم و پیامدها
۰	عدم ابتلا به بیماری
۱	اختلال در حرکت دم
۲	فلج شدن دم
۳	اختلال ملایم در راه رفتن
٤	اختلال شدید در راه رفتن
٥	فلجی یک پا
٦	فلجی هر دو پا
۷	فلجی کامل دست و پا
۸	مرگ

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

جهت بررسی تاثیر ویتامین D_3 بر روند بیماری EAE، از موشهای نر نژادC57BL/6(۸-۶ هفته‌ای) استفاده شد. ۱۶ سر موش، ۳ روز قبل از ایجاد بیماری، به ۲ گروه(در هر گروه ۸ سر) با شرایط سنی و وزنی یکسان تقسیم‌بندی شدند و به صورت زیر تا روز نوزدهم پس از ایجاد EAE، تحت درمان قرار گرفتند:

گروه ویتامین D: موشهای مبتلا به EAE که هر ۲ روز یک بار به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، ۵ میکروگرم ویتامین D_3 در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه کنترل: موشهای مبتلا به EAE که هر ۲ روز یک بار، ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

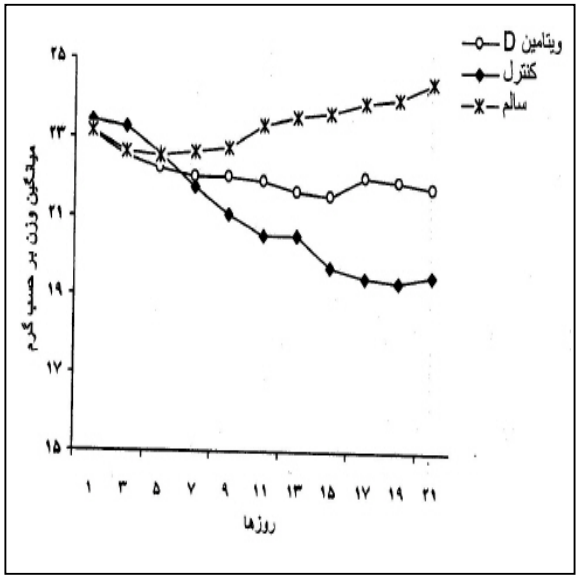
در ضمن ۵ سر موش که از نظر جنس، نژاد، سن و وزن با دو گروه مذکور مشابه بودند، به عنوان موشهای سالم غیر بیمار در نظر گرفته شدند که تنها روغن کنجد دریافت نمودند. انتخاب دوز تزریقی ویتامین در این مطالعه، بر اساس مطالعات مشابه‌ای بود که از این ویتامین جهت درمان بیماری‌ها در مدلهای حیوانی استفاده شده بود.[۱۰و ۱۱] پس از گذشت ۱۹ روز از زمان القا EAE، به منظور سنجش نیتریک اکساید سرمی، از موشها خون‌گیری بعمل آمد.

جهت سنجش نیتریک اکساید از روش گریس(Griess) استفاده شد. اختصاراً، از محلول ۰/۱ مولار سدیم نیتریت، غلظت ۱۰۰ میکرومولار، تهیه و از این غلظت، سریال رقتهای سه‌تایی(به عنوان غلظت‌های استاندارد جهت رسم منحنی استاندارد) تهیه گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه سرمی به صورت دوتایی در پلیت ۹۶ حفره‌ای ریخته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سولفانیل آمید(یک گرم سولفانیل آمید در ۱۰۰ سی سی اسید فسفوریک ۵٪) به تمام حفره‌های حاوی نمونه و استاندارد اضافه گردید. پلیت به مدت ۱۰-۵ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق، انکوبه شد. به تمام حفره‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محلول N-۱-نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید(NED)، اضافه و مجدداً پلیت به مدت ۱۰-۵ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق، انکوبه شد. جذب نوری حداکثر پس از نیم ساعت با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد و از روی منحنی استاندارد، میزان نیتریت در نمونه‌ها تعیین گردید.[۱۲]

جهت مقایسه میانگین‌ها(میانگین وزن و شدت بیماری)، از روش غیر پارامتریک Mann Whitney-U استفاده شد. از آزمون Friedman به منظور بررسی تغییرات شدت بیماری در هر گروه و نیز از روش اندازه‌گیری تکراری (repeated measurement) برای مقایسه وزن در روزهای مختلف استفاده گردید. $p<0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

با بررسی تغییرات وزن در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(کنترل) و موشهای سالم، مشخص گردید که میانگین وزن موشهای مبتلا به EAE در مقایسه با موشهای سالم به طور معنی‌داری کمتر است(p=۰/۰۰۱). با مقایسه میانگین تغییرات وزن در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(کنترل) و موشهای تحت درمان با ویتامین D_3، مشخص گردید که موشهای تحت درمان با ویتامین D_3، کاهش وزن کمتری در مقایسه با گروه درمان نشده داشتند(نمودار شماره ۱).

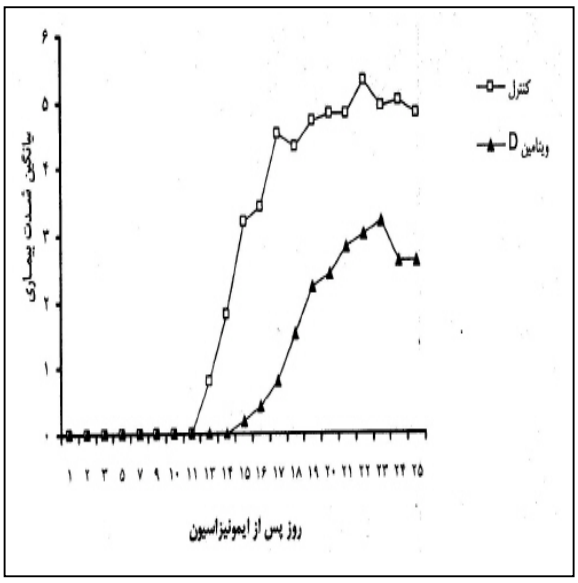


نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین تغییرات وزن در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(کنترل) و موشهای مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین D_3 و موشهای سالم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

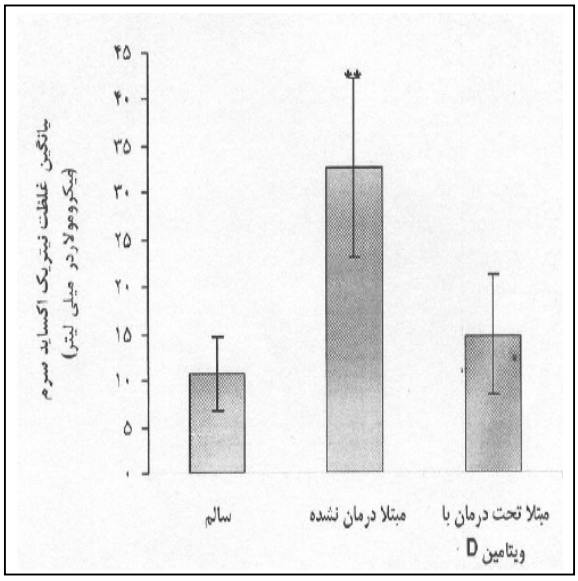
با بررســی روند بیماری در هر گروه و مقایسه روز شروع بیماری و شدت بیماری، مشخص گردید که بین روز شروع بیماری در گروه‌های درمان نشده و درمان شده تفاوت قابل توجه‌ای وجود دارد. روز شروع بیماری در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده، ۱۱ روز پس از زمان ایجاد EAE بود؛ در حالی که در موشهای تحت درمان با ویتامین D_3، زمان شروع علایم ۱۵ روز پس از القا EAE بود(نمودار شماره ۲).

با مقایسه میانگین حداکثر شدت بیماری در گروه‌های مختلف، مشخص شد که میانگین حداکثر شدت بیماری در موشهای تحت درمان با ویتامین D_3(۰/۸±۳/۲)، در مقایسه با موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(۰/٤٤±۵/۳) کمتر می‌باشد(p=۰/۰۰۱)(نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲– مقایسه میانگین شدت بیماری در روزهای مختلف پس از ایمونیزاسیون در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(کنترل) و موشهای مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین D_3

پس از گذشت ۱۹ روز از زمان ایجاد EAE، سرم موشها به طور همزمان، جمع‌آوری و میزان نیتریک اکساید سرم با روش گریس(Griess) مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان نیتریک اکساید در موشهای مبتلا به EAE درمان نشده(۰/٤٨±۳۲/۲ میکرومولار در میلی‌لیتر) در مقایسه با موشهای تحت درمان با ویتامین D_3(۹/٤±۱٤/۸ میکرومولار در میلی‌لیتر) به طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر است(p=۰/۰۰۸). تفاوت معنی‌داری در میزان نیتریک اکساید در بین موشهای درمان شده با ویتامین D_3 و موشهای سالم مشاهده نشد(نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳– مقایسه میانگین غلظت نیتریک اکساید در موشهای سالم و موشهای مبتلا به انسفالومیلیت خودایمن تجربی درمان نشده و درمان شده با ویتامین D_3

**: p=۰/۰۰۸ اختلاف بین گروه درمان نشده با گروه درمان شده با ویتامین D_3 و گروه سالم

بحث

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهند که شیوع بیماری MS به عوامل جغرافیایی و تغذیه‌ای بستگی دارد.[۱۳ و ۱٤] شیوع MS در مناطق استوایی که بیش‌تر در معرض نور خورشید هستند در مقایسه با مناطق قطبی، کمتر است. اشعه ماوراء بنفش یکی از منابع مهم تولید ویتامین D در بدن است. بررسی‌های اکولوژی نشان می‌دهند که تماس با مقادیر مناسب اشعه ماوراء بنفش و یا مصرف ویتامین D در حد کافی، می‌تواند از بروز MS جلوگیری کند.[۱۵] مطالعات مختلف نشان می‌دهند که مصرف ویتامین D باعث کاهش شدت بیماری در بیماران مبتلا به MS می‌گردد. نتایج یک

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

مطالعه بر روی جمعیت مبتلا به MS در استرالیا نشان داد که ژنهای کد کننده رسپتور ویتامین D، در خطر ابتلا به بیماری نقش دارند و در کسانی که میزان بیان این رسپتور کمتر می‌باشد، خطر ابتلا به MS بیش‌تر است. تغییر در بیان این رسپتور در جمعیت، سبب ایجاد اشکال بالینی مختلف MS از نظر شدت علایم می‌گردد.[۱۶] برخی گزارشات نیز نشان از اثر تنظیمی ویتامین D بر روی سیستم ایمنی دارند و ویتامین D از این طریق مانع از ایجاد MS یا EAE می‌شود.[۱۷] در هر صورت مکانیسم دقیق اثر ویتامین D در جلوگیری از بیماری یا کاهش شدت علایم بالینی بیماری مشخص نیست.

با توجـــه به اینکه نیتریک اکساید به عنوان یک رادیکال آزاد در پاتوژنز خیلی از بیماری‌ها از جمله مولتیپل اسکلروزیس دخالت دارد، این فرضیه مطرح می‌شود که ویتامین D_3 از طریق مهار تولید نیتریک اکساید سبب مهار بیماری می‌گردد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان نیتریک اکساید سرم موشهای مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین D_3 در مقایسه با موشهای درمان نشده، به طور معنی‌داری کاهش نشان می‌داد. همچنین در موشهای تحت درمان، تاخیر در روز شروع بیماری و کاهش شدت علایم بالینی مشاهده شد. این نتایج نشان داد که کاهش نیتریک اکساید می تواند موجب کاهش شدت علایم بیماری و تاخیر در شروع حمله بیماری گردد.

در خصوص تاثیر ویتامین D_3 در میزان نیتریک اکساید، نظرات متفاوتی مطرح است. برخی بررسی‌ها نشان می‌دهند که ویتامین D_3 از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید سبب افزایش قدرت ماکروفاژها در کشتن مایکوباکتریوم می‌گردد.[۱۸و ۱۹] در حالی که چانگ(Chang) و همکاران نشان دادند که سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به سل، نیتریک اکساید کمتری را در مقایسه با گروه کنترل تولید می‌کنند. آنها نشان دادند که ویتامین D_3 با مهار mRNA نیتریک اکساید سنتتاز، به طور معنی‌داری تولید نیتریک اکساید را کاهش می‌دهد.[۲۰] همچنین Garcion و همکاران نشان دادند که ویتامین D_3 با مهار تولید نیتریک اکساید سبب بهبود علایم کلینیکی رت‌های مبتلا به EAE می‌شود.[۲۱] همچنین با مطالعه بر روی رده‌های سلولی میکروگلیال EOC13 نشان داده شد که ویتامین D_3 با مهار سیتوکاین‌های پیش التهابی، موجب کاهش تولید نیتریک اکساید می‌شود.[۲۲]

به هر حـــال نتایـــج مطالعه حاضر نیز نشان داد که در مدل in vivo، تجویز ویتامین D_3 به موشهای نر نژاد C57BL/6 تولید نیتریک اکساید را کاهش می‌دهد. مکانیسم دقیق کاهش تولید نیتریـــک اکساید توسط ویتامین D_3 مشخص نیست. شاید ویتامین D با کاهش فعالیت ماکروفاژها، موجب کاهش تولید نیتریک اکساید و تعدیل پاسخ‌های ایمنی گردد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز ویتامین D_3 در موشهای نر نژاد C57BL/6 به طور کامل EAE را مهار نمی‌کند، در حالی که برخی مطالعات نشان از مهار کامل بیماری در موشهای تغذیه شده با این ویتامین دارند. اخیراً Spach و همکاران نشان دادند که ویتامین D_3 به تنهایی در موشهای ماده باعث جلوگیری از EAE می‌شود. آنها در این مطالعه با تغذیه موشهای نر و ماده نژاد B10.PL با ویتامین D_3، نشان دادند که ویتامین D_3 تاثیری در جلوگیری از EAE در موشهای نر ندارد.[۲۳]

به هر حال نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز ویتامین D_3 در موشهای نر نژاد C57BL/6 نیز باعث کاهش شدت علایم بیماری و تاخیر در شروع حمله بیماری می‌گردد. در هر صورت تفاوت نتایج بدست آمده از مطالعات مختلف در خصوص تاثیر ویتامین D_3 در مهار کامل یا جلوگیری از EAE، ممکن است به دلیل تفاوت در دوز مصرفی ویتامین D_3 و یا نژاد حیوان آزمایشگاهی مورد مطالعه باشد. میهان (Meehan) و همکاران نشان دادند که جهت مهار EAE توسط ویتامین D_3، رسپتور این ویتامین ضروری است.[۲۴] این احتمال را می‌توان مطرح نمود که تفاوت نتایج حاصله از مصرف ویتامین D در مهار کامل یا جلوگیری کامل از EAE، ناشی از میزان بیان رسپتور ویتامین D در نژادهای مختلف حیوانی یا انسانی باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به نقش نیتریک اکساید در پاتوژنز بیماری، به نظر می‌رسد که ویتامین D_3 با مهار تولید نیتریک اکساید و تعدیل پاسخ‌های ایمنی می‌تواند باعث کاهش شدت بیماری و تاخیر حمله بیماری گردد. لذا ویتامین D_3 می‌تواند در درمان مولتیپل اسکلروزیس موثر باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با استفاده از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اراک در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۱۴۸) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- FoxEJ. Immunopathology of multiple sclerosis. Neurology 2004 Dec 28; 63(12 Suppl 6): S3-7.

2- Soelberg Sorensen P. Multiple sclerosis: pathophysiology revisited. Lancet Neurol 2005; 4(1): 9-10.

3- Van Amerongen BM, Dijkstra CD, Lips P, Polman CH. Multiple sclerosis and vitamin D: An update. Eur J Clin Nutr 2004 Aug; 58(8): 1095-109.

4- Van Etten E, Branisteanu DD, Overbergh L, Bouillon R, Verstuyf A, Mathieu C. Combination of a 1, 25-dihydroxyvitamin D_3 analog and a bisphosphonate prevents experimental autoimmune encephalomyelitis and preserves bone. Bone 2003 Apr; 32(4): 397-404.

5- Nataf S, Garcion E, Darcy F, Chabannes D, Muller JY, Brachet P. 1, 25-dihydroxyvitamin D_3 exerts regional effects in the central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. J Neuropathol Exp Neurol 1996 Aug; 55(8): 904-14.

6- Emerson MR, Le Vine SM. Hemeoxygenase-1 and NADPH cytochrome P450 reductase expression in experimental allergic encephalpmyelitis: A expanded view of the stress response. J Neurochem 2000 Dec; 75(6): 2555-62.

7- Van der Veen RC. Nitric oxide and T helper cell immunity. Int Immunopharmacol 2001 Aug; 1(8): 1491-500.

8- Costa O, Divoux D, Ischenko A, Tron F, Fontaine M. Optimization of an animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis achieved with a multiple MOG(35-55) peptide in C57BL6/J strain of mice. J Autoimmun 2003; 20(1): 51-61.

9- Skundric DS, Zakarian V, Dai R, Lisak RP, Tse HY, James J. Distinct immune regulation of the response to H-2b restricted epitope of MOG causes relapsing-remitting EAE in H-2b/s mice. J Neuroimmunol 2003; 136(1-2): 34-45.

10- Deluca HF, Cantorna MT. Vitamin D: its role and uses in immunology. FASEB J 2001 Dec; 15(14): 2579-85.

11- Lemire JM, Archer DC. 1, 25-dihydroxyvitamin D_3 prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. J Clin Invest 1991 Mar; 87(3): 1103-7.

12- Bredt DS, Synder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. Ann Rev Biochem 1994; 63: 175-186.

13- Ponsonby AL, Lucas RM, Van der Mei IA. A potential role for UVR and Vitamin D in the induction of Multiple sclerosis, Type 1 Diabetes, Rheumatoid Arthritis. Photochem Photobiol 2005; 81(6): 1267-75.

14- Schwarz S, Leweling H. Multiple sclerosis and nutrition. Mult Scler 2005; 11(1): 24-32.

15- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr 2004 Dec; 80(6 Suppl): 1678S-88S.

16- Tajouri L, Ovcaric M, Curtain R, Johnson MP, Griffiths LR, Csurhes P, et al. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. J Neurogenet 2005 Jan-Mar; 19(1): 25-38.

17- May E, Asadullah K, Zugel U. Immunoregulation through 1,25-dihydroxyvitamin D_3 and its analogs. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2004 Dec; 3(4): 377-93.

18- Waters WR, Palmer MV, Monnecke BJ, Whipple DL, Horst RL. Mycobacterium bovis infection of vitamin D-deficient NOS2-/-mice. Microb Pathog 2004 Jan; 36(1): 11-17.

19- Waters WR, Nonnecke BJ, Rahner TE, Plamer MC, Whipple DL, Horst RL. Modulation of Mycobacterium bovis-specific responses of bovine peripheral blood mononuclear cells by 1,25-dihydroxyvitaminD_3. Clin Diagn Lab Immunol 2001 Nov; 8(6): 1204-12.

20- Chang JM, Kuo MC, Kuo HT, Hwang SJ, Tsai JC, Chen HC, et al. 1-alpha,25-dihydroxyvitamin D_3 regulates inducible nitric oxide synthase messenger RNA expression and nitric oxide release in macrophage-like RAW 264.7 cells. J Lab Clin Med 2004; 143(1): 14-22.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

21- Garcion E, Sindji L, Nataf S, Brachet P, Darcy F, Montero-Menei CN. Treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis in rat by 1,25-dihydroxyvitamin D_3 leads to early effects within the central nervous system. Acta Neuropathol(Berl) 2003 May; 105(5): 438-48.

22- Lefebvre d'Hellencourt C, Montero-Menei CN, Bernard R, Couez D. Vitamin D_3 inhibits proinflammatory cytokines and nitric oxide production by the EOC13 microglial cell line. J Neurosci Res 2003 Feb 15; 17(4): 575-82.

23- Spach KM, Hayes CE. Vitamin D3 confers protection from autoimmune encephalomyelitis only in female mice. J Immunol 2005 Sep 15; 175(6): 4119-26.

24- Meehan TF, Deluca HF. The vitamin D receptor is necessary for l-alpha,25-dihydroxyvitamin D_3 to suppress experimenal autoimmune encephalomyelitis in mice. Arch Biochem Biophys 2002 Dec 15; 408(2): 200-4.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

The Effect of Vitamin D3 on the Inhibition of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 Mice

***G. Mosayebi, Ph.D.**[I] ***A. Ghazavi, MSc**[II] ***M.A. Payani, BSc**[III]

Abstract

Background & Aim: Multiple sclerosis(MS) is a chronic autoimmune disease of unknown etiology affecting the central nervous system. The prevalence of MS is the highest where environmental supply of vitamin D is low. Some studies have shown a strong protective effect of vitamin D_3 on experimental autoimmune encephalomyelitis(EAE) of MS model, but it is not known how it affects EAE. Vitamin D_3 may inhibit EAE by affecting nitric oxide(NO) production. The present study was carried out to investigate the effect of vitamin D_3 on the evolution of MOG_{35-55} induced EAE and level of nitric oxide in male C57BL/6 mice.

Materials and Methods: Male C57BL/6 mice with similar age and weight were placed in two therapeutic groups(n=8 per group) as follow: 1) Vitamin D_3-treated EAE mice(5μg/kg/every two days of vitamin D3 given i.p from day -3 until day +19 after disease induction), 2) non-treated EAE mice(EAE control) received vehicle alone with same schedule. In addition, 5 age and weight-matched male C57BL/6 mice served as normal(non-EAE) controls.

Results: The results showed that vitamin D3-treated mice had significantly less clinical score of EAE(3.2±0.8) than non-treated EAE induced mice(5.3±0.44), (P=0.001). Also, there was a significant difference on the day of onset of disease between vitamin D_3-treated and non-treated EAE-induced mice(day 15±1 and day 11±1, respectively). NO concentration in vitamin D_3-treated mice was significantly lower than EAE control(P=0.008).

Conclusion: By considering the role of NO in the pathogenesis of EAE and MS, it seems vitamin D_3 has immune modulatory responses and can reduce or delay the onset of EAE by reducing NO production. Thus, vitamin D_3 is potentially important for treatment of MS.

Key Words: 1) Multiple Sclerosis 2) Experimental Autoimmune Encephalomyelitis(EAE) 3) Vitamin D_3 4) Nitric Oxide 5) C57BL/6 Mouse

*I) Assistant Professor of Immunology Department. School of Medicine. Sardasht, Pardis Complex. Arak University of Medical Sciences and Health Services, Arak, Iran.(*Corresponding Author)*

II) MSc in Immunology. Instructor. School of Medicine. Sardasht, Pardis Complex. Arak University of Arak University of Medical Sciences and Health Services, Arak, Iran.

III) BSc in Biology. Immunology Department. Arak University of Medical Sciences and Health Services, Arak, Iran.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]