مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره هشت، آبان ۱۳۹۷
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۲

اثر پیش درمان تزریق مکمل ویتامین D بر سطح کلوتو در مغز رت‌های ماده نژاد لوئیز مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی

سیده فاطمه فاطمی[۱]، ضیاء فلاح‌محمدی*[۲]، وحید طالبی[۳]، سید مجتبی حسینی[۴]

مقاله پژوهشی

مقدمه: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر پیش گیرانه یک دوره مصرف ویتامین D بر سطح کلوتو در مغز رت‌های ماده مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی بود.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی تجربی، ۲۵رت‌های ماده نژاد لوئیز، بعد از ۲ هفته آشنایی با محیط جدید، به ۵ گروه: ۱- کنترل سالم، ۲-کنترل اماس، ۳- حلال، ۴- مکمل سالم، ۵- مکمل اماس، تقسیم شدند. گروه مکمل به مدت ۲ هفته، ۲ نانوگرم ویتامین D در۰/۲ میلی‌لیتر روغن کنجد، یک روز در میان به صورت درون صفاقی دریافت کردند. به منظور القاء EAE، به هر حیوان میزان ۰/۴ میلی لیتر از محلول ترکیبی نخاع خوکچه هندی و ادجوانت به نسبت برابر، تزریق شد. تجزیه و تحلیل داده‌های سطح کلوتو با استفاده از آزمون one way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey و برای بررسی تغییرات وزن گروه‌های تحقیق از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد. سطح کلوتو به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

نتایج: بین سطح کلوتو بافت مغز گروه کنترل اماس در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت معناداری وجود داشت (P=۰/۰۰۰۱). سطح کلوتو بافت مغز گروه مکمل اماس در مقایسه با گروه کنترل ام اس افزایش معناداری نشان داد (P=۰/۰۰۰۱). هم چنین وزن گروه ویتامین D مبتلا به EAE بیشتر از گروه کنترل ام اس بود (P=۰/۰۰۶).

نتیجه‌گیری: پیش‌درمان با استفاده از مکمل ویتامین D توانست باعث افزایش سطح کلوتو بافت مغز شود واحتمالامی‌تواند نقش محافظتی روی سطح کلوتو بافت مغز در برابر EAE داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ویتامینD، کلوتو، آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی

ارجاع : فاطمی سیده فاطمه، فلاح محمدی ضیاء، طالبی وحید، حسینی سید مجتبی. **اثر پیش درمان تزریق مکمل ویتامین D بر سطح کلوتو در مغز رت‌های ماده نژاد لوئیز مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۸): ۷۰-۶۶۲

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
۲- دانشیار، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
۳- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
۴- دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۱۱۱۲۷۶۳۳، پست الکترونیکی: zia-falm@umz.ac.ir، کد پستی: ۴۷۴۱۶۹۵۴۴۷

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (multiple sclerosis *MS*) یک بیماری خود ایمنی، التهابی ومزمن در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. شایع ترین زمان بروز این بیماری بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی می باشد و در جمعیت کلی، زنان، ۲ برابر مردان به این بیماری دچار می‌شوند (۱).

علت اصلی اماس هنوز ناشناخته است با این وجود از دلایل اصلی دمیلینه شدن در سیستم عصبی مرکزی می‌توان به عوامل ژنتیکی، محیطی و فاکتورهای ایمنی اشاره کرد. مرگ سلولی نورون‌های آپوپتوز شده، باعث تحریک دمیلیناسیون در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۲) .اماس با اثر سلول‌های ایمنی خودکار بر سیستم عصبی مرکزی مشخص می‌شود که در پی آن، منجر به التهاب، دمیلینه شدن و تخریب آکسونی می‌شود (۳). استرس‌های اکسایشی نقش مهمی در پاتوژنز این بیماری دارند و بیان بیومارکرهای استرس اکسایشی مختلف در مغز، به طور گسترده باعث تخریب الیگودندروسیت‌ها و نورون‌ها و در نهایت آپوپتوز سلول‌های عصبی و آسیب‌های پروتئینی و لیپیدی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۴).

به دلیل کاهش معنی‌دار در کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرمی بیماران مبتلا به اماس و به دلیل اهمیتی که استرس های اکسایشی در گسترش این بیماری دارند، شناخت فاکتورهایی که نقش محافظتی در برابر آسیب‌های نورونی ناشی از مسیرهای اکسایشی و دمیلینه شدن دارند، نیز مهم است (۵). پروتئین کلوتو از جمله این عوامل می‌باشد که نقش مهمی در محافظت نورون‌ها در برابر آسیب‌های اکسایشی از طریق مکانیزم‌های گوناگون ایفا می‌کند؛ بدین صورت که می‌تواند از طریق فعال کردن مسیرهای مختلف باعث گسترش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح رادیکال‌های آزاد شود. از سوی دیگر، نتایج بسیاری از مطالعات در مدل‌های حیوانی نشان می دهد که کلوتو نقش مهمی در میلین‌سازی ایفا می‌کند (۶). با توجه به اینکه اماس یک بیماری التهابی سیستم عصبی مرکزی می‌باشد و عدم تعادل در T-helper 1 (Th1) /T-helper 2 (Th2) در این بیماری دیده شده است، کلوتو می‌تواند از طریق کاهش میزان التهاب، نقش موثری در بهبود و جلوگیری از گسترش این بیماری ایفا کند (۷).کاهش سطح ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله رتینول، آسکوربیک اسید، و ویتامینD با افزایش بار اکسایشی مرتبط است. به همین دلیل مصرف این مواد به دلیل نقش آنتی اکسیدانی و تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی، بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۸).

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد در مناطقی که در معرض بیشتر نور خورشید هستند، به دلیل نقش مهمی که اشعه ماوراء بنفش در تولید ویتامین D_3 دارد شیوع اماس کمتر است. هم چنین در جوامعی که غذاهای سرشار از ویتامین D مصرف می کنند شیوع و شدت بیماری کمتر می باشد. این مطالعات نشان از ارتباط ویتامین D با این بیماری دارد (۹). مطالعات تجربی بر روی مدل حیوانی این بیماری (آنسفالومیلیت خودایمن تجربی) نیز نشان می دهد که تجویز ویتامین D_3 در جلوگیری از EAE experimental autoimmune ensephalomyelitis موثر است (۱۰). با آن که مسیرهای سیگنالی مختلفی برای تاثیر حفاظتی ویتامین دی مطرح شده اند با این حال هنوز سوالات بی پاسخی باقی مانده اند. از جمله مسیرهای سیگنالی محافظت سلولی کلوتو می باشد که نقش حفاظت نرونی آن مطرح شده است. سوالی که در این جا مطرح می شود این است که آیا ویتامین دی از طریق افزایش سطح کلوتو از نرون های دستگاه عصبی مرکزی در برابر عوامل تولید کننده بیماری ام اس محافظت می کند؟ بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر پیش درمان یک دوره مصرف ویتامین D بر سطح کلوتو بافت مغز رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (*EAE*) بود.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی تجربی ۲۵ سر موش ۴ هفته‌ای ماده نژاد لوئیز با میانگین وزنی ۱/۶۰±۱۱۱/۳ گرم از شرکت داروپخش تهران تهیه شدند. بعد از دو هفته نگهداری موش‌ها در آزمایشگاه جوندگان به منظور سازگاری با محیط تقسیم شدند. ۱) گروه حلال: گروهی که تنها روغن کنجد را به صورت درون صفاقی به عنوان حلال دریافت کردند؛ ۲) گروه کنترل

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

سالم که هیچ تیماری را دریافت نکردند و برای تعیین مقادیر پایه در نظر گرفته شدند؛ ۳) گروه کنترل بیمار: گروهی که EAE به آن القاء شد ۴) گروهی که در طول آزمایش تنها ویتامین D دریافت کردند ۵)گروهی که ابتدا ویتامین D دریافت کردند و سپسEAE به آن القاء شد .کلیه گروه‌ها به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. جهت تطابق با محیط جدید، حیوانات به صورت گروه‌هایی پنج تایی در قفس پلی کربنات شفاف در محیطی با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۵۵-۴۵ درصد نگهداری شدند.

ویتامین D_3 از شرکت دارویی کایمن (آلمان) تهیه شد. مقدار ۲ نانوگرم ویتامین D در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن کنجد حل شده و به مدت دو هفته، یک روز در میان با سرنگ انسولینی به صورت درون صفاقی به هر حیوان تزریق شد. به منظور جلوگیری از عفونت ، محل تزریق قبل و بعد از تزریق به وسیله پنبه‌ای آغشته به الکل ضد عفونی شد. انتخاب دوز تزریقی ویتامین در این مطالعه براساس مطالعات مشابه ای بود که از این ویتامین جهت پیشگیری و حفاظت عصبی در برابر آثار سم عصبی القاءکننده بیماری MS در مدل‌های حیوانی استفاده شده است (۱۱).

القاء *EAE* و علائم بالینی

به منظور القاء EAE در حیوانات از مخلوطی از نخاع خوکچه هندی و ادجوانت استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۵ سر خوکچه هندی از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و پس از بیهوشی به وسیله کتامین، نخاع آن برای انجام مراحل بعدی آزمایش خارج شد. پس از منتقل کردن نخاع به داخل میکروتیوب، و فریز کردن بافت در داخل ازت (نیتروژن مایع) نخاع فریز شده درحالی که در مایع شناور بود، کوبیده شد. بافت کوبیده شده و ادجوانت خریداری شده از شرکت سیگما با نسبت ۱ به ۱ داخل فالکون ریخته شد و در دستگاه شیکر قرار گرفت تا به طور کامل مخلوط شود. بعد از بیهوش کردن موش-ها به وسیله مخلوطی از کتامین زایلازین، به هر حیوان مقدار ۰/۴ml از محلول حاصل، در پایه دم حیوان، تزریق شد. مدل EAE در ابتدای هفته هفتم تمرینات القاء شد. مقیاس ارزیابی شدت بیماری شامل؛ ۰- عدم بروز بیماری، ۱- فلج شدن دم، ۲- اختلال در راه رفتن، ۳- فلج پاهای عقبی، ۴- فلجی چهاردست و پا و ۵- مرگ بود (۱۲).

بافت‌برداری

بافت‌برداری بلافاصله بعد از بروز علائم صورت گرفت. ابتدا، موش ها با ترکیب کتامین زایلازین به نسبت ۵ به ۳ بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن کامل حیوان، بافت مغز برای انجام مراحل بعدی آزمایش برداشته شد. بافت ها برای اندازه‌گیری میزان شاخص‌های مورد نظر در یخچال با دمای کمتر از ۷۰- درجه نگهداری شدند. بعد از هموژنیز و سانتریفیوژ کردن میزان غلظت *klotho* گروه‌ها با استفاده از روش ELISA و به وسیله کیت آزمایشگاهی شرکت Zellbio GmbH(Germany) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بررسی تفاوت‌های موجود در سطح کلوتو بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. هم چنین آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها به کار رفت. علاوه بر این، بررسی نرمال بودن توسط آزمون کولموگروف اسمیرنف انجام گرفت. برای بررسی میانگین وزن گروه‌های مختلف تحقیق از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی استفاده شد. در این بررسی‌ها، سطح معناداری کوچک‌تر و مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری به وسیله نرم‌افزار spss نسخه ۱۹ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه مازندران تایید شده است (کد اخلاقIR.UMZ.REC.097003).

نتایج

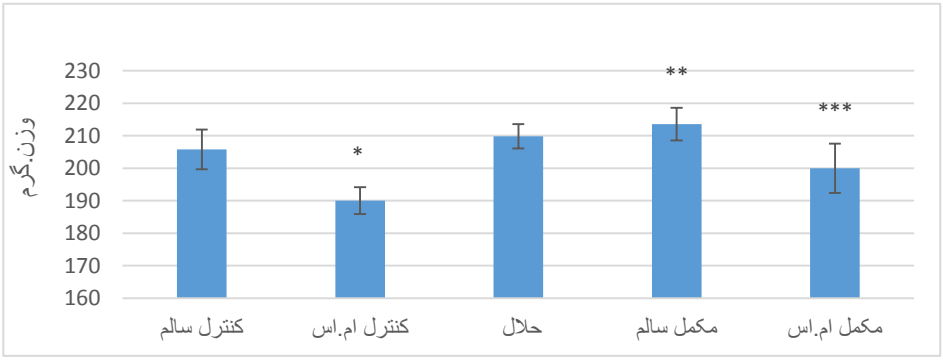
با بررسی تغییرات وزن گروه‌های مختلف تحقیق، مشخص شد که میانگین وزن گروه کنترل اماس نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معنی داری داشت (P=۰/۰۰۶). به عبارت دیگر القای *EAE* موجب کاهش معنی دار وزن آزمودنی ها شد. از طرف دیگر، میانگین وزن گروه ویتامین D اماس با گروه کنترل

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

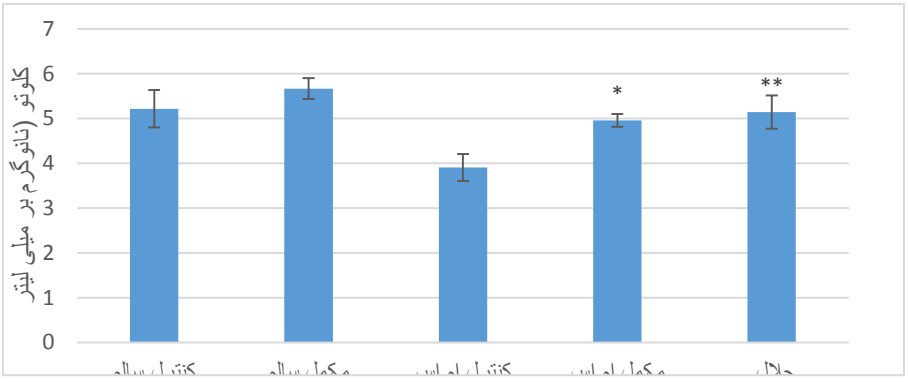
ام اس نیز تفاوت معنادار (P=۰/۰۲) داشت، که نشان دهنده تاثیر افزایشی ویتامین دی روی مقادیر وزن گروه مصرف کننده مکمل بود.

هم چنین بین گروه کنترل سالم و ویتامین D سالم تفاوت معنادار (P=۰/۰۵) وجود داشت. از سوی دیگر بین گروه کنترل سالم و ویتامین D اماس تفاوت معنادار مشاهده نشد (P≥۰/۰۵) (نمودار۱). نتیجه حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که سطح کلوتو در بافت مغز موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (*EAE*) در گروه کنترل اماس نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معنی‌داری دارد (P=۰/۰۰۱). این نتایج نشان دهنده این مطلب می‌باشد که احتمالاً القاء مدل تجربی اماس تاثیر کاهشی معنی‌داری بر مقدار کلوتو دارد. از سوی دیگر، سطح کلوتو بافت مغز موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی در گروه مکمل اماس در مقایسه با گروه کنترل اماس افزایش معنی داری داشت (P=۰/۰۰۱)(نمودار۲).



نمودار۱:.میانگین وزن گروه‌های مختلف تحقیق

*تفاوت معنادار با کنترل سالم، مکمل سالم



نمودار۲: میانگین سطح کلوتو گروه‌های مختلف تحقیق

*تفاوت معنادار با گروه کنترل اماس و مکمل سالم **تفاوت معنادار با گروه کنترل اماس

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر حفاظتی ۲ هفته مصرف ویتامین D بر سطح کلوتو مغز موش‌های صحرایی مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین وزن گروه کنترل اماس به طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم کمتر بود. از سوی دیگر، مقایسه میانگین وزن گروه مکمل اماس با کنترل سالم و کنترل اماس، نشان داد که تزریق ویتامین D باعث جلوگیری از کاهش وزن ناشی از القاء *EAE* شد. هم چنین نتیجه دیگر مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار سطح کلوتو در گروه مکمل اماس نسبت به گروه کنترل اماس ناشی از تزریق ویتامین D بود. به عبارت دیگر، تیمار ویتامین D نقش محافظتی در برابر سم *EAE* داشته و از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

کاهش سطح این پروتئین جلوگیری کرد. مطالعات مختلف نیز نشان می دهد که مصرف فرم فعال ویتامین D از پیشرفت *EAE* جلوگیری می کند. هم چنین نقص یا کمبود ویتامین D حساسیت موش ها را به بیماری افزایش می‌دهد (۱۳،۱۴).

1,25D باعث تحریک بیان *mRNA* کلوتو می‌شود و این نشان می‌دهد که 1,25D قادر به تقویت پاسخ *FGF23* Fibroblast growth factor 23 و افزایش ترشح کلوتو است (۱۵)؛ کلوتو به عنوان عامل موثر در افزایش مقاومت سلول‌ها، باعث فعال شدن *FOXO* Forkhead box و افزایش بیان سوپراکسیددیسموتاز، و در نتیجه تسهیل حذف گونه‌های فعال و افزایش مقاومت به استرس اکسیداتیو و کاهش عوامل القاء کننده اختلال در عملکرد مانند آپوپتوز سلولی ناشی از استرس‌های اکسیداتیو می‌شود (۱۶،۱۷). از سوی دیگر کلوتو نقش مهمی در کاهش میزان التهاب دارد (۱۸). مکانیسم های متعددی در خصوص تأثیر ویتامین D_3 در جلوگیری یا مهار *EAE* و *MS* ذکر شده اند (۱۹). یافته‌ها نشان می‌دهد که ویتامین D_3 در تعدیل پاسخ‌های ایمنی نقش دارد (۲۱،۲۰)؛ بدین صورت که ممکن است با مهار تولید سیتوکاین های التهابی موجب کاهش فراخوانی سلولی به محل التهاب و سایتوکاین‌هایی نظیر *IFN-γ* شود که از این طریق باعث کاهش تکثیر سلولی در محل التهاب می‌شود (۲۲).

مطالعات نشان از دخالت پاسخ‌های ایمنی سلولی نوع *TH1* در پاتوژنز بیماری مولتیپل‌اسکلروزیس و *EAE* دارد (۲۲،۲۳). کمبود ویتامین D در سیستم ایمنی موجب کاهش سطح *TH2* نسبت به سایر سلول‌های دخیل در مسیر التهاب مانند *TH1* می‌گردد. این امر در *MS* موجب آسیب بیشتر به میلین اطراف سیستم عصبی مرکزی می‌شود. 1,25(OH)2D3 فعال، باعث افزایش سایتوکین‌های *TH2* و از طرف دیگر، مانع سنتز سیتوکین‌های *TH1* می‌شوند (۲۴). و از طریق القاء آپوپتوز (مرگ برنامه ریزی شده) در سلول‌های التهابی از پیشرفت بیماری EAE جلوگیری می‌کند (۲۵). استرس‌های اکسایشی نقش مهمی در گسترش این بیماری ایفا می‌کنند. در سیستم عصبی مرکزی، نیتریک اکساید سنتاز باعث تولید نیتریک-اکساید، در پاسخ به التهاب می‌شود. سطوح بالایی از نیتریک-اکساید در مونوسیت، هم چنین میزان زیاد نیتریت و نیترات در مایع مغزی‌نخاعی بیماران مبتلا به اماس وجود دارد. بنابراین مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند نقش مهمی در کاهش آسیب و کمک به بقای بافت عصبی شود چرا که می‌تواند باعث کاهش سطح رادیکال‌های آزاد و در نتیجه مهار پیشرفت بیماری شود (۲۶). از سوی دیگر، 1,25(OH)2D3 باعث افزایش آنتی-اکسیدان‌ها در نورون‌ها می شود (۲۷). ویتامین D_3 با مهار *mRNA* نیتریک اکساید سنتتاز و با مهار سیتوکاین‌های پیش التهابی به طور معنی داری تولید نیتریک اکساید (شاخص استرس اکسایشی) را کاهش می دهد (۲۸). از آن جا که نیتریک اکساید سنتاز در سرکوب رونویسی ژن کلوتو نقش دارد (۲۹)، با توجه به افزایش سطح کلوتو در پژوهش حاضر، می-توان این احتمال را مطرح نمود که ویتامین D از طریق مهار بیان نیتریک اکساید سنتاز، باعث افزایش سطح کلوتو می‌شود.

نتیجه گیری

به طور خلاصه تحقیق کنونی اولین پژوهشی است که تاثیر مصرف ویتامین D را بر سطح کلوتو بافت مغز رت‌های مبتلا به آنسفالومیلیت خودایمن تجربی مورد بررسی قرار داده است و نتایج نشان دهنده افزایش پروتئین در آزمودنی‌های گروه مکمل در مقایسه با گروه کنترل اماس می‌باشد. به عبارت دیگر ویتامین D سطح کلوتو را تنظیم افزایشی کرده است. از سوی دیگر نتایج حاصل از داده‌های وزنی گروه‌های تحقیق، نشان دهنده افزایش معنادار وزن گروه مکمل در مقایسه با گروه کنترل بود و این احتمال را می‌توان مطرح نمود که ویتامین D احتمالا باعث جلوگیری و پیشگیری از بروز *EAE* می‌شود.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل پایان نامه و تلاش نویسندگان این تحقیق می باشد که در دانشگاه مازندران انجام شده است.از تمامی افرادی که این پژوهش ما را یاری کردند تشکر می شود. درضمن تمامی منابع مالی توسط محققین پژوهش تامین شده است.

تعارض منافع: وجود ندارد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

References:

1-Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. ***Immunopathology of multiple sclerosis***. Nature Reviews Immunology 2015; 15: 545-58.

2-Jin JJ, Ko IG, Kim SE, Shin MS, Kim SH, Jee YS. ***Swimming exercise ameliorates multiple sclerosis-induced impairment of short-term memory by suppressing apoptosis in the hippocampus of rats.*** J Exer Rehabil 2014; 10(2): 69-74.

3-Steinman L. ***Multiple sclerosis: a coordinated immunological attack against myelin in the central nervous system***. Cell 1996; 85(3): 299-302.

4-Tasset I, Agüera E, Sánchez-López F, Feijóo M, Giraldo AI, Cruz AH, et al. ***Peripheral oxidative stress in relapsing–remitting multiple sclerosis.*** Clin Biochem 2012; 45(6): 440-4.

5-Aleagha MSE, Siroos B, Ahmadi M, Balood M, Palangi A, Haghighi AN, et al. ***Decreased concentration of Klotho in the cerebrospinal fluid of patients with relapsing–remitting multiple sclerosis.*** J Neuroimmunology 2015; 281: 5-8.

6-Zeldich E, Chen C-D, Colvin TA, Bove-Fenderson EA, Liang J, Zhou TBT, et al. ***The neuroprotective effect of Klotho is mediated via regulation of members of the redox system.*** J Biological Chem 2014; 289(35): 24700-15.

7-Teocchi MA, Ferreira AÉD, de Oliveira EPdL, Tedeschi H, D'Souza-Li L. ***Hippocampal gene expression dysregulation of Klotho, nuclear factor kappa B and tumor necrosis factor in temporal lobe epilepsy patients.*** J Neuroinflammation 2013; 1;(10):53.

8-Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. ***The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy.*** J Neurol 2004; 251(3): 261-8.

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

10- Van Etten E, Branisteanu D, 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; 32(4): 397-404.

11- Sherlin DG, Verma R. ***Vitamin D ameliorates fluoride-induced embryotoxicity in pregnant rats.*** Neurotoxicology teratology 2001; 23(2): 197-201.

12- Pazhoohan S, Satarian L, Asghari A-A, Salimi M, Kiani S, Mani A-R, et al. ***Valproic Acid attenuates disease symptoms and increases endogenous myelin repair by recruiting neural stem cells and oligodendrocyte progenitors in experimental autoimmune encephalomyelitis.*** Neurodegenerative Dis 2013; 13(1): 45-52.

13- Cantorna MT. ***Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence?*** Proceedings of the society for Experimental Biology Med 2000; 223(3): 230-3.

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

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

15- Forster RE, Jurutka PW, Hsieh J-C, Haussler CA, Lowmiller CL, Kaneko I, et al. ***Vitamin D receptor controls expression of the anti-aging klotho gene in mouse and human renal cells.*** Biochem Biophys Res Commun 2011; 414(3): 557-62.

16- Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Gurnani P, Nandi A, Kurosu H, et al. ***Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho.*** J Bio Chem 2005; 280(45): 38029-34.

17- Kokkinaki M, Abu-Asab M, Gunawardena N, Ahern G, Javidnia M, Young J, et al. ***Klotho regulates retinal pigment epithelial functions and protects against oxidative stress.*** The J Neurosci 2013; 33(41):16346-59.

18- Kuwahara N, Sasaki S, Kobara M, Nakata T, Tatsumi T, Irie H, et al. ***HMG-CoA reductase inhibition improves anti-aging klotho protein expression and arteriosclerosis in rats with chronic inhibition of nitric oxide synthesis.*** Int J Cardiol 2008; 123(2): 84-90.

19- Mana P, Linares D, Fordham S, Staykova M, Willenborg D. ***Deleterious role of IFNγ in a toxic model of central nervous system demyelination.*** Am J pathol 2006;168(5): 1464-73.

20- Imazeki I, Matsuzaki J, Tsuji K, Nishimura T. ***Immunomodulating effect of vitamin D3 derivatives on type-1 cellular immunity.*** Biomed Res 2006; 27(1): 1-9.

21- Lemire J. ***1, 25-Dihydroxyvitamin D3–a hormone with immunomodulatory properties.*** Zeitschrift für Rheumatologie 2000; 59(1): I24-I7.

22- Mattner F, Smiroldo S, Galbiati F, Muller M, Di Lucia P, Poliani PL, et al ***Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1, 25-dihydroxyvitamin D3.*** Eur J immunol 2000; 30(2): 498-508.

23- Mosayebi G, Ghazavi A, Payani MA. ***Effect Of Sesame Oil On The Production Of Ifn-Gamma And Il-10 From Th1 And Th2 Cells In C57bl/6 Mice With Experimental Autoimmune Medical journal of Tabriz University of Medical sciences*** 2007; 29(3).

24- Cantorna Mt. ***Vitamin D Multiple Sclerosis And Inflammatory Bowel Disease.*** Archives of Biochemistry Biophysics 2012; 523(1): 103-6.

25- Gill D, Tan PH. ***Induction of pathogenic cytotoxic T lymphocyte tolerance by dendritic cells: a novel therapeutic target***. Expert Opin Ther Targets 2010; 14(8): 797-824.

26- Binyamin O, Larush L, Frid K, Keller G, Friedman-Levi Y, Ovadia H, et al. ***Treatment of a multiple sclerosis animal model by a novel nanodrop formulation of a natural antioxidant.*** Int J Nanomedicine 2015; 10: 7165-74.

27- Kesby JP, Eyles DW, Burne TH, McGrath JJ. ***The effects of vitamin D on brain development and adult brain function.*** Mol Cell endocrinol 2011; 347(1): 121-7.

28- Chang JM, Kuo MC, Kuo HT, Hwang SJ, Tsai JC, Chen H-C, et al. ***1-α, 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.

29-Moreno JA, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Suárez-Alvarez B, Lopez-Larrea C, Jakubowski

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

A, et al. ***The inflammatory cytokines TWEAK and TNFα reduce renal klotho expression through NFκB.*** J Am Soc Nephrol 2011; 22(7): 1315-25

.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 8 | Nov 2018

Received: 10 Apr 2017
Accepted: 23 Jun 2018

Preventive effect of injections of vitamin D on the levels of Klotho in the brain tissue of female lewis rats with experimental autoimmune ensephalomyelitis

Seyedeh Fatemeh Fatemi[1], Ziya Fallah Mohammadi[*2], Vahid Talebi[3], Sayed Mojtaba Hosseini[4]

Original Article

Introdution: The aim of this study was to investigate the effect of vitamin D supplementation on Klotho levels of the brain tissue.

Methods: In this laboratory experimental study, 25 female Lewis rats, after 2 weeks adaptation to lab environmental, were randomly divided into 5 groups: 1-control; 2- control+ EAE; 3-sham; 4-vitamin D; 5-vitaminD + EAE.

Results: The data were analyzed using one way ANOVA, and to examine the weight changes Mann-Whitney test was used to the research groups. In order to induce EAE, 0.4 ml of solution, a combination of guinea Hindi pig spinal cord and adjuvant ratio was injected to each animal. Klotho levels were measured by ELISA.

Finding: There was significantly different in Klotho levels of brain tissue of control+ EAE compared to control group (P=0/001). There was significant difference in Klotho levels of the brain tissue in EAE +vitamin D group compared to control group (P=0/001). In addition, the weight of vitamin D+EAE group was more than control+EAE group (P=0/006).

Conclusion: Pre-treatment with vitamin D supplementation increases the Klotho levels of brain tissue and may have protective role against EAE.

Keywords: Experimental autoimmune encephalomyelitis, Vitamin D, Klotho.

Citation: Fatemi SF, Fallah Mohammadi Z, Talebi V, Hosseini SM. **Preventive effect of injections of vitamin D on the levels of Klotho in the brain tissue of female lewis rats with experimental autoimmune ensephalomyelitis.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(8): 662-70.

[1]Departmnt of Excersice Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[2]Departmnt of Excersice Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran,
[3]Departmnt of Excersice Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
[4]Departmnt of Excersice Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
***Corresponding author: Tel:** 09111127633, **email:** zia-falm@umz.ac.i

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i8.238]