

## بررسی اثر ویتامین E در مهار بیماری آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی در موش نژاد C57BL/6

دکتر قاسم مسیبه<sup>۱\*</sup>، علی قضاوی<sup>۲</sup>، محمود رضا خزاعی<sup>۳</sup>، محمد علی پایانی<sup>۴</sup>

۱- استادیار، گروه میکروبی شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

۲- مربی، گروه میکروبی شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

۳- کارشناس آزمایشگاه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

۴- کارشناس آزمایشگاه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

تاریخ دریافت ۸۴/۱۰/۲۰، تاریخ پذیرش ۸۴/۱۲/۱۷

### چکیده

**مقدمه:** پراکسیداسیون مولکول‌های بیولوژیک از جمله لیپیدها با واسطه رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز بیماری مولتیپل اسکلروزیس و آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE)، مدل حیوانی مولتیپل اسکلروزیس، مؤثر است. ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان ممکن است با کاهش عوامل اکسیدان از جمله نیتریک اکساید در مهار بیماری مؤثر باشد. در این مطالعه اثر ویتامین E بر روی روند بیماری EAE و میزان نیتریک اکساید و اسید اوریک مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی موش‌های نژاد C57BL/6 در دو گروه درمانی (هر گروه ۸ سر) با شرایط سنی و وزنی مشابه قرار گرفتند. (۱) موش‌های مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین E، که ۱۰ میلی گرم بر حسب وزن ویتامین E هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی از سه روز قبل تا ۱۹ روز پس از ایجاد بیماری دریافت کردند (۲) موش‌های مبتلا به EAE درمان نشده که تنها حلال ویتامین را با همان جدول زمانی دریافت نمودند. همچنین ۵ سر موش نژاد C57BL/6 با شرایط سنی و وزنی مشابه به عنوان گروه سالم در نظر گرفته شد. شدت بیماری، میزان اسید اوریک و نیتریک اکساید در گروه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج نشان داد که شدت علائم کلینیکی در موش‌های تحت درمان با ویتامین E ( $4 \pm 0/8$ ) در مقایسه با گروه درمان نشده ( $5/3 \pm 0/44$ ) به طور معنی‌داری کمتر می‌باشد ( $p < 0/01$ ). همچنین بین روز شروع حمله بیماری در گروه تحت درمان با ویتامین E و درمان نشده (به ترتیب روز  $13 \pm 1$  و روز  $11 \pm 1$  پس از القا بیماری) اختلاف وجود داشت که البته معنی‌دار نبود. غلظت اسید اوریک در موش‌های تحت درمان با ویتامین E در مقایسه با گروه درمان نشده به طور معنی‌داری کمتر بود ( $p < 0/001$ ). تفاوتی در میزان نیتریک اکساید در بین دو گروه مشاهده نشد.

**نتیجه گیری:** ویتامین E تأثیری بر میزان نیتریک اکساید ندارد اما موجب کاهش سطح اسید اوریک می‌گردد. به نظر می‌رسد که ویتامین E از طریق افزایش مصرف اسید اوریک می‌تواند سبب تأخیر شدت شروع بیماری و کاهش شدت بیماری شود.

**واژگان کلیدی:** مولتیپل اسکلروزیس، آنسفالومیلیت خودایمن تجربی، ویتامین E، نیتریک اکساید، اسید اوریک، موش نژاد C57BL/6

## مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس بیماری خود ایمن مزمنی است که منجر به تخریب میلین و اختلال در سیستم عصبی مرکزی می شود (۱، ۲). مطالعات اخیر نشان می دهد که در این بیماران به دلیل اختلال در سیستم های آنتی اکسیدان، تولید رادیکال های آزاد از جمله تولید نیتریک اکساید افزایش می یابد (۳). این عوامل با ایجاد ضایعات سلولی از طریق اکسیداسیون اجزاء مهم سلولی مثل لیپیدها، پروتئین ها و DNA در پاتوژنز بیماری دخالت دارند (۴، ۵). استفاده از عوامل آنتی اکسیدان که به صورت فیزیولوژیک نیز در بدن به منظور پاک سازی رادیکال های آزاد ایجاد می شود ممکن است بتواند سبب تعدیل شدت بیماری گردد. از طرفی مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می دهد که در افراد مبتلا به نقرس خطر ابتلا به MS کمتر می باشد. بالا بودن میزان اسید اوریک در این بیماران ممکن است در جلوگیری از ابتلا به MS مؤثر باشد. اسید اوریک به عنوان یک عامل پاک سازی کننده رادیکال های آزاد عمل می کند. مطالعات تجربی نیز نشان می دهد که تجویز اسید اوریک یا مشتقات آن در مهار بیماری EAE مؤثر است. در هر صورت استفاده از عوامل آنتی اکسیدان ممکن است باعث مهار یا کاهش شدت بیماری گردد (۶).

نقش ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان به اثبات رسیده است ولی تأثیر آن در درمان بیماری مولتیپل اسکلروزیس مشخص نیست. مطالعات محدود انجام شده بر روی مدل حیوانی این بیماری (آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی) نیز نتایج کاملاً متناقضی را نشان می دهند (۷، ۸).

در این مطالعه به منظور بررسی اثر ویتامین E

در روند بیماری و تأثیر آن بر میزان تولید نیتریک اکساید و اسید اوریک از مدل حیوانی بیماری مولتیپل

اسکلروزیس یعنی آنسفالومیلیت اتوایمون تجربی (EAE)<sup>۱</sup>، استفاده شده است (۹).

## روش کار

این مطالعه از نوع تجربی است که به صورت مورد-شاهدی بر روی موش های نر خالص نژاد C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته انجام شده است.

مقدار ۲۰۰ میکروگرم پپتید MOG35-55<sup>۲</sup> 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 درصد (شرکت فارما<sup>۳</sup>، روسیه)، در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین و ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند (سیگما<sup>۴</sup>)، مخلوط و به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت به هر موش C57BL/6 تزریق گردید. پپتید مذکور خاصیت آنسفالیتوژنیک داشته و باعث تحریک پاسخ ایمنی بر علیه پروتئین های دارای سکانس مشابه در مغز می گردد. مقدار ۴۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه (سیگما) در حجم ۴۰۰-۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات در مرحله صفر و ۴۸ ساعت بعد از ایمونیزاسیون به صورت داخل صفاقی تجویز شد. این سم باعث افزایش نفوذپذیری سد خونی مغزی می شود (۹). جهت گروه کنترل نیز مراحل فوق اعمال شد با این تفاوت که به آنها پپتید MOG35-55 تجویز نشد. روند بیماری و تغییرات وزن موش ها روزانه مورد بررسی قرار گرفت و شدت بیماری از صفر (عدم ابتلا به بیماری)، یک (اختلال در حرکت دم)، دو (فلج شدن دم)، سه (اختلال در راه رفتن)، چهار (فلجی یک

<sup>1</sup> - Experimental Autoimmune Encephalomyelitis.

<sup>2</sup> - Myelin oligodendrocyte glycoprotein.

<sup>3</sup> - Pharma.

<sup>4</sup> - Sigma.

غلظت‌های استاندارد جهت رسم منحنی استاندارد) تهیه گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه سرمی به صورت دوتایی در پلیت مخصوص ریخته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سولفانیل آمید (یک گرم سولفانیل آمید در ۱۰۰ سی سی اسید فسفوریک ۵ در صد) 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 NED (N-۱-نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید) 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 نیتريت در نمونه‌ها تعیین گردید (۱۳). جهت سنجش اسید اوریک از روش رنگ سنجی مستقیم استفاده شد و بر اساس روش شرکت سازنده کیت (زیست شیمی) عمل گردید.

جهت مقایسه میانگین‌ها (میانگین وزن و شدت بیماری) از روش ناپارامتری من ویتنی-یو<sup>۲</sup> استفاده شد. از آزمون فریدمن<sup>۳</sup> به منظور بررسی تغییرات شدت بیماری در هر گروه و برای مقایسه وزن در روزهای مختلف نیز از روش اندازه‌گیری تکراری استفاده گردید.  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار بودن داده‌ها در نظر گرفته شد.

### نتایج

با بررسی تغییرات وزن در موش‌های مبتلا به EAE درمان نشده (کنترل) و موش‌های سالم مشخص گردید که میانگین وزن موش‌های مبتلا به

(پا)، پنج (فلجی هر دو پا)، شش (فلجی کامل دست و پا) تا هفت (مرگ) درجه بندی شد (۹، ۱۰).

جهت تعیین تأثیر ویتامین E بر روند بیماری EAE، ۱۶ سر موش سه روز قبل از ایجاد بیماری، به ۲ گروه (در هر گروه ۸ سر) با شرایط سنی و وزنی یکسان تقسیم شدند و به صورت زیر تا روز نوزدهم پس از ایجاد EAE، تحت درمان قرار گرفتند. گروه ویتامین E (گروه مورد): موش‌های مبتلا به EAE که به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۱۰ میلی گرم ویتامین E در ۱۵۰ میکرو لیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل: موش‌های مبتلا به EAE که به هر موش ۱۵۰ میکرو لیتر روغن کنجد هر دو روز یک بار به صورت داخل صفاقی تجویز شد. 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 شد که تنها روغن کنجد دریافت نمودند. روغن کنجد حلال مناسبی جهت ویتامین‌های محلول در چربی است و میزان ویتامین E آن بسیار ناچیز است (۱۱).

انتخاب دوز تزریقی ویتامین در این مطالعه بر اساس مطالعات مشابهی بود که در آنها از این ویتامین جهت درمان بیماری‌ها در مدل‌های حیوانی استفاده شده است (۱۲).

پس از گذشت بیست روز از زمان القاء EAE، به منظور سنجش نیتريك اکساید و اسید اوریک سرمی، از موش‌ها خون‌گیری به عمل آمد.

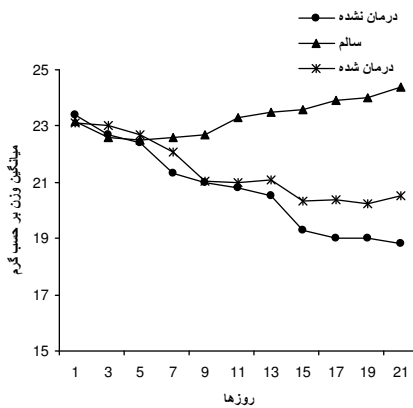
جهت سنجش نیتريك اکساید از روش گریس<sup>۱</sup> استفاده شد. اختصاراً، از محلول ۰/۱ مولار سدیم نیتريت، یک غلظت ۱۰۰ میکرومولار تهیه و از این غلظت سریال رقت‌های سه تایی (به عنوان

<sup>۲</sup> - Mann Whitney-U test.

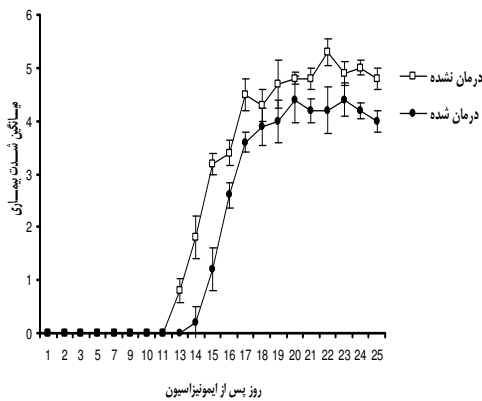
<sup>۳</sup> - Friedman.

<sup>۱</sup> - Griess.

مبتلا به EAE درمان نشده ( $5/12 \pm 0/44$ ) میلی گرم درصد) به طور معنی داری کمتر است ( $p=0/001$ ).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تغییرات وزن در موش های مبتلا به EAE درمان نشده و موش های مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین E و موش های سالم



نمودار ۲. مقایسه میانگین شدت بیماری در روزهای مختلف پس از ایمونیزاسیون در موش های مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین E و موش های مبتلا به EAE درمان نشده

### بحث

مطالعات نشان می دهد که پراکسیداسیون مولکول های بیولوژیک با واسطه رادیکال های آزاد در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها از جمله بیماری MS دخالت دارد (۱۴، ۱۵). پاره ای از مطالعات توصیفی نیز نشان می دهد که مواد غذایی آنتی اکسیدان خطر ابتلا به بیماری را کاهش می دهد (۱۶). ویتامین E به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان ممکن است در جلوگیری از MS

EAE در مقایسه با موش های سالم به طور معنی داری کمتر است ( $p=0/001$ ). با مقایسه میانگین تغییرات وزن در موش های مبتلا به EAE درمان نشده (کنترل) و موش های تحت درمان با ویتامین E مشخص گردید که در مقایسه با گروه درمان نشده داشتند که البته این تفاوت معنی دار نبود (نمودار ۱).

با بررسی روند بیماری در هر گروه و مقایسه روز شروع بیماری و شدت بیماری مشخص گردید که بین روز شروع بیماری در گروه های درمان نشده ( $11 \pm 1$  روز) و درمان شده با ویتامین E ( $13 \pm 1$  روز) تفاوت وجود دارد که البته معنی دار نمی باشد (نمودار ۲). میانگین حداکثر شدت بیماری در موش های تحت درمان با ویتامین E ( $4 \pm 0/8$ ) در مقایسه با موش های مبتلا به EAE درمان نشده ( $5/3 \pm 0/44$ ) کمتر می باشد ( $p=0/01$ )، (نمودار ۲).

پس از گذشت ۲۰ روز از زمان ایجاد EAE، سرم موش ها به طور هم زمان جمع آوری و میزان نیتریک اکساید سرم با روش گریس مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان نیتریک اکساید در موش های مبتلا به EAE درمان نشده ( $32/2 \pm 4/8$  میکرو مولار در میلی لیتر) در مقایسه با موش های تحت درمان با ویتامین E ( $28/8 \pm 3/4$  میکرو مولار در میلی لیتر) تفاوت معنی داری ندارد. در حالی که تفاوت معنی داری در میزان نیتریک اکساید بین موش های مبتلا به EAE و موش های سالم ( $12/2 \pm 3$  میکرو مولار در میلی لیتر) مشاهده شد ( $p=0/001$ ).

هم چنین با اندازه گیری اسید اوریک سرم موش های مبتلا به EAE مشخص گردید که میانگین اسید اوریک در موش های درمان شده با ویتامین E ( $2/46 \pm 0/61$  میلی گرم درصد) در مقایسه با موش های

تسهیل نماید، بتواند باعث کاهش ضایعات حاصل از مواد اکسیدان گردد.

مطالعات نشان می‌دهد که افزایش تولید نیتريت اکساید می‌تواند در پاتوژنز مولتیپل اسکلروزیس مؤثر باشد (۱۸، ۱۹). مهار تولید نیتريك اکساید ممکن است به مهار بیماری کمک کند (۲۰).

در این مطالعه به نقش ویتامین E در میزان نیتريك اکساید سرمی پرداخته شد. نتایج نشان داد که میزان نیتريك اکساید در موش‌های تحت درمان با ویتامین E در مقایسه با گروه کنترل درمان نشده تفاوت فاحشی نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که ویتامین E تأثیری بر تولید نیتريك اکساید ندارد و شاید از طریق مکانیسم‌های دیگری در بهبودی بیماری مؤثر باشد. نتایج ضد و نقیضی در این خصوص مطرح می‌باشد. پاره‌ای مطالعات نشان می‌دهد که ویتامین E موجب کاهش تولید نیتريك اکساید می‌شود (۲۳-۲۱). کالوسی و همکاران نشان دادند که ویتامین E موجب تعدیل نیتريك اکساید سنتتاز و NADPH اکسیداز در موش‌های ترانسژنیک c-Myc/TGF-alpha مبتلا به سرطان کبد می‌شود. آنها نشان دادند که مصرف بالای ویتامین E با کاهش بیان ژن نیتريك اکساید سنتتاز موجب کاهش تولید نیتريك اکساید می‌شود (۲۲). آیاسولا و همکاران نیز نشان دادند که ویتامین E با تأثیر بر روی سیتوکاین‌های التهابی سبب مهار تولید نیتريك اکساید در سلول‌های آستروسیت می‌گردد (۲۳). در حالی که هلر و همکاران اظهار داشتند که ویتامین E (آلفا توکوفرول) سبب افزایش تشکیل نیتريك اکساید توسط سلول‌های آندوتلیالی می‌گردد (۲۴). علت تفاوت در نتایج ممکن است ناشی از تفاوت در نوع نژاد حیوانی یا دوز ویتامین E باشد. در هر صورت هنوز اطلاعات روشنی در باره تأثیر ویتامین E در کاهش یا

نقش داشته باشد. برخی مطالعات نشان می‌دهد که سطح ویتامین E در بیماران مبتلا به MS در مقایسه با گروه کنترل کمتر است. غلظت کم ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی، بتاکاروتن، آلفا توکوفرول و اسید اسکوربیک در سرم یا مایع نخاع بیماران MS مشاهده شده است (۱۶). در حالی که جیمز و همکاران نشان دادند که سطح سرمی آلفا توکوفرول در بیماران MS با گروه کنترل تفاوتی ندارد (۱۷). در هر صورت در خصوص تأثیر ویتامین E در درمان MS مطالعه‌ای انجام نشده است و مطالعات محدود انجام شده در باره تأثیر این ویتامین در درمان آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی (مدل حیوانی MS) نیز نتایج متناقضی در برداشته است. فلاگو و همکاران نشان دادند که ویتامین E باعث تشدید بیماری EAE شده و به عنوان یک ادجوانت عمل می‌کند (۷). از طرفی آزمایش بر روی رت‌های مقاوم به آنسفالومیلیت نشان می‌دهد که کمبود ویتامین E موجب تشدید بیماری می‌شود. آزمایشات بر روی خوکیچه هندی حساس به آنسفالومیلیت، نشان داد که تجویز توأم آلفا توکوفرول و تیمولاین از پیشرفت بیماری جلوگیری می‌کند. به نظر می‌رسد که مقاومت به آنسفالومیلیت بستگی به سطح دفاعی آنتی اکسیدان غشایی و وضعیت ایمنی سلولی دارد (۸).

نتایج این بررسی نشان داد که تجویز ویتامین E به موش‌های C57BL/6 مبتلا به EAE، هرچند سبب مهار کامل بیماری نمی‌شود ولی تا حدودی باعث تأخیر شروع حمله بیماری و کاهش شدت علائم می‌گردد. این احتمال مطرح است که این ویتامین ممکن است نتواند نقش آنتی اکسیدانی خود را به خوبی در سیستم عصبی مرکزی ایفا نماید. شاید همراه نمودن این ویتامین با ترکیباتی که عبور آن را از سد خونی- مغزی

## منابع

1. Fox EJ. Immunopathology of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 28:63(12 Suppl 6):3-7.
2. Soelberg Sorensen P. Multiple sclerosis: pathophysiology revisited. *Lancet Neurol* 2005; 4(1):9-10.
3. Emerson MR, LeVine SM. Heme oxygenase-1 and NADPH cytochrome P450 reductase expression in experimental allergic encephalomyelitis: an expanded view of the stress response. *J Neurochem* 2000; 75(6):2555-62.
4. Van der Veen RC. Nitric oxide and T helper cell immunity. *Int Immunopharmacol*. 2001; 1(8):1491-500.
5. Emerson MR, LeVine SM. Heme oxygenase-1 and NADPH cytochrome P450 reductase expression in experimental allergic encephalomyelitis: an expanded view of the stress response. *J Neurochem* 2000; 75(6):2555-62.
6. Zhang SM, Hernan MA, Olek MJ, Spiegelman D, Willett WC, Ascherio A. Intakes of carotenoids, vitamin C, and vitamin E and MS risk among two large cohorts of women. *Neurology* 2001; 57(1):75-80.
7. Felaco M, Arduini A, Guanciali Franchi P, Cesario G, Palka G, Federici. [Adjuvant potential of vitamin E in the induction of experimental allergic encephalomyelitis: histological aspects]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1984; 60(8):1629-33.
8. Garthwaite G, Batchelor AM, Goodwin DA, Hewson AK, Leeming K, Ahmed Z, Cuzner ML, Garthwaite J. Pathological implications of iNOS expression in central white matter: an ex vivo study of optic nerves from rats with experimental allergic encephalomyelitis. *Eur J Neurosci* 2005; 21(8):2127-35.
9. 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.
10. Skundric DS, Zakarian V, Dai R, Lisak RP, Tse HY, James J. Distinct immune regulation of the response to H-2b restricted epitope of

افزایش تولید نیتریک اکساید در دسترس نیست و لازم است مطالعات جامع‌تری صورت گیرد.

ممکن است ویتامین E با تأثیر بر دیگر عوامل اکسیدان و یارفتگرهای رادیکال‌های آزاد از جمله اسید اوریک تا حدودی بتواند از شدت بیماری جلوگیری کند. نتایج این بررسی نشان داد که سطح سرمی اسید اوریک در موش‌های مبتلا به EAE تحت درمان با ویتامین E در مقایسه با گروه درمان نشده کمتر است. ویتامین E ممکن است با افزایش مصرف اسید اوریک در طی پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد باعث کاهش شدت بیماری شده باشد. سانجیتی و همکاران نیز نشان دادند مصرف ویتامین E و یا مشتقات آن باعث کاهش اسید اوریک می‌شود. ویتامین E ممکن است با اسید اوریک اثر جبرانی بر روی هم‌دیگر داشته باشند (۲۵).  
 المادفا و همکاران نشان دادند که افزایش سطح بتا کاروتن باعث کاهش سطح اسید اوریک می‌شود (۲۶).  
 از طرفی ناگیووا و همکاران اظهار داشتند که افزایش ویتامین E سرمی در انسان تأثیری بر سطح اسید اوریک ندارد (۲۷). مکانیسم تأثیر ویتامین E بر روی میزان اسید اوریک مشخص نیست. با توجه به این که ویتامین E و اسید اوریک به عنوان عوامل پاک‌سازی کننده (آنتی اکسیدان) محسوب می‌شوند، با تجویز ویتامین E ضرورتی برای افزایش اسید اوریک خون وجود ندارد.

## نتیجه گیری

در مجموع اطلاعات واضح و روشنی در خصوص تأثیر ویتامین E در مهار EAE و ارتباط آن با سطح اسید اوریک و نیتریک اکساید وجود ندارد و کاربردی کردن ویتامین E در درمان مولتیپل اسکلروزیس مطالعات بیشتری را می‌طلبد.

- MOG causes relapsing-remitting EAE in H-2b/s mice. *J Neuroimmunol* 2003; 136(1-2):34-45.
11. Hands ES. *Nutrients in food*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p.128.
12. Vatassery GT, Bauer T, Dysken M. High doses of vitamin E in the treatment of disorders of the central nervous system in the aged. *Am J Clin Nutr* 1999;70(5):793-801.
13. Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide: actions and pathological roles. *The Neuroscientist* 1995;1:7-9.
14. Gilgun-Sherki Y, Panet H, Melamed E, Offen D. Riluzole suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the treatment of multiple sclerosis. *Brain Res* 2003; 989(2):196-204.
15. Besler HT, Comoglu S, Okcu Z. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Nutr Neurosci* 2002; 5(3):215-20.
16. Schwarz S, Leweling H. Multiple sclerosis and nutrition. *Mult Scler*2005; 11(1):24-32.
17. Jimenez-Jimenez FJ, de Bustos F, Molina JA, de Andres C, Gasalla T, Orti-Pareja M, Zurdo M, Porta J, Castellano-Millan F, Arenas J, Enriquez de Salamanca R. Cerebrospinal fluid levels of alpha-tocopherol in patients with multiple sclerosis. *Neurosci Lett*1998; 249(1): 65-7.
18. Garthwaite G, Batchelor AM, Goodwin DA, Hewson AK, Leeming K, Ahmed Z, Cuzner ML, Garthwaite J. Pathological implications of iNOS expression in central white matter: an ex vivo study of optic nerves from rats with experimental allergic encephalomyelitis. *Eur J Neurosci*2005; 21(8):2127-35.
19. Encinas JM, Manganas L, Enikolopov G. Nitric oxide and multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*2005; 5(3):232-8.
20. Kanwar JR. Anti-inflammatory immunotherapy for multiple sclerosis/experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) disease. *Curr Med Chem*2005; 12(25): 2947-62.
21. Khanduja KL, Avti PK, Kumar S, Pathania V, Pathak CM. Inhibitory effect of vitamin E on proinflammatory cytokines-and endotoxin-induced nitric oxide release in alveolar macrophages. *Life Sci* 2005; 76(23):2669-80.
22. Calvisi DF, Ladu S, Hironaka K, Factor VM, Thorgeirsson SS. Vitamin E down-modulates iNOS and NADPH oxidase in c-Myc/TGF-alpha transgenic mouse model of liver cancer. *J Hepatol* 2004;41(5):815-22.
23. Ayasolla K, Khan M, Singh AK, Singh I. Inflammatory mediator and beta-amyloid (25-35)-induced ceramide generation and iNOS expression are inhibited by vitamin E. *Free Radic Biol Med*2004; 37(3):325-38.
24. Heller R, Werner-Felmayer G, Werner ER. Alpha-Tocopherol and endothelial nitric oxide synthesis. *Ann N Y Acad Sci*2004; 1031:74-85.
25. Sanguinetti SM, Batthyany C, Trostchansky A, Botti H, Lopez GI, Wikinski RL, Rubbo H, Schreier LE. Nitric oxide inhibits prooxidant actions of uric acid during copper-mediated LDL oxidation. *Arch Biochem Biophys* 2004; 423(2):302-8.
26. Elmadfa I, Rust P, Majchrzak D, Wagner KH, Genser D, Lettner R, Pinter M. Effects of beta-carotene supplementation on free radical mechanism in healthy adult subjects. *Int J Vitam Nutr Res* 2004; 74(2):147-52.
27. Nagyova A, Mongiellova V, Krivosikova Z, Blazicek P, Spustova V, Gajdos M, Dzurik R. Serum ex vivo lipoprotein oxidizability in patients with ischemic heart disease supplemented with vitamin E. *Physiol Res*2002; 51(5):457-64.

## Effect of vitamin E on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mouse

Mosayebi G<sup>8</sup>, Ghazavi A<sup>9</sup>, Khazaei MR<sup>10</sup>, Payani MA<sup>11</sup>

### Abstract

**Introduction:** Free radical-mediated peroxidation of biological molecules, such as lipids, is implicated in the pathogenesis of multiple sclerosis and its animal model experimental allergic encephalomyelitis (EAE). Low concentration of antioxidant vitamin E has been observed in serum of multiple sclerosis. However, it is not known whether vitamin E has protective effect in EAE. Vitamin E may inhibit EAE by effect on the level of uric acid and Nitric Oxide (NO) production.

**Materials and Methods:** In this experimental study some male C57BL/6 mice were placed in two therapeutic groups (n=8 per group) with age and weight-matched as follow: 1) Vitamin E-treated EAE mice (10mg/kg/every two days of vitamin E 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. Clinical score of disease, uric acid and NO levels of the groups were analysed.

**Results:** Results showed that vitamin E-treated mice had significantly less clinical score of EAE ( $4 \pm 0.8$ ) than non-treated EAE induced mice ( $5.3 \pm 0.44$ ), ( $p < 0.01$ ). Also, there was difference at the onset day of the disease between vitamin E-treated and non-treated EAE-induced mice (day  $13 \pm 1$  and day  $11 \pm 1$ , respectively), although was not significant. Concentration of uric acid in vitamin E treated mice were significantly lower than EAE control ( $p < 0.001$ ). There was no difference at the level of NO between the groups.

**Conclusion:** Vitamin E had no effect on NO level, but decreased serum uric acid level. It suggests that vitamin E can reduce or delay the onset of EAE by increasing uric acid consumption.

**Keywords:** Multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis, vitamin E, Nitric Oxide, Uric acid, C57BL/6 mouse

<sup>8</sup> - Assistant professor of immunology, department of microbiology and immunology, school of medicine, Arak university of medical sciences.

<sup>9</sup> - Instructor, MSc. of immunology, department of microbiology and immunology, school of medicine, Arak university of medical sciences.

<sup>10</sup> - Laboratory technician of parasitology, school of medicine, Arak university of medical sciences.

<sup>11</sup> - Laboratory technician of immunology, school of medicine, Arak university of medical sciences.