

# اثر هشت هفته مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر پروتئین CP و بیان ژن HSP70 در بافت مغز موش‌های صحرائی مبتلابه آلزایمر

شاهین قدیری<sup>۱</sup>، سیده ام‌البنین قاسمیان<sup>۲\*</sup>، لیلا درخشان<sup>۱</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** تفاوت بین مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بر سلامت بیماران مبتلابه آلزایمر هنوز به خوبی مشخص نشده است. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای به ارزیابی اثربخشی ویتامین C و E بر پروتئین کربونیل (CP) و بیان ژن شوک حرارتی ۷۰ (HSP70) در موش‌های آلزایمری نپرداخته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر هشت هفته مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر پروتئین CP و بیان HSP70 در بافت مغز موش‌های صحرائی آلزایمری صورت گرفت.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی تعداد ۲۸ سر موش صحرائی آلزایمری شده با تزریق ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم تری‌متیل تین به گروه‌های (۱) کنترل بیمار، (۲) شم (حلال ویتامین E)، (۳) ویتامین C و (۴) ویتامین E (VE) تقسیم شدند. هم‌چنین تعداد هفت سر موش صحرائی سالم برای بررسی اثرات القا بیماری بر متغیرهای تحقیق در گروه کنترل سالم قرار گرفتند. مکمل ویتامین C به مدت هشت هفته روزانه ۴ میلی گرم بر کیلوگرم در روز و مکمل ویتامین E روزانه ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به نمونه‌ها خوراندند. گروه‌ها از نظر مقادیر CP و بیان ژن HSP70 پس از مکمل دهی، مورد بررسی قرار گرفتند. سپس، داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS version 16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. جهت بررسی نرمالیتی توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. اثر مکمل ویتامین E و ویتامین C با استفاده از آنالیز واریانس یک راهه بررسی شد. هم‌چنین، برای بررسی نوع اثر متغیرها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام تجزیه و تحلیل‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**نتایج:** مقادیر پروتئین کربونیل در گروه‌های ویتامین C و ویتامین E به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بیمار بود ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، مقادیر HSP70 در گروه‌های ویتامین C و E به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بیمار بود ( $P < 0/05$ ). تفاوتی بین گروه مکمل ویتامین C و E مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به‌طور خلاصه یافته‌های به‌دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از آن بود که هر دو ویتامین C و ویتامین E دارای اثرات یکسان آنتی‌اکسیدانی و محافظت سلولی در بافت مغز موش‌های مبتلابه آلزایمر می‌باشند. با توجه به تاثیر ویتامین C و E بر کاهش پروتئین کربونیل و افزایش HSP70 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرائی، پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی اثر این ویتامین‌ها بر دیگر اختلالات نورودژنراتیو مورد بررسی قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** بافت مغز، بیماری آلزایمر، پروتئین کربونیل، HSP70

IR.IAU.BEHBAHAN.REC.1402.014

**ارجاع:** قدیری شاهین، قاسمیان سیده ام‌البنین، درخشان لیلا. اثر هشت هفته مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر پروتئین CP و بیان ژن HSP70 در بافت مغز موش‌های صحرائی مبتلابه آلزایمر. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۳؛ ۳۲ (۳): ۲۵-۷۶۱۳.

۱- گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران.

۲- گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۶۶۷۱۱۴۸۵، پست الکترونیکی: Ghasemian1249@yahoo.com، صندوق پستی: ۶۳۶۱۷۱۳۱۹۸

## مقدمه

بیماری آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو است که موجب تخریب بیشتر قسمت‌های مغز و به‌ویژه هیپوکامپ به‌عنوان جایگاه تدوین حافظه و یادگیری می‌شود. این بیماری بسیار شایع است، به‌طوری‌که بیش از نیمی از افراد سالمند بالای ۶۵ سال از این بیماری رنج می‌برند. این بیماری به‌عنوان دومین عامل مرگ و میر بیماری‌های سالمندی و اولین بیماری منجر به مرگ از میان اختلالات عصبی شناخته شده‌است. بیماری آلزایمر حاصل دخالت عوامل مختلفی است که عمدتاً به‌دلیل اختلالات بیوشیمیایی در تولید پروتئین‌ها، فعالیت الکتریکی غیرکنترل شده نورونی و تغییر در میزان برخی نوروترانسمیترها به‌وجود می‌آیند (۱). مغز یکی از بافت‌های بسیار آسیب‌پذیر در برابر استرس اکسیداتیو به‌شمار می‌رود (۲). استرس اکسیداتیو به دنبال افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) یا ROS مثل پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی انجام می‌شود. این گونه‌ها می‌توانند باعث آسیب به DNA، اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت آپوپتوز سلول‌های عصبی گردند (۳). ROS می‌تواند به همه مولکول‌های زیستی شامل لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله کند. پروتئین کربونیل‌ها (CP: Carbonyl Protein) یکی از مهم‌ترین بیومارکرهای اکسیداسیون پروتئین‌ها بوده و از نظر شیمیایی پایدار می‌باشد. گروه‌های پروتئین کربونیل از طریق اکسیداسیون مستقیم اسیدهای آمینه یا در اثر واکنش ثانویه با محصولات اکسیداسیون اولیه قندها و لیپیدها ایجاد می‌شوند (۴). همچنین، افزایش استرس اکسیداتیو منجر به تخریب غشای سلول، شکست DNA، افزایش پروتئین کربونیل، کاهش مکانیسم‌های محافظتی و نشانگرهای آن مانند پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock protein) یا HSPها (به‌ویژه HSP70 و HSP72) در بافت مغز شده و در نهایت آپوپتوز می‌شود (۵). پروتئین‌های شوک حرارتی اثرات آنتی‌اکسیدانی و

ضد التهابی دارند و در تاخوردگی اولیه و مجدد پروتئین مؤثر هستند و باعث محافظت هسته سلول‌ها و غشای لیپیدی در مقابل آسیب می‌شوند و از آپوپتوز جلوگیری می‌کنند (۶). در سیستم عصبی، بیان HSP70 در انواعی از شرایط پاتولوژیک مثل بیماری‌های نورودژنراتیو، ایسکمی مغزی، ضربه و صرع افزایش می‌یابد (۵). ویتامین C از نورون‌های گلوتاماترژیک به‌عنوان قسمتی از روند برداشت مجدد گلوتامات، آزاد می‌شود و به‌عنوان یک ویتامین آنتی‌اکسیدان از طریق جریان خون وارد مغز شده و در آنجا تجمع می‌یابد. این ویتامین علاوه بر نقش کوفاکتوری در واکنش‌های مختلف شیمیایی و آنزیمی، نقش نوروترانسمیتری در سیستم عصبی مرکزی (CNS: Central Nervous System) پستانداران را نیز دارا می‌باشد. همچنین، ویتامین E یکی از مهم‌ترین مواد در سیستم‌های دفاعی بدن است که باعث خنثی‌کردن استرس اکسیداتیو در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌شود و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی شناخته شده است. ترکیبات حاوی گوگرد و ویتامین‌هایی نظیر E و C و فلاونوئیدها با خاصیت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد، می‌توانند منجر به حذف اثر مولکول‌های فعال و آسیب‌رسان به ماکرومولکول‌های حیاتی مانند DNA و پروتئین‌ها شوند (۶). بررسی ادبیات تحقیق نشان داده‌است که مصرف ویتامین C به مدت چند هفته توسط موش‌های دارای استرس اکسایش منجر به افزایش عامل نروتروفیک مشتق از مغز می‌گردد (۷) و می‌تواند پوشش محافظتی قدرتمندی را برای مغز ایجاد کند (۸). یک مطالعه مروری نشان داده‌است که ویتامین C منجر به بهبود اختلالات روانی در مدل‌های حیوانی مانند اسکیزوفرنی، اضطراب و بیماری آلزایمر می‌شود (۹). سایر مطالعات، نقش ویتامین E را در کاهش پروتئین کربونیل و افزایش HSP70 تایید نموده‌اند (۱۰). مطالعه Wang و همکاران نشان داد افرادی که دوز بالاتری از ویتامین E را از طریق رژیم غذایی دریافت می‌کنند کمتر در معرض ابتلا به آلزایمر قرار دارند (۱۱). همچنین، مطالعه رضایی و همکاران حاکی از کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و کربونیل پروتئین‌ها پس از مصرف ویتامین E و ویتامین D بود (۶). مطالعه Arlt و

باکس و ماز Y ارزیابی و تایید شد (۱۴). تست حافظه و یادگیری، توسط ماز Y جهت بررسی رفتار تناوبی به کار رفت و شاتل باکس جهت بررسی یادگیری اجتنابی غیرفعال و تاخیر اولیه و تاخیر ثانویه در آن صورت گرفت.

**مکمل دهی ویتامین E و ویتامین C:** در طول دوره تحقیق، مکمل ویتامین E به میزان ۱۲۰ میلی گرم (شرکت SolarBio، چین) به صورت روزانه در ۱/۵ میلی لیتر دکستروز حل می گردید و به صورت خوراکی به موش هایی که در گروه ویتامین E قرار داشتند، خوراندند. با توجه به مکمل دهی طولانی مدت، مکمل ویتامین E (روزانه ۳۰ mg/kg) به صورت خوراکی و با در نظر گرفتن وزن موش ها اندازه گیری شد (۱۵). مکمل ویتامین C (اسکوربیک اسید) (شرکت سیگما آلدریج) روزانه به صورت خوراکی در طعم دهنده غذا حل شد و به صورت ۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش ها به آنها خوراندند (۱۶). جهت تعیین دوز ویتامین C و E موش ها هر هفته وزن گیری شدند (ترازوی ویژه اندازه گیری با قابلیت اندازه گیری ۰/۰۰۱ گرم، ساخت شرکت کرن، آلمان).

**تشریح و نمونه برداری:** ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه و در حالت ۱۲ ساعت ناشتا موش های صحرایی با ترکیب کتامین (۷۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زایلازین (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) با نسبت سه به دو و با تزریق صفاقی بیهوش شدند (ساخت شرکت آلفاسان، هلند). پس از اطمینان از بی هوشی کامل بافت مغز موش های صحرایی استخراج و پس از شست و شو و توزین در دمای ۷۰- فریز شد. متغیرهای تحقیق با استفاده از روش الایزا و Real Time PCR اندازه گیری شدند (شرکت StepOne کشور ایتالیا).

#### شیوه اندازه گیری متغیرهای تحقیق:

مقادیر پروتئین کربونیل با استفاده از کیت ویژه الایزا (شرکت ZellBio، آلمان) با مقیاس نانو مول بر میلی گرم (nmol/mg) اندازه گیری شد. بیان ژنی HSP70 در بافت هیپوکامپ با استفاده از روش qReal Time PCR اندازه گیری و سپس بر اساس مقیاس فولد چنج گزارش شد.

همکاران نیز نشان داد که استفاده از مکمل های ویتامین C و E منجر به افزایش ویتامین های آنتی اکسیدانی CSF می گردد (۱۲). اگرچه مطالعاتی در ارتباط با بررسی نقش ویتامین E به تنهایی و ویتامین C به تنهایی بر مکانیسم سلولی مولکولی استرس اکسیداتیو و در مقابل پروتئین های محافظتی سلول انجام شده است؛ هنوز تفاوت بین این دو آنتی اکسیدان در مهار آسیب های اکسایشی به خوبی شناخته نشده است. مطالعه حاضر با هدف مقایسه دو آنتی اکسیدان E و C و بررسی اثر همزمان آنها بر پروتئین کربونیل و بیان ژن HSP70 صورت گرفت.

### روش بررسی

مطالعه حاضر یک تحقیق تجربی - آزمایشگاه بود که روی نمونه های حیوانی انجام شد. در این مطالعه، ۳۵ سر موش صحرایی سالمند ماده با سن تقریبی ۱۴ الی ۱۶ ماه و محدوده وزنی ۲۷۰ تا ۳۲۰ گرم انتخاب شدند. راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به طور دقیق خوانده شده و تمامی مراحل به صورت کاملا استاندارد در نظر گرفته شد. نمونه های مورد بررسی از مرکز نگهداری حیوانات وابسته به دانشگاه آزاد مرودشت خریداری گردیدند. جهت سازگاری با محیط به مدت یک هفته در شرایط استاندارد شامل شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر) و تحت دمای  $22 \pm 3$  سانتی گراد و رطوبت ۵۰ درصد نگهداری شدند. در ابتدا، از ۳۵ سر موش صحرایی سالمند، ۷ مورد در گروه کنترل سالم قرا گرفتند و ۲۸ سر موش صحرایی با استفاده از تزریق صفاقی تک دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم تری متیل تین کلراید (TMT: Trimethyltin) (شرکت سیگما آلدریج، آمریکا) به بیماری آلزایمر مبتلا شدند (۱۳). این ۲۸ موش در چهار گروه، کنترل بیمار، گروه دریافت کننده مکمل ویتامین C، گروه دریافت مکمل ویتامین E و گروه دریافت حلال ویتامین E (شم) تقسیم شدند. چهارده روز پس از تزریق TMT، بیماری آلزایمر با مشاهده علائم بالینی شامل اضطراب، افسردگی، پرخاشگری، پیچ و تاب های دمی و خونریزی اطراف چشم، آزمون حافظه و یادگیری توسط شاتل

آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام تجزیه و تحلیل‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

میانگین متغیرهای پروتئین کربونیل و بیان نسبی HSP70 در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نمایش داده شده‌است.

مقادیر پروتئین کربونیل ( $P < 0/005$  و  $F = 14/75$ ) و بیان ژنی HSP70 ( $P < 0/005$  و  $F = 209/08$ ) در گروه‌های مورد بررسی به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. بررسی تاثیر هشت هفته مکمل‌دهی ویتامین C و ویتامین E بر مقادیر پروتئین کربونیل و بیان ژنی HSP70 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر در جدول ۳ نمایش داده شده‌است.

مقادیر پروتئین کربونیل در گروه کنترل بیمار و حلال ویتامین E به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود ( $P < 0/005$ ). مقادیر پروتئین کربونیل در گروه‌های ویتامین C ( $P = 0/007$ ) و ویتامین E ( $P = 0/002$ ) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بیمار بود. همچنین تفاوت معنی‌داری در گروه‌های ویتامین C و ویتامین E مشاهده نشد ( $P = 0/97$ ). همچنین، مقادیر بیان ژنی HSP70 در گروه کنترل بیمار و حلال ویتامین E به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سالم بود ( $P < 0/001$ ). بیان ژنی HSP70 در گروه‌های ویتامین C ( $P = 0/001$ ) و ویتامین E ( $P = 0/001$ ) بیشتر از گروه کنترل بیمار بود. تفاوت معنی‌داری در گروه‌های ویتامین C و ویتامین E از نظر بیان ژنی HSP70 مشاهده نشد ( $P = 0/74$ ). نتایج آزمون تعقیبی در خصوص اثر مکمل‌دهی ویتامین C و ویتامین E بر مقادیر پروتئین کربونیل و بیان ژنی HSP70 بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به بیماری آلزایمر در نمودارهای ۱ و ۲ نمایش داده شده‌است.

مقدار ۷۵۰ میکرولیتر از محلول تجاری تریزول سرد شده، حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه بافت به مدت ۱۰ ثانیه توسط دستگاه، هموژنایز شده RNA با استفاده از کیت شرکت سازنده (تریزول ایران، شرکت یکتا تجهیز) به روش اسپکتروفتومتری غلظت نمونه RNA، با استفاده از تعیین جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین خلوص RNA از محاسبه نسبت A260/A280 استفاده شد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A260 \times \epsilon \times d / 1000$$

پس از استخراج RNA، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Biofact، کره جنوبی) انجام و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR صورت گرفت. توالی پرایمرهای تحقیق با استفاده از سایت NCBI به دست آمد و با بکارگیری امکانات موجود در این سایت، پرایمرهای اختصاصی برای هر کدام از ژن‌ها طراحی شدند (جدول ۱). سپس با نرم‌افزارهای دیگر پرایمرهای طراحی شده بررسی شدند. در طراحی این پرایمرها نهایت دقت به عمل آمد و خصوصیات لازم برای استفاده از آن‌ها در Real-time PCR نیز لحاظ شد. پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشرفلورسانس با محاسبه  $\Delta\Delta C_t$  میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به ژن کنترل داخلی و حالت کنترل که فاقد محیط‌های تمایزی است، سنجیده شد و در آخر داده‌های میزان بیان ژن استفاد از فرمول  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  محاسبه شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های تحقیق در نرم‌افزار SPSS version 16 وارد و تجزیه و تحلیل گردید. جهت بررسی نرمالیتی توزیع یافته‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. بررسی اثر مکمل ویتامین E و ویتامین C با استفاده از آنالیز واریانس یک راهه صورت گرفت. همچنین، برای بررسی نوع اثر متغیرها از

جدول ۱: پرایمر طراحی شده برای ژن HSP70

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
HSP70	Forward: 5'- GAGAACCGGTCGTTCTACCC -3'	131
	Reverse: 5'- GAGTCGTTGAAGTAGGCGGG -3'	
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTCATGAAATCCAGT-3'	147
	Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'	

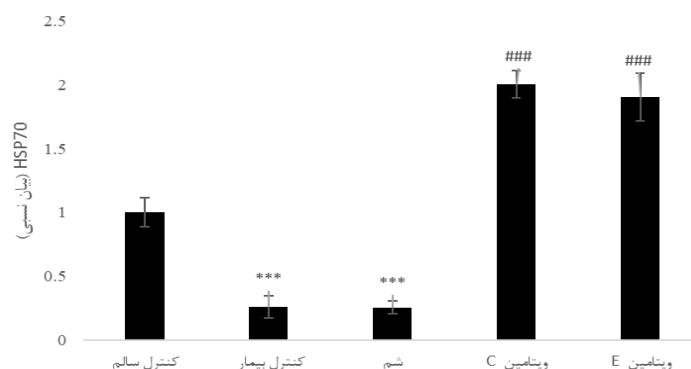
جدول ۲: میانگین متغیرهای پروتئین کربونیل و بیان نسبی HSP70 در گروه‌های مورد مداخله و کنترل

گروه‌ها	پروتئین کربونیل (nmol/mg) انحراف معیار ± میانگین	HSP70 (بیان نسبی) انحراف معیار ± میانگین
کنترل سالم	۲/۹۱ ± ۰/۵۴	۱/۰۰ ± ۰/۱۱
کنترل بیمار	۴/۸۳ ± ۰/۴۶	۰/۲۵ ± ۰/۰۸
حلال ویتامین E (شم)	۴/۹۷ ± ۰/۵۵	۰/۲۵ ± ۰/۰۵
مکمل ویتامین C	۳/۶۲ ± ۰/۶۳	۲/۰۰ ± ۰/۱۰
مکمل ویتامین E	۳/۸۲ ± ۰/۵۵	۱/۹۰ ± ۰/۱۸

جدول ۳: بررسی تاثیر هشت هفته مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر مقادیر پروتئین کربونیل و بیان ژنی HSP70 در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلابه بیماری آلزایمر با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک راهه

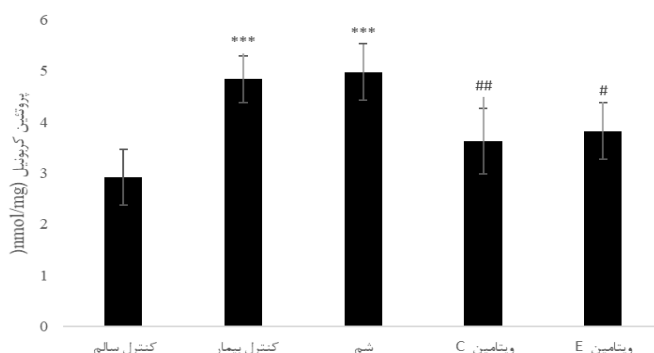
P	F*	میانگین مربعات	df	مجموع مربعات	توضیح
۰/۰۰۵	۱۴/۷۵	۴/۴۹	۴	۱۷/۹۰۹	بین گروه‌ها
		۰/۳۰	۳۰	۷/۶۲	پروتئین کربونیل درون گروهی
			۳۴	۲۵/۶۱	کل
۰/۰۰۵	۲۰۹/۰۸۶	۲/۸۹	۴	۱۱/۵۹	بین گروه‌ها
		۰/۰۱۴	۳۰	۰/۲۰	بیان ژنی HSP70 درون گروهی
			۳۴	۱۱/۸۰	کل

\*آنالیز واریانس یک‌راهه



نمودار ۱: بررسی اثر مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر مقادیر بیان ژنی HSP70 بافت هیپوکامپ موش‌های مبتلابه بیماری آلزایمر با استفاده از آزمون تعقیبی توکی

\*\*\* (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم #### (P=۰/۰۰۱) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل بیمار



نمودار ۲: نمودار ۱. بررسی اثر مکمل دهی ویتامین C و ویتامین E بر مقادیر پروتئین کربونیل بافت هیپوکامپ موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر با استفاده از آزمون تعقیبی توکی

\*\*\*# (P=0/01) افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم ## (P=0/01) و # (P=0/05) کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل بیمار

## بحث

آلزایمری منجر به بهبود اختلالات حافظه، جلوگیری از تخریب عصبی و التهاب عصبی در هیپوکامپ می‌گردد. التهاب عصبی در هیپوکامپ هم‌چنین بر پاسخ‌های ایمنی محیطی و التهاب در سرم موش‌های آلزایمری تأثیر گذاشت و همه این پارامترها نیز با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین C بازیابی شدند (۲۰). یافته‌های مطالعه Rai و همکاران نشان داد که مصرف ویتامین C به مدت ۴ هفته توسط موش‌های دارای استرس اکسایش منجر به افزایش عامل نروتروفیک مشتق از مغز می‌گردد (۷). یافته‌های یک مطالعه دیگر حاکی از آن بود که ویتامین C می‌تواند پوشش محافظتی قدرتمندی را برای مغز ایجاد کند (۸). یک مطالعه مروری نشان داده است که ویتامین C منجر به بهبود اختلالات روانی در مدل‌های حیوانی مانند اسکیزوفرنی، اضطراب و بیماری آلزایمر می‌شود (۹). ویتامین C به هنگام فشار اکسایشی از طریق تولید ترشح عامل نروتروفیک مشتق از مغز اثر محافظتی در عامل عصبی و مغز دارد. در این خصوص، یافته‌های یک مطالعه دیگر نشان داد که مصرف دو هفته مکمل ویتامین C منجر به کاهش مالون دی آلدئید (MDA: Malondialdehyde) و افزایش بیان ژن HSP70 می‌گردد (۲۱). این یافته با نتایج مطالعه حاضر هم راستا بود. یافته‌های یک مطالعه دیگر روی نمونه‌های حیوانی نشان داد که استفاده از مکمل ویتامین C به مدت ۶ ماه منجر به کاهش رفتاری در یک مدل موش

از بین آنتی‌اکسیدان‌های موثر در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر، ویتامین‌های محلول در آب و چربی مانند ویتامین C و E، مواد معدنی مانند سلنیوم، منگنز، مس و روی، پروتئین‌هایی مانند آلبومین، سرولوپلاسمین، ترانسفرین، هاپتوگلوبولین، فلاونوئیدها و فیتوکمیکال‌ها قابل توجه می‌باشند (۱۷، ۱۸). به‌طور خلاصه، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته مکمل‌دهی ویتامین C و ویتامین E منجر به کاهش پروتئین کربونیل و افزایش HSP70 گردید. هم‌چنین، مکمل‌دهی ویتامین C تفاوتی با مکمل ویتامین E از نظر تأثیر بر پروتئین کربونیل و بیان ژن HSP70 در موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر نداشت. مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعه Cansev و همکاران نشان داد که ویتامین C و ویتامین E جهت اثرگذاری پیش‌سازهای فسفولیپید بر افزایش سطوح فسفولیپیدهای غشایی و پروتئین‌های سیناپسی، که شاخص‌های غیرمستقیم سیناپتوزن هستند، ضروری هستند. عرضه همزمان آنها ممکن است در بیماران مبتلا به آلزایمر مفید باشد، زیرا این بیماری با از دست‌دادن سیناپس و کاهش سطوح پلاسمایی و مغزی پیش‌سازهای فسفولیپید و آنتی‌اکسیدان‌ها مشخص می‌شود (۱۹). مطالعه Sil و همکاران نشان داد که تجویز ویتامین C (۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) در موش‌های

واحد در روز) پیشرفت آلزایمر را در بیماران آلزایمری شدید به تاخیر می‌اندازد (۲۷). مطالعه دیگری در بیماران مبتلا به آلزایمری خفیف تا متوسط نشان داد که ویتامین E (۲۰۰۰ واحد در روز) زوال عملکرد مغز و بار مراقب را کاهش می‌دهد (۲۸). برخلاف این داده‌ها، گزارش‌های دیگر نتایج متضادی را نشان دادند. در واقع شواهد قانع‌کننده‌ای نشان نمی‌دهند که درمان با ویتامین E می‌تواند اثرات مثبتی در آلزایمر داشته باشد (۲۹). یک مطالعه دیگر نشان داد که تجویز ویتامین E اثرات مفیدی در بیماران مبتلا به اختلال شناختی خفیف ندارد. در این مطالعه، سرعت پیشرفت از اختلال شناختی به آلزایمر ارزیابی شد، اما درمان ویتامین E بر احتمال پیشرفت به آلزایمر تأثیری نداشت (۳۰). یک بررسی سیستماتیک نشان داد که ویتامین E عملکرد شناختی را بهبود نمی‌بخشد و از پیشرفت زوال عقل جلوگیری نمی‌کند، اما ممکن است فرایند کاهش عملکردی در آلزایمر را کاهش دهد. هم‌چنین، یافته‌ها نشان داد که ویتامین E خطر ابتلا به عوارض جانبی جدی یا مرگ و میر را افزایش نمی‌دهد (۲۹). یکی از نگرانی‌های اصلی در مورد درمان ویتامین E این بود که دوزهای بالا ممکن است مرگ و میر را افزایش دهد. در همین راستا، یک متآنالیز، هیچ ارتباطی بین دوز ویتامین E و خطر مرگ و میر نشان نداد. به ویژه ویتامین E تأثیری بر مرگ و میر ناشی از همه علل در دوزهای تا ۵۵۰۰ واحد در روز نداشت (۳۱). هم‌چنین، یافته‌های یک مطالعه نشان داد افرادی که دوز بالاتری از ویتامین E را از طریق رژیم غذایی دریافت می‌کنند کمتر در معرض ابتلا به آلزایمر قرار دارند (۱۱). مشابه یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعه Khorami و همکاران نشان داد اثر کلی ترکیبات ویتامین E باعث کاهش افزایش بیان HSP70 می‌شود (۳۲). یک مطالعه دیگر نشان داده است که مصرف همزمان با کورستین یا ویتامین E آپوپتوز و سطح پروتئین استرس را نسبت به گروه شاهد کاهش می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ویتامین E ممکن است اثر محافظتی در برابر آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو داشته باشد (۳۳). ویتامین E با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، اولین سد دفاعی

آلزایمری گردید. براساس یافته‌ها، کاهش الیگومریزاسیون  $A\beta$  با کاهش قابل توجه آسیب اکسیداتیو مغز و در نسبت  $A\beta_{42}$  محلول به  $A\beta_{40}$ ، (به‌عنوان یک شاخص معمولی از پیشرفت آلزایمر) همراه بود. علاوه بر این، مصرف ویتامین C باعث کاهش سیناپتوفیزین و فسفوریلاسیون تاو در Ser396 شد (۱۲). این یافته، نتایج مطالعه حاضر را مورد تایید قرار می‌دهد. ویتامین C به وفور در سیتوزول و مایع خارج سلولی یافت می‌شود و می‌تواند با پراکسید هیدروژن ترکیب‌گردد و به‌عنوان یک ماده احیا کننده عمل‌کند (۲۲). ویتامین C می‌تواند اثر شیمیایی موادی را که به بافت‌های بدن آسیب می‌رسانند، خنثی کند. این ویتامین از طریق ایجاد یک پوشش محافظتی برای مغز، در کاهش علائم برخی بیماری‌ها و اختلالات مغزی همچون پارکینسون کمک می‌کند. برخی یافته‌ها نشان داده است که مصرف مکمل ویتامین C منجر به افزایش بقا و حفظ نورون‌های عصبی در مغز میانی می‌گردد (۸،۲۳). هم‌چنین، افزایش عامل نروتروفیک مشتق از مغز در پی مصرف ویتامین C مشاهده شده است. دیگر یافته این مطالعه، نقش ویتامین E را در کاهش پروتئین کربونیل و افزایش HSP70 تایید کرد. در خصوص اثر بخشی مکمل ویتامین E بر آلزایمر، مطالعه Foudah و همکاران با هدف بررسی چگونگی تاثیر ویتامین E بر موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر صورت گرفت. یافته‌ها حاکی از تایید اثر نوتروپیک مصرف رسوراترول و ویتامین E بود (۲۴). اگرچه مطالعات تجربی نشان داده است که ویتامین E اثرات مفیدی در مدل‌های حیوانی آلزایمر دارد، اثربخشی آن در بیماران مبتلا به آلزایمر هنوز مورد بحث است، حتی اگر بیماران مبتلا به آلزایمر سطوح کمتر ویتامین E در پلاسما و مایع مغزی نخاعی داشته باشند (۲۵). برخی یافته‌ها نشان داده است که سطوح بالاتر ویتامین E در پلاسما با کاهش خطر آلزایمر همراه است (۲۶). با این حال، این یافته‌ها دال بر اثبات اثر درمانی ویتامین E نیست. در واقع، فقط برخی از مطالعات مزایای مکمل ویتامین E را نشان دادند. در همین راستا، مطالعه Sano و همکاران نشان داد که ویتامین E (۲۰۰۰

زوال عقل یا بیماری آلزایمر را کاهش‌نداد (۴۰). مطالعه دیگر توسط Arit و همکاران که روی نمونه‌های انسانی انجام شد، نشان‌دادند که استفاده از مکمل‌های ویتامین C (۱۰۰۰ میلی‌گرم در روز) و E (۴۰۰ واحد در روز) منجر به افزایش ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی CSF پس از ۱ ماه و ۱ سال گردید، در حالیکه لیپیدهای CSF تنها پس از ۱ سال استفاده از مکمل کاهش یافت. با این حال، سیر بالینی آلزایمر بین گروه استفاده از ویتامین و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت (۱۲). با این حال، این یافته‌ها این تاثیرات پیشگیرانه احتمالی ویتامین C و ویتامین E را بر آلزایمر رد نمی‌کند. ذکر این نکته حائز اهمیت است که مطالعه حاضر بر روی نمونه‌های حیوانی انجام شد که بیماری آلزایمر آن‌ها به تازگی ایجاد شده بود و موش‌ها در مراحل اولیه ابتلا بودند.

#### محدودیت‌های تحقیق

عدم ارزیابی هم‌افزایی اثر ویتامین C و E یکی از ضعف‌های مطالعه حاضر می‌باشد. همچنین، عدم آرایه داده‌های حاصل از ایجاد صحیح مدل آلزایمر با تست‌های رفتاری دیگر از محدودیت‌های این مطالعه است.

#### نتیجه‌گیری

تعداد افراد مبتلا به آلزایمر به‌طور مداوم در حال افزایش است و به‌همین دلیل، بررسی درمان‌های تکمیلی که بتواند از پیشرفت بیماری جلوگیری کند یا آن را به تأخیر بیندازد، اهمیت فراوانی دارد. شواهد نشان‌داد که استرس اکسیداتیو نقش اصلی را در آسیب‌شناسی آلزایمر ایفا می‌کند. ویتامین E و C جزء مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند و برخی داده‌ها نشان می‌دهند که می‌تواند با استرس اکسیداتیو ناشی از آمیلوئید- $\beta$  مقابله کند و حافظه و نقص‌های شناختی را نیز بهبود بخشند. به‌طور خلاصه یافته‌های بدست‌آمده از مطالعه حاضر حاکی از آن بود که هر دو ویتامین C و ویتامین E دارای اثرات یکسان آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌سلولی در بافت مغز موش‌های مبتلا به آلزایمر می‌باشند. با توجه به تأثیر ویتامین C و E بر کاهش پروتئین کربونیل و افزایش HSP70 در بافت

در برابر پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده موجود در فسفولیپیدهای غشای سلولی و تحت سلولی است. این ویتامین از طریق تبدیل رادیکال آزاد اسید چرب پراکسیل به هیدروپراکسی سبب توقف انتشار آسیب ناشی از رادیکال آزاد می‌شود (۱۰). ویتامین E با اتصال به لیپوپروتئین‌های غشاء سلول، از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در برابر رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون ممانعت کرده و باعث پایداری غشای سلول می‌شود (۳۴). همچنین، ویتامین E به‌طور مستقیم منجر به پاکسازی سلول از کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز پروتئین واکنش‌گر C، مالون دی‌آلدئید و در عین حال افزایش فسفوریل‌سیون پروتئین کینازها، بهبود متابولیسم سلولی، افزایش بیوژنز میتوکندریایی و ظرفیت متابولیکی سلول عضلانی می‌گردد (۳۵،۳۶). ویتامین E همچنین دارای اثرات ضد التهابی، ضد آپوپتوزی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و در کاهش اضطراب و افسردگی نقش دارد (۳۷، ۱۶). در ارتباط با بررسی و مقایسه اثر ویتامین E و C محققین نشان‌دادند تجویز ویتامین‌های E و C باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون S-ترانسفراز، افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید و کاهش فعالیت لاکتات دهیدروژناز و غلظت گلووتاتیون در قلب موش‌های صحرایی می‌گردد (۳۸). با توجه به یافته‌های بدست‌آمده از مطالعات قبلی به نظر می‌رسد که پایداری به رژیم غذایی مدیترانه‌ای حاوی مقادیر بالای ویتامین C و E (مصرف بالاتر ماهی، میوه و سبزیجات غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها) با کاهش خطر بیماری آلزایمر همراه است (۳۹). همچنین، مشابه مطالعه حاضر، رضایی و همکاران نشان‌دادند مصرف ویتامین E و ویتامین D موجب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و کربونیل پروتئین‌ها در شرایط آزمایشگاهی گردید (۶). در تناقض با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعه Fillenbaum و همکاران با هدف تاثیر مکمل ویتامین C و/یا E در یک نمونه مبتنی بر جامعه از افراد مسن، به‌جهت به تاخیر افتادن زوال عقل یا بیماری آلزایمر صورت گرفت. یافته‌ها حاکی از آن بود که استفاده از هیچ ویتامین C و/یا E حتی در دوز بالا زمان



### ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی- واحد بهبهان تصویب شده است (کد اخلاق : IR.IAU.BEHBAHAN.REC.1402.014).

### مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در ارائه ایده، در طراحی مطالعه، در جمع‌آوری داده‌ها، در تجزیه و تحلیل داده‌ها به یک اندازه مشارکت داشته و همچنین در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

هیپوکامپ موش‌های صحرایی، پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی اثر این ویتامین‌ها بر دیگر اختلالات نورودژنراتیو مورد بررسی قرار گیرد. همچنین، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده اثرات آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی این ویتامین‌ها نیز ارزیابی شود.

### سپاس‌گزاری

از کلیه کارشناسان خانه‌حیوانات دانشگاه آزاد مرودشت که در کار تکنیکی همکاری نموده‌اند، تشکر به عمل آید و مقاله نیز بر گرفته از پایان‌نامه دکتری عمومی دامپزشکی است.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارند.

### References:

- 1-Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chételat G, Teunissen CE, et al. *Alzheimer's disease*. The Lancet 2021; 397(10284): 1577-90.
- 2-Lee SW, Chung SS. *A review of the effects of vitamins and other dietary supplements on seizure activity*. Epilepsy & Behavior 2010; 18(3): 139-50.
- 3-Jellinger KA. *Basic mechanisms of neurodegeneration: a critical update*. J cellular and molecular med 2010; 14(3): 457-87.
- 4-Pradeep AR, Ramchandraprasad M, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E. *Protein carbonyl: An oxidative stress marker in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects*. Contemporary Clin Dent 2013; 4(1) 27-31.
- 5-Airoldi C, La Ferla B, D'Orazio G, Ciaramelli C, Palmioli A. *Flavonoids in the treatment of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases*. Curr med chem 2018; 25(27): 3228-46.
- 6-Rezaei Tireh Shabankareh S, Mohiti Ardakani J, Fallah R, Karimi M, Pourrajab F, Ehsani R, et al. *Effect of Vitamin E on Oxidative Stress Markers of Proteins and Lipids in Children with Idiopathic Epilepsy*. SSU\_Journals 2016; 23(11): 1108-15.[persian]
- 7-Rai AR, Madhyastha S, Rao GM, Rai R, Sahu SS. *A Comparison of Resveratrol and Vitamin C Therapy on Expression of BDNF in Stressed Rat Brain Homogenate*. IOSRJ Pharm 2013; 3(10): 22-7.
- 8-May JM. *Vitamin C transport and its role in the central nervous system*. Water Soluble Vitamins: Clinical Research and Future Application. In: Stanger, O. (eds) Water Soluble Vitamins. Subcellular Biochemistry, vol 56. Springer, Dordrecht.
- 9-Han Q-q, Shen T-t, Wang F, Wu P-f, Chen J-g. *Preventive and therapeutic potential of vitamin C in mental disorders*. Curr med sci 2018; 38(1): 1-10.

- 10-Najafzadeh H, Razijalali M, Morovvati H, Navvabi L. *Evaluation the effect of cimetidine, estradiol and vitamin E on myoglobinuric renal toxicity in rats*. Am Eurasian J Toxicol Sci 2011; 3(3): 177-83.
- 11-Wang W, Li J, Zhang H, Wang X, Zhang X. *Effects of Vitamin E Supplementation on the Risk and Progression of AD: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Nutritional Neuroscience 2021; 24(1): 13-22.
- 12-Arlt S, Müller-Thomsen T, Beisiegel U, Kontush A. *Effect of One-Year Vitamin C-And E-Supplementation on Cerebrospinal Fluid Oxidation Parameters and Clinical Course in Alzheimer's Disease*. Neurochemical Res 2012; 37(12): 2706-14.
- 13-Hosseini SA, Salehi OR, Farzanegi P, Farkhaie F, Darvishpour AR, Roozegar S. *Interactive Effects of Endurance Training and Royal Jelly Consumption on Motor Balance and Pain Threshold in Animal Model of the Alzheimer Disease*. Archives of Neuroscience 2020;7(2): e91857.
- 14-Liu S, Cao X-L, Liu G-Q, Zhou T, Yang X-L, Ma B-X. *The in silico and in vivo evaluation of puerarin against Alzheimer's disease*. Food & function 2019;10(2):799-813.
- 15-Nouri H, Sheikholeslami-Vatani D, Moloudi MR. *Changes in UPR-PERK pathway and muscle hypertrophy following resistance training and creatine supplementation in rats*. Journal of physiol biochem 2021; 77(2): 331-9.
- 16-Lee G, Kim Y, Jang J-H, Lee C, Yoon J, Ahn N, et al. *Effects of an exercise program combining aerobic and resistance training on protein expressions of neurotrophic factors in obese rats injected with beta-amyloid*. International Journal of Environmental Research and Public Health 2022;19(13):7921.
- 17-Sinbad OO, Folorunsho AA, Olabisi OL, Ayoola OA, Temitope EJ. *Vitamins as antioxidants*. Journal of Food Science and Nutrition Research 2019; 2(3): 214-35.
- 18-Gomes EC, Silva AN, Oliveira MRd. *Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species*. Oxidative medicine and cellular longevity 2012; 2012: 756132.
- 19-Cansev M, Turkyilmaz M, Sijben JW, Sevinc C, Broersen LM, van Wijk N. *Synaptic Membrane Synthesis in Rats Depends on Dietary Sufficiency of Vitamin C, Vitamin E, and Selenium: Relevance for Alzheimer's Disease*. J Alzheimer's Dis 2017; 59(1): 301-11.
- 20-Sil S, Ghosh T, Gupta P, Ghosh R, Kabir SN, Roy A. *Dual Role of Vitamin C on the Neuroinflammation Mediated Neurodegeneration and Memory Impairments in Colchicine Induced Rat Model of Alzheimer Disease*. Journal of Molecular Neurosc 2016; 60(4): 421-35.
- 21-Namani F. *The Effects of 14 Days Vitamin C Supplementation on Oxidant and Antioxidant Factors after One Bout Acute Exercise Training in Active Girls*. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiol 2016; 3(2): 47-55.
- 22-Jourkesh M, Sadri I, Sahranavard A, Ojagil A, Dehghanpoori M. *The Effects of two different doses of Antioxidant Vitamin C Supplementation on bioenergetics index in male college student*. Journal of American Science 2011;6(1):852-8.

- 23-Ferrada L, Barahona MJ, Salazar K, Vandenebeele P, Nualart F. *Vitamin C controls neuronal necroptosis under oxidative stress*. Redox Biol 2020; 29: 101408.
- 24-Foudah AI, Devi S, Alam A, Salkini MA, Ross SA. *Anticholinergic effect of resveratrol with vitamin E on scopolamine-induced Alzheimer's disease in rats: Mechanistic approach to prevent inflammation*. Frontiers Pharmacol 2023; 14: 1115721.
- 25-Dong Y, Chen X, Liu Y, Shu Y, Chen T, Xu L, et al. *Do low-serum vitamin E levels increase the risk of Alzheimer disease in older people? Evidence from a meta-analysis of case-control studies*. Internat J geriat psychiatry 2018; 33(2): e257-e63.
- 26-Mangialasche F, Kivipelto M, Mecocci P, Rizzuto D, Palmer K, Winblad B, et al. *High Plasma Levels of Vitamin E forms and Reduced Alzheimer's Disease Risk in Advanced Age*. J Alzheimer's Dis 2010; 20(4): 1029-37.
- 27-Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M, et al. *A Controlled Trial of Selegiline, Alpha-Tocopherol, or both as Treatment for Alzheimer's Disease*. N Engl J Med 1997; 336(17): 1216-22.
- 28-Dysken MW, Sano M, Asthana S, Vertrees JE, Pallaki M, Llorente M, et al. *Effect of Vitamin E and Memantine on Functional Decline in Alzheimer Disease: The TEAM-AD VA Cooperative Randomized Trial*. Jama 2014; 311(1): 33-44.
- 29-Farina N, Llewellyn D, Isaac MGEKN, Tabet N. *Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment*. Cochrane Database of Systematic Rev 2017; 1(1): CD002854.
- 30-Petersen RC, Thomas RG, Grundman M, Bennett D, Doody R, Ferris S, et al. *Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment*. New England J Med 2005; 352(23): 2379-88.
- 31-Abner E, Schmitt F, Mendiondo M, Marcum J, Kryscio R. *Vitamin E and all-cause mortality: a meta-analysis*. Curr Aging Sci 2011; 4(2): 158-17.
- 32-Hoseini Khorami SA, Abd Mutalib MS, Khaza'ai H. *Comparative Effect of Vitamin E Compounds on HSP70 Expression in Response to Acute Redox Imbalance in Chang Liver Cells*. Research Square 2020; 1-16.
- 33-Ebokaiwe AP, Mathur PP, Farombi EO. *Quercetin and Vitamin E Attenuate Bonny Light Crude Oil-Induced Alterations in Testicular Apoptosis, Stress Proteins and Steroidogenic Acute Regulatory Protein in Wistar Rats*. Drug and Chemical Toxicology 2016; 39(4): 424-31.
- 34-Naghizadeh H, Salehikia A. *Effect of One Course Exercise with Consumption Vitamin E on Antioxidant Status and Cardiovascular Risk Factors*. Zahedan J Res in Medical Sci 2010;12(1): e94350.
- 35-Kim M, Eo H, Lim JG, Lim H, Lim Y. *Can Low-Dose of Dietary Vitamin E Supplementation Reduce Exercise-Induced Muscle Damage and Oxidative Stress? A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. Nutrients 2022; 14(8): 1599.
- 36-Alghadir AH, Gabr SA, Iqbal ZA, Al-Eisa E. *Association of Physical Activity, Vitamin E Levels, and Total Antioxidant Capacity with Academic Performance and Executive Functions of Adolescents*. BMC pediatrics 2019; 19: 1-8.

- 37-Zhang M, An C, Gao Y, Leak RK, Chen J, Zhang F. *Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection*. Progress in neurobiology 2013; 100: 30-47.
- 38-Tahmasebi K, Jafari M, Ahmadi A. *Evaluation of oxidative stress biomarkers in rat heart exposed to diazinon and vitamins E and C*. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2015; 21(1): 13-9.
- 39-Hakimeh Z, Sadat SS, Pour AR, Tavirani MR. *Epidemiology and etiology of Alzheimer's disease*. Koomesh 2015;16(2); 119-27.[persian]
- 40-Fillenbaum GG, Kuchibhatla MN, Hanlon JT, Artz MB, Pieper CF, Schmader KE, et al. *Dementia and Alzheimer's disease in community-dwelling elders taking vitamin C and/or vitamin E*. Annals of Pharmacotherapy 2005; 39(12): 2009-14.

## Impact of Eight Weeks of Supplementation with Vitamins C and E on the Expression of CP Protein and the HSP70 Gene in the Brain Tissue of Rats with Alzheimer's Disease

Shahin Ghadiri<sup>1</sup>, Seyedeh Ommolbanin Ghasemian<sup>\*2</sup>, Leila Derakhshan<sup>1</sup>

### Original Article

**Introduction:** Impact of antioxidant supplements on the health of patients with Alzheimer's disease has not yet been clearly defined. Given that no study has been conducted so far to evaluate the effectiveness of vitamins C and E on the expression of Carbonyl Protein (CP) and Heat Shock 70 (HSP70) genes in rats with Alzheimer's, this study aims to investigate the effect of an eight-week supplementation of vitamins C and E on the expression of CP and HSP70 in the brain tissue of rats with Alzheimer's disease.

**Methods:** In this experimental study, 28 rats with Alzheimer disease were injected with 10 mg/kg of trimethyltin and divided into four groups: patient control, sham (soluble vitamin E), Vitamin C, and Vitamin E (VE). Seven healthy rats were included in the control group to investigate the effects of disease induction on the variables under study. They were administered a daily supplement of 4 mg/kg of vitamin C and 30 mg/kg of vitamin E for eight weeks. After supplementation period, the groups were compared in terms of CP values and HSP70 gene expression. Data were analyzed by SPSS16 statistical software. Shapiro-Wilk test was used to check normality of the finding distributions. Effect of vitamin E and vitamin C supplementation was evaluated using one-way analysis of variance. Tukey's post hoc test was used to check the type of variable effects. A significant level of 0.05 was considered for all analyses.

**Results:** Levels of carbonyl protein in both the vitamin C and vitamin E groups were significantly lower than those in the patient control group ( $P < 0.05$ ). HSP70 levels in the vitamin C and E groups were significantly higher than those in the patient control group ( $P < 0.05$ ). No significant difference was observed between vitamin C and E supplement groups ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** Findings of this study suggest that both vitamin C and E exhibit similar antioxidant and cellular protective effects in the brain tissue of mice with Alzheimer's disease. Given the impact of vitamins C and E on reducing carbonyl protein levels and increasing HSP70 levels in the hippocampal tissue of rats, it is recommended to explore the effects of these vitamins on other neurodegenerative disorders in future studies.

**Keywords:** Brain tissue, Alzheimer's disease, Carbonyl protein, HSP70

**Citation:** Ghadiri SH, Ghasemian S.O, Derakhshan L. **Impact of Eight Weeks of Supplementation with Vitamins C and E on the Expression of CP Protein and the HSP70 Gene in the Brain Tissue of Rats with Alzheimer's disease.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2024; 32(3): 7613-25.

<sup>1</sup>Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran.

<sup>2</sup>Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 09166711485, email: Ghasemian1249@yahoo.com