مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۸، شماره ٤، زمستان ۱۳۹٦

اثر ویتامین D بر بیان پروتئین اصلی میلین (Myelin Basic Protein) در جسم پینه‌ای مغز مدل موش انسفالومیلیت اتوایمون تجربی القا شده با کاپریزون

فرهاد مشایخی .Ph.D[1*]، زیور صالحی .MD/Ph.D[1]، ابراهیم میرزاجانی.Ph.D[2]

۱- دانشگاه گیلان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، رشت ، ایران

۲- دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، رشت، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: umistbiology20@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۶

چکیده

هدف: در این مطالعه اثرات ویتامین D3 بر غلظت کل پروتئین و بیان پروتئین اصلی میلین (MBP) در جسم پینه‌ای مغز موش‌های دمیلینه شده توسط کاپریزون تحقیق شد.

مواد و روش‌ها: جهت القا دمیلینه شدن، موش‌ها برای پنج هفته با کاپریزون تیمار شدند. سپس موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند. به اولین گروه از طریق داخل صفاقی ویتامین D3 به میزان ۵ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌طور روزانه تزریق شد. به گروه دوم (گروه شم) بافر فسفات سالین و به گروه سوم یا گروه کنترل هیچ تزریقی انجام نشد. بعد ازپنج هفته موش‌ها کشته شده و غلظت کل پروتئین و بیان MBP توسط وسترن بلاتینگ بررسی شد.

نتایج: هیچ تغییری در غلظت کل پروتئین در جسم پینه‌ای موش‌های گروه تزریق شده با ویتامین D3 در مقایسه با گروه شم و کنترل مشاهده نشد. همچنین این نتایج نشان داد که بیان MBP در جسم پینه‌ای مغز موش‌های تزریق شده با ویتامین D3 به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از آن در گروه کنترل و شم است.

نتیجه‌گیری: نتیجه‌گیری می‌شود که ویتامین D3 باعث افزایش بیان MBP در جسم پینه ای مغز موش‌های دمیلینه شده می‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که ویتامین D3 با افزایش بیان MBP ممکن است در فرایند ایجاد دوباره میلین نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: ویتامین D ، میلین سازی، پروتئین اصلی میلین، جسم پینه ای، کاپریزون

مقدمه

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis=MS) بیماری تحلیل رونده سیستم عصبی مرکزی است که در آن میلین، آکسون و اولیگودندروسیت‌ها تخریب می‌شوند. روند این بیماری می‌تواند به‌صورت عودکننده، فروکش‌کننده یا به‌صورت پیش‌رونده باشد. ضایعات MS معمولا در زمان‌های مختلف و در نواحی مختلف سیستم عصبی رخ می‌دهد. حدود ۳۵۰/۰۰۰ نفر در آمریکا و ۲/۵ میلیون نفر در سراسر جهان به MS مبتلا هستند. فراوانی این بیماری در زنان دو برابر مردان است و بیشتر در بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی بروز می کند (۱). در کشورهای غربی، MS پس از تروما دومین علت ناتوانی نورولوژیک با شروع در اوایل میانسالی است. تظاهرات MS می‌تواند از یک بیماری خوش‌خیم تا بیماری سریعا پیش‌رونده و ناتوان کننده که نیازمند تطابق سریع در شیوه زندگی است متغیر باشد (۲).

در سیستم عصبی محیطی سلول‌های شوان و در سیستم عصبی مرکزی سلول‌های اولیگودندروسیت در تولید میلین نقش دارند. پروتئین‌های مهم میلین شامل پروتئین اصلی میلین (Myelin basic protein=MBP)، Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) ، CNPase و پروتئین پروتئولیپید (Proteolipid protein) می‌باشد. CNPase آنزیمی است که ۴ درصد از پروتئین میلین را تشکیل می دهد و MOG به میزان کم در میلین وجود دارد ولی خاصیت اتوانتی ژنی (autoantigen) در رابطه با پاتوژنز بیماری MS دارد. CNPase به‌تدریج در طول عمر انسان متحمل تغییراتی می‌شود. این آنزیم در تمایز الیگودندروسیت‌های فعال و هدایت تولید میلین نقش اساسی دارد. CNPase از تکثیر ویروس HIV1 نیز جلوگیری می‌کند (۳). MOG پروتئینی با وزن مولکولی ۲۶-۲۸ کیلو دالتون وعضو خانواده بزرگ ایمونوگلوبولین بوده و به‌طور انحصاری در سیستم عصبی مرکزی و مخصوصا در سطح اولیگودندروسیت‌های فعال بیان می‌شود. اگر چه فقط ۰/۰۱ تا ۰/۰۵ در صد از پروتئین‌های میلین را تشکیل می‌دهد ولی نقش مهمی در بیماری اتوایمون بازی می‌کند. MOG در تکمیل و حفظ غلاف میلین و واکنش سلول و سلول نقش دارد (۴). در مدل‌های حیوانی که میلین آن‌ها تخریب شده است، تعداد کمی اولیگودندروسیتی‌های تولید کننده میلین از سلول‌های اجدادی اولیگودندروسیت (Oligodendrocyte progenitor cells = OPGs) ایجاد می‌شوند (۵)، ولی تولید میلین محدود بوده و ایجاد دوباره میلین به‌زودی متوقف می‌شود. MBP پروتئین مهم در فرایند تولید میلین اعصاب در سیستم عصبی بوده و در حفظ ساختمان صحیح میلین و واکنش با لیپیدها در غلاف میلین مهم است. MBP نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی دارد و حذف ژن MBP مانع تولید میلین می‌شود (۶). MBP در نتیجه تغییرات بعد از ترجمه به انواع مختلف تبدیل می‌شود. فرم اصلی آن ۱۸/۵ کیلو دالتون و دارای ۱۷۰ اسید آمینه است. MBP در بیماری‌های تحلیل رونده عصبی نظیر MS مهم است و در اکثر موارد آنتی‌بادی‌ها بر علیه MBP در این بیماری‌ها دیده می‌شود (۷).

تغذیه نقش مهمی در میلین‌سازی دارد. چندین نوع ویتامین، مواد معدنی و اسید چرب برای میلین سازی ضروری است و کمبود این مواد در بدن منجر به اختلال در میلین سازی می‌شود. برای مثال ویتامین‌های B1 و B12 اعمال مختلفی در بدن انجام می‌دهند که یکی از آن‌ها اثر بر روند میلین سازی است به‌طوری‌که کمبود این ویتامین‌ها در بدن منجر به کاهش میلین سازی و ایجاد علائمی از قبیل، مشکلات حافظه، مشکلات در راه رفتن، درد ماهیچه و غیره می شود (۸). یکی دیگر از عوامل مهم در روند میلین سازی ویتامین D است. گیرنده‌های ویتامین D (VDR) به‌طور گسترده در مغز جنین

به‌خصوص در نورو اپیتلیوم و نواحی تکثیر شونده، یافت می‌شوند. سنتز موضعی دی هیدروکسی ویتامین D توسط نورون‌ها و میکروگلیا صورت می‌گیرد. ویتامین D باعث تغییر در بیان فاکتور رشد عصبی و نوروتروفین (neurotrophin) در مغز می‌شود. اضافه کردن ویتامین D به محیط کشت حاوی سلول های هیپوکامپ، منجر به افزایش رشد به سمت خارج (outgrowth) نورون‌ها می‌شود (۹). این ویتامین منجر به معکوس کردن تغییرات التهابی وابسته به سن در ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود (۱۰). ویتامین D تمایز و عمل‌کرد سلول‌های سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به‌نظر می‌رسد لنفوسیت‌های T هدف‌های ویتامین D هستند. دی هیدروکسی ویتامین D سلول‌های Th1 و تولید سایتوکاین‌های التهابی مثل IL-2 , IFN-γ , TNF-α را از آن‌ها مهار می‌کند. مشخص شده که ویتامین D سلول‌های Th1 و تولید سایتوکاین‌های IL-2 , IFN-γ , TNF-α را تنظیم می‌کند (۱۱). با توجه به نقش مهم ویتامین D در بیولوژی سیستم عصبی مرکزی و پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس، در این تحقیق به اثر این ویتامین در بیان MBP در جسم پینه‌ای مغز موش‌های دمیلینه القا شده با کاپریزون در *in vivo* پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

ایجاد موش انسفالومیلیت اتوایمون تجربی: جهت مطالعه اثرات ویتامین D بر بیان ژن MBP که یک ترکیب مهم در پوشش میلین است، از موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c استفاده شد. موش‌ها در دمای اتاق ۲۲ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۱۲:۱۲ ساعت قرار داده شدند. غذا و آب نیز به‌میزان کافی در اختیار موش‌ها قرار داده شد. در تمام آزمایشات ملاحظات اخلاقی در نظر گرفته شد. برای انجام آزمایش‌ها از موش‌های بالغ ۶ تا ۸ هفته‌ای استفاده شد و در سه گروه مجزا نگه‌داری شدند. برای هر گروه یازده موش استفاده شد (n=۱۱).

برای دمیلینه شدن تجربی، به موش‌ها برای مدت ۵ هفته Cuprizone ۰/۲ درصد (از شرکت Sigma-Aldrich) مخلوط با غذای موش داده شد. بعد از پنج هفته و ایجاد علائم MS نظیر عدم تعادل حرکتی در این موش‌ها، به آن‌ها غذای فاقد Cuprizone داده و از همان زمان به سه گروه تقسیم شدند: به گروه اول به‌میزان ۵ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن ویتامین D به‌صورت داخل صفاقی (Intraperotoneally) تزریق شد. به گروه دوم (شم)، سرم فیزیولوژی و به گروه سوم هیچگونه تزریق نشد (گروه کنترل).

برای هر گروه، تعداد ۱۱ موش و در مجموع ۳۳ موش استفاده شد. شش هفته بعد از تزریق‌ها، موش‌ها با دی اتیل اتر بی‌هوش شده و کورتکس مغز آن‌ها پس از جدا کردن در ظرف حاوی سرم فیزیولوژی شستشو داده و جهت تهیه عصاره، جسم پینه‌ای مغز در بافر لیز کننده لیز شد. جسم پینه‌ای مغز جدا و به قطعات ریز تقسیم و در ۰/۵ میلی‌لیتر بافر لیز کننده پروتئین (150mMNaCl, 1.0% Np40,20 mM (Tris (pH.7.5),5mM EDTA به همراه مهارکننده پروتئاز (Roche Diagnostic Ltd, West Sussex,Uk) قرار داده شده و توسط سونیکاتور هموژن شد. بعد از سانتریفوژ کردن، عصاره‌های پروتئین جدا و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

الف) بررسی غلظت کل پروتئین: برای بررسی کمی غلظت کل پروتئین در عصاره جسم پینه ای مغز از روش بردفورد استفاده شد. این روش از رنگ کوماسی برلیانت بلو G-250 استفاده می شود. اتصال رنگ به پروتئین موجب می شود که ماکزیمم جذب از ۴۶۵ نانومتر (رنگ قرمز) به ۵۹۵ نانومتر (رنگ آبی) تغییر یابد. ابتدا برای رسم نمودار استاندارد بردفورد، محلول هایی پروتئینی با غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه، که از سرم آلبومین گاوی (Bovine serum albumin= BSA) استفاده شد و این مقادیر در ۱ میلی لیتر آب مقطر حل شد. سپس در

لوله‌های آزمایش ۲/۵ میلی‌لیتر معرف بردفورد (۰/۰۱ درصد Coomassie Brilliant Blue G-250، ۵ درصد اتانول ۹۵ درصد، ۱۰ درصد اسید فسفریک ۸۵ درصد) ریخته و در هر یک ۱۰۰ میکرولیتر از محلول های BSA تهیه شده اضافه شد. لوله‌ها را به‌خوبی مخلوط کرده و ۲۰ بعد از دقیقه جذب در ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. با استفاده از جذب‌های به‌دست آمده در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم BSA در میلی لیتر منحنی استاندارد رسم شد. با توجه به جذب محلول به‌دست آمده در ۵۹۵ نانومتر و منحنی استاندارد، غلظت پروتئین در عصاره‌ها محاسبه شد.

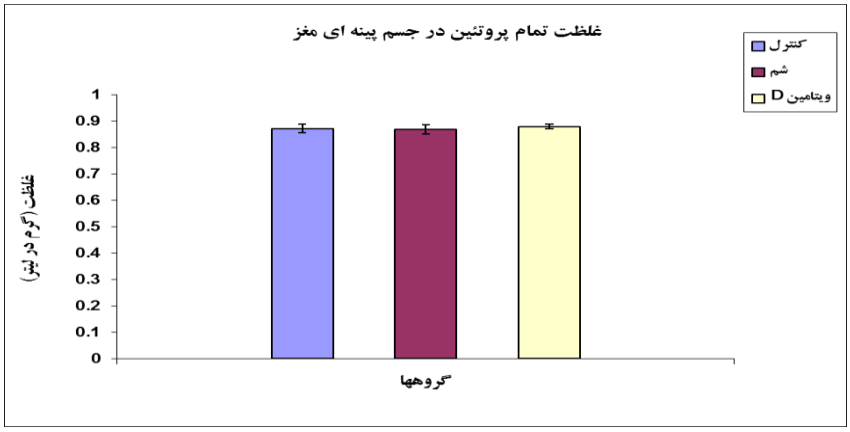
ب) بررسی بیان نسبی MBP در عصاره جسم پینه ای مغز به روش وسترن بلات: برای آنالیز میزان بیان MBP از وسترن بلات استفاده شد. برای وسترن بلات، عصاره‌ها با بافر حاوی SDS ۳/۲ درصد (Sodium dodecyl sulfate)، گلیسرول ۱۵ درصد، β-مرکاپتواتانل ۲/۸ مولار و برومومفنول آبی مخلوط شد. سپس نمونه‌ها بر روی ژل الکتروفورز پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) ۱۵ درصد قرار داده و بر (Bio-Rad, Milan, Italy) اساس روش لاملی جدا شدند. سپس پروتئین‌های جدا شده بر روی ژل به صفحات نیتروسلولز با اندازه منفذ ۰/۴۵ میکرومتر منتقل شد. بعد از ۲ ساعت انکوباسیون در محلول بلوکه کننده (سالین بافر فسفات به‌همراه ۵ درصد شیر خشک)، صفحه نیترو سلولز برای ۲۴ ساعت در محلول حاوی آنتی بادی مونوکلونال بر علیه MBP (شرکت Anti-MBP antibody, Abcam) با غلظت ۱:۱۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها برای ۲ ساعت در کمپلکس آویدین-بیوتین (Vector Lab., Peterborough, UK) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها با دی آمینوبنزیدین (Vector Lab., UK)(DAB) رنگ آمیزی شده و برای بررسی غلظت پروتئین‌ها در باندها از نرم افزار Metaview استفاده شد. از β-توبولین نیز به‌عنوان کنترل استفاده شد.

آنالیز آماری

تمام نتایج ارائه شده به‌صورت Mean±SEM محاسبه شد. در تمام آزمایش‌ها تعداد ۱۲ نمونه مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری با استفاده از واریانس (One Way ANOVA) انجام و فقط $p\leq۰/۰۵$ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

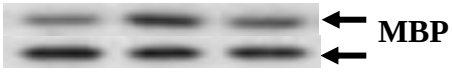
نتایج

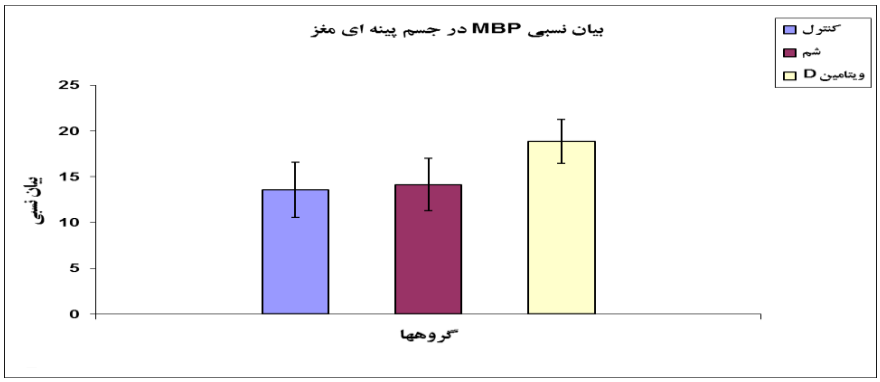
الف: اثر ویتامین D بر غلظت کل پروتئین: غلظت کل پروتئین‌های عصاره جسم پینه‌ای مغز در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D و گروه‌های شم و کنترل اندازه‌گیری شد که به‌ترتیب ۰/۹۱۸ ±۰/۰۰۳، ۰/۹۱۷ ±۰/۰۰۴، و ۰/۹۱۶ ±۰/۰۰۴،گرم در لیتر محاسبه شد. غلظت کل پروتئین‌های عصاره جسم پینه‌ای مغز در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D نسبت به گروه تزریق شده با سرم فیزیولوژی (گروه شم) و گروه کنترل به‌میزان کمی افزایش یافته است. این افزایش معنی‌دار نبوده و سطح احتمال نسبت به گروه شم و گروه کنترل به‌ترتیب P=0.76 و P=0.54 می باشد (شکل ۱). همچنین اختلاف غلظت پروتئین بین دو گروه شم و کنترل معنی‌دار نمی باشد (P=0.78) .



شکل ۱: غلظت کل پروتئین‌های عصاره جسم پینه‌ای در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D ، شم و کنترل. غلظت کل پروتئین‌های عصاره جسم پینه‌ای در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D نسبت به گروه تزریق شده با سالین و گروه کنترل تفاوت معنی‌دار ندارد ($p<0.05$).

ب: اثر ویتامین D بر بیان MBP: بررسی اثر ویتامین D بر بیان MBP در جسم پینه‌ای مغز در موش‌های با MS تجربی و مقایسه آن با دو گروه دیگر (گروه‌های شم و کنترل) نشان داد که میزان بیان MBP در گروه تزریق شده با ویتامین D بیشتر از دو گروه شم و کنترل می‌باشد (شکل ۲). این مقدار برای گروه‌های تزریق شده با ویتامین D، شم و کنترل به‌ترتیب ۳/۴۵ ± ۱۸/۲۸، ۱/۹۱±۱۱ و ۲/۴۲±۱۰/۷۱ می‌باشد. بررسی کمی به کمک نرم افزار Metaview و Image Analyzer نشان داد که میزان بیان نسبی MBP در گروه تزریق شده با ویتامین D بیشتر از آن در گروه کنترل و شم است. این افزایش به‌صورت معنی‌دار است (به‌ترتیب در مقایسه با گروه کنترل و شم $p=0.0003$ و $p=0.0004$ محاسبه شد)(شکل ۲). اختلاف در بیان پروتئینMBP مورد مطالعه بین گروه کنترل و شم معنی‌دار نبوده است ($p=0.81$).





شکل ۲: A) میزان بیان پروتئین MBP در عصاره جسم پینه‌ای موش‌های گروه کنترل (چاهک ۱)، گروه شم (چاهک ۲) و تزریق شده با ویتامین D (چاهک ۳). میزان بیان بتا توبولین (۵۰ کیلو دالتون) به‌عنوان کنترل (loading control) در نظر گرفته شده است. B) بیان نسبی MBP در عصاره جسم پینه‌ای در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D ، شم و گروه کنترل. افزایش بیان نسبیMBP در نمونه‌های تزریق شده با ویتامین D در مقایسه با گروه‌های دیگر مشخص است. شدت سیگنال‌های آزمایش‌ها ایمونوبلاتینگ نمونه‌ها توسط آنالیز های دانسیتومتری تعیین شد.

بحث

مطالعات نشان می دهد که دو عامل محیط و ژنتیک در بیماری MS نقش دارند. درصد فراوانی این بیماری در نقاط مختلف جهان متفاوت است اما شواهد نشان می‌دهند که در شمال اروپا و جنوب استرالیا درصد ابتلا به بیماری شایع تر است و به‌نظر می‌رسد که نور خورشید و ویتامین D در پیشگیری از آن نقش داشته باشد. در این بیماری لنفوسیت‌های T نقش مهمی را در ایجاد التهاب در سیستم عصبی ایفا می‌کنند. لنفوسیت‌هایT فعال از سد خونی-مغزی عبور کرده و با تولید سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها در روند التهاب دخالت می‌کنند (۱۲).

ویتامین‌هایی نظیر D نقش مهمی در تولید میلین دارند و کمبود ویتامین در بدن منجر به اختلال در تولید میلین می‌شود. نقش این ویتامین به‌عنوان تنظیم کننده سیستم ایمنی و نقش آن در بیماری MS بسیار مورد توجه واقع شده است. همچنین دیده شده که در عرض‌های جغرافیایی بالا (دور از استوا) کاهش سطح ۲۵-هیدروکسی ویتامین D در خون افراد با افزایش ریسک وقوع MS در آن‌ها در ارتباط است. افزایش مواجه شدن با نور خورشید و میزان مناسب ویتامین مناسب ویتامین D در بدن در دوران کودکی و نوجوانی با کاهش ریسک ابتلا به MS در ارتباط است. مطالعه‌ای بر روی ۱۹۹ زن مبتلا به MS نشان داد که ریسک نسبی ابتلا به MS ، در نوزادان دختر متولد شده از مادرانی که در طول دوره حاملگی میزان بالایی از شیر و ویتامین D دریافت کرده بودند، بسیار کاهش پیدا کرده بود (۱۳). گیرنده ویتامین D در اکثر مناطق سیستم عصبی مرکزی مشاهده شده است. آنزیم‌های اصلی در مسیر متابولیکی ویتامین D، ۱آلفا-هیدروکسیلاز و ۲۴-هیدروکسیلاز، هم در CNS بیان می‌شوند (۱۴). بنابراین CNS ممکن است که مکانی برای عملکرد، متابولیسم و کاتابولیسم ویتامین D باشد. مجموعه این یافته‌ها نقش ویتامین D را در CNS و بیماری MS و نقش آن در میلین‌سازی نشان می‌دهد. ویتامین D با فعال کردن چندین ژن مرتبط با میلین در میلین سازی نقش دارد (۱۵). همچنین این ویتامین باعث کاهش اثرات تخریبی میلین در بیماری MS می‌شود (۱۶).

وجود میزان مناسب از ویتامین D در بدن احتمالا می‌تواند تولید سایتوکاین‌های التهابی را در سلول‌های T مهار کرده و فعالیت التهابی لنفوسیت‌های T را سرکوب کند و در نهایت منجر به بقای الیگودندروسیت‌ها و تولید دوباره میلین می‌شود.

پوشش میلین از لیپید و پروتئین‌هایی نظیر پروتئین پروتئولیپید (Proteolipid protein)، پروتئین اصلی میلین (Myelin basic protein)، و MOG ساخته شده است. مطالعات متعدد نشان داد که آنتی بادی بر علیه MOG و MBP در ارتباط با بیماری التهابی مغز نظیر MS می‌باشد. این دو پروتئین اهداف اصلی آنتی ژن‌ها در بیماری‌های التهابی مغز می‌باشد (۱۷).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که فاکتورهای رشد و ویتامین‌ها نقش مهمی در بیان پروتیین‌های تشکیل دهنده میلین دارد. نشان داده شد که فاکتور مهار کننده لوکمیا باعث افزایش بیان MOG و MBP در کورتکس مغز موش‌های دمیلینه شده با کاپریزون می‌شود (۱۸، ۱۹). ضمنا این فاکتور باعث افزایش بیان Opalin در کورتکس مغز موش می‌شود (۲۰). در مطاله دیگری نشان داده شد که ترکیب epigallocatechin-3-gallate (EGCG) در چای سبز باعث افزایش بیان پروتئین پروتئولیپید، ماده سازنده میلین، در مغز موش‌های تحت تیمار با کاپریزون شد (۲۱). در یک تحقیق نشان داده شد که ویتامین D با اثر بر گیرنه خود باعث تنظیم فعالیت اولیگودندروسیت‌ها و تولید دوباره میلین می‌شود (۲۲). نشان داده شده است که ویتامین D باعث تنظیم بیان صدها ژن طی مکانیسم های ژنتیکی و اپی ژنتیکی می‌شود (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که ویتامین D باعث افزایش بیان MBP در جسم پینه ای مغز موش‌های دمیلینه القا شده توسط کاپریزون می‌شود. اما ویتامین D باعث تفاوت معنی‌داری در غلظت کل پروتئین در جسم پینه‌ای مغز در مقایسه با گروه کنترل یا شم نشد. این موضوع که چرا در گروه تزریق شده با ویتامین D افزایش بیان MBP باعث افزایش در غلظت کل پروتئین نشده است ممکن است به این دلیل باشد که افزایش غلظت MBP احتمالا با کاهش بیان یک یا چند پروتئین دیگر در جسم پینه ای مغز همراه باشد که در مجموع باعث تغییر در غلظت کل پروتئین نشده است.

لذا نتیجه گیری می‌شود که ویتامین D ممکن است با افزایش بیان MBP در فرایند تولید دوباره میلین در جسم پینه‌ای مغز موش های دمیلینه شده نقش داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از آزمایشگاه زیست شناسی سلولی و تکوینی دانشگاه گیلان و مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی گیلان تشکر می‌شود.

منابع

1. Kurtzke JF. Epidemiology in multiple sclerosis: a pilgrim's progress. Brain. 2013; 136(Pt 9): 2904-17.

2. Rudick RA, Cohen JA, Weinstock-Guttman B, Kinkel RP, et al. Management of multiple sclerosis. N Engl J Med. 1997; 337(22): 1604-11.

3. Dabrowska-Bouta B, Sulkowski G, Struzyńska L, Rafałowska U. CNPase activity in myelin from adult rat brains after prolonged lead exposure in vivo. Chem Biol Interact. 2004; 150(2): 171-8.

4. Gori F, Mulinacci B, Massai L, Avolio C, et al. IgG and IgM antibodies to the refolded MOG(1-125) extracellular domain in humans. J Neuroimmunol. 2011; 233(1-2): 216-20.

5. Reynolds R, Dawson M, Papadopoulos D, Polito A, et al. The response of NG2-expressing oligodendrocyte progenitors to demyelination in MOG-EAE and MS. J Neurocytol. 2002; 31(6-7): 523-36.

6. Xu W, Sachewsky N, Azimi A, Hung M, et al. Myelin Basic Protein Regulates Primitive and Definitive Neural Stem Cell Proliferation from the Adult Spinal Cord. Stem Cells. 2017; 35(2): 485-496.

7. Vassall KA, Bessonov K, De Avila M, Polverini E, et al. The effects of threonine phosphorylation on the stability and dynamics of the central molecular switch region of 18.5-kDa myelin basic protein. PLoS One. 2013; 8(7): e68175.

8. Slavov GS, Trenova AG, Manova MG, Kostadinova II, et al. Vitamin D immunomodulatory potential in multiple sclerosis. Folia Med (Plovdiv). 2013; 55(2): 5-9.

9. Brown J, Bianco JI, McGrath JJ, Eyles DW. 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces nerve growth factor, promotes neurite outgrowth and inhibits mitosis in embryonic rat hippocampal neurons. Neurosci Lett. 2003; 343(2): 139-43.

10. Moore ME, Piazza A, McCartney Y, Lynch MA. Evidence that vitamin D3 reverses age-related inflammatory changes in the rat hippocampus. Biochem Soc Trans. 2005; 33(Pt 4): 573-7.

11. He XJ, Ding Y, Xiang W, Dang XQ. Roles of 1,25(OH)2D3 and Vitamin D Receptor in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus by Regulating the Activation of CD4+ T Cells and the PKCδ/ERK Signaling Pathway. Cell Physiol Biochem. 2016; 40(3-4): 743-756.

12. Bar-Or A. The immunology of multiple sclerosis. Semin Neurol. 2008; 28(1): 29-45.

13. Mirzaei F, Michels KB, Munger K, O'Reilly E, et al. Gestational vitamin D and the risk of multiple sclerosis in offspring. Ann Neurol. 2011; 70(1): 30-40.

14. Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, et al. Extrarenal expression of signaling regulates oligodendrocyte progenitor cell differentiation. J Cell Biol. 2015; 211(5): 975-85. Millet P, Landel V, Virard I, Morello M, et al. Role of vitamin D in the physiopathology of neurodegenerative diseases. Biol Aujourdhui. 2014; 208(1): 77-88.

25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86(2): 888-94.

15. Chabas JF, Stephan D, Marqueste T, Garcia S, et al. Cholecalciferol (vitamin D_3) improves myelination and recovery after nerve injury. PLoS One. 2013; 8(5): e65034.

16. Smolders J, Schuurman KG, van Strien ME, Melief J, et al. Expression of vitamin D receptor and metabolizing enzymes in multiple sclerosis-affected brain tissue. J Neuropathol Exp Neurol. 2013; 72(2): 91-105.

17. Egg R, Reindl M, Deisenhammer F, Linington C, et al. Anti-MOG and anti-MBP antibody subclasses in multiple sclerosis. Mult Scler. 2001; 7(5): 285-9.

18. Mashayekhi F, Faraji M, Mousavi S Z. Effects of Leukemia Inhibitory Factor on Myelin Basic Protein, Olig1 and Olig2 Expression in the Cerebral Cortex of Cuprizone Induced Multiple Sclerosis Mice. J Mazandaran Univ Med Sci. 2012; 22 (87): 65-73.

19. Mashayekhi F, Hadiyan SP, Salehi Z. Administration of leukemia inhibitory factor increases Opalin and myelin oligodendrocyte glycoprotein expression in the cerebral cortex in a cuprizone-induced model of demyelination. Folia Neuropathol. 2015; 53(2): 147-52.

20. Mashayekhi F, Salehi Z, Eslami M, Rajaei F. Administration of Leukemia Inhibitory Factor Increases Opalin Expression in the Cerebral Cortex of Male Balb/C Mice An In Vivo Study. Caspian.J.Neurol.Sci. 2015; 1(2): 1-7.

21. Semnani M, Mashayekhi F, Azarnia M, Salehi Z. Effects of Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) On Proteolipid Protein (PLP) and Oligodendrocyte Transcription Factor 1 (Olig1) Expression in the Cerebral Cortex of Cuprizone Induced Multiple Sclerosis Mice; A Western Blot Study . Caspian. J. Neurol. Sci. 2016; 2 (6) :1-9.

22. de la Fuente AG, Errea O, van Wijngaarden P, Gonzalez GA, et al. Vitamin D receptor-retinoid X receptor heterodimer

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Winter 2018; 8(4)

Original Article

Effects of vitamin D on myelin basic protein expression in corpus callosum of mouse model of experimental autoimmune encephalomyelitis induced by Cuprizone

Mashayekhi F, Ph.D[1]*, Salehi Z, MD/Ph.D.[2], Mirzajani E, Ph.D[2]

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

* Email corresponding author: umistbiology20@gmail.com

Received: 14 May. 2017 Accepted: 27 May. 2018

Abstract

Aims: In this study, the effects of Vitamin D3 on total protein concentration (TPC) and MBP expression in the corpus callosum extracts of Cuprizone induced demyelinated mouse has been investigated.

Material and Methods: The mice were treated by Cuprizone for five weeks in order to induce demyelination. Then, the mice were divided into 3 groups. The first group was injected intraperitoneally (IP) by vitamin D3 in the amount of 5 µg/kg/daily body weight. The second group (SHAM) was injected IP by phosphate buffered saline (PBS) and the third group was left without injection as controls. After five weeks, the mice were killed and the corpus callosum was collected and the total protein concentration (TPC) and expression of MBP were studied by Western blot technique.

Results: No significant variation in the cortical TPC was seen in vitamin D3 injected group as compared to either SHAM or controls. We have also shown that the expression of MBP in the corpus callosum extracts of demyelinated mouse was significantly increased in the vitamin D3 injected group as compared to the other groups.

Conclusions: It is concluded that vitamin D3 increases MBP expression in the corpus callosum of cuprizone-induced demyelination mice. It is also suggested that vitamin D3 may play a role in the process of remyelination by increasing MBP expression in the cortex.

Key Words: Vitamin D, Myelination, Corpus callosum, Myelin basic protein, Cuprizone