

## تأثیر نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک بر سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش صحرایی آلوده به *استافیلوکوکوس* *اورئوس*

آناهیتا سینائی<sup>۱</sup>، زهرا کشتمند<sup>۲\*</sup>، مرتضی مهاجری امیری<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۵

### چکیده

زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، خاصیت ضد باکتریایی و غیر سمی بودن نانوکیتوزان و استفاده از ترکیبات گیاهی با خاصیت به عنوان مواد ضد باکتریایی امروزه مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی اثر نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک بر تغییرات سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپید بافت کبد آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در موش های صحرایی نر نژاد ویستار می باشد. در این مطالعه تجربی ۲۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار، در چهار گروه شامل گروه کنترل، آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^8$  CFU / ml)، دریافت کننده نانوکیتوزان (۱ ml) و مدل آلوده + دریافت کننده نانوکیتوزان حامل گیاه ازمک ( $200$  mg/kg) تقسیم بندی شدند. القا آلودگی به روش تزریق درون صفاقی، تک دوز و دریافت نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک با روش گاوآژ به مدت ۳۰ روز انجام شد. بعد از دوره تیمار و تشریح حیوانات، بافت کبد جهت بررسی سطح فعالیت آنتی اکسیدان تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی آلدئید گروه های مختلف استخراج شد. آنالیز داده ها در گروه های مختلف با نرم افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یکطرفه انجام و  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج حاصل، تغییر معنادار سطح آنتی اکسیدان تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی آلدئید گروه های آلوده را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/05$ ). در حالیکه کاهش سطح مالون دی آلدئید، افزایش سطح آنتی اکسیدان تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز در گروه های تیمار در مقایسه با گروه آلوده به صورت معنادار نشان داده شد ( $P < 0/05$ ). بر اساس نتایج به دست آمده احتمالاً به دلیل ترکیبات و اثرات آنتی اکسیدانی، نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک اثر تعدیل-کنندگی بر سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپید بافت کبد موش های صحرایی آلوده به باکتری را نشان داد. بنابراین احتمالاً بتواند به عنوان یک راهکار امیدوار کننده درمانی استفاده شود.

**کلمات کلیدی:** نانوکیتوزان، گیاه ازمک، آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون لیپید، کبد، *استافیلوکوکوس اورئوس*، موش صحرایی

\* نویسنده مسئول: زهرا کشتمند

آدرس: گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

پست الکترونیک: zahra.keshtmand@iau.ac.ir

## مقدمه

در میان انواع مختلف باکتری، استافیلوکوکوس اورئوس یکی از پاتوژن‌های منتقله از بیمارستان است که در بیماری‌های بیمارستانی و اکتسابی جامعه نقش دارد. این پاتوژن گرم مثبت فرصت طلب بی‌هوازی است که قادر است تقریباً در هر بافت میزبان، پاتولوژی ایجاد کند (Wu et al., 2017). استافیلوکوکوس اورئوس به طور کلی به عنوان پاتوژن خارج سلولی غیر تهاجمی در نظر گرفته می‌شود که حداقل تا حدی به دو طریق به سلول‌های میزبان آسیب می‌رساند، یا از طریق چسبیدن به ماتریکس خارج سلولی سلول‌ها و یا با تهاجم و ماندگاری در سلول‌ها و قطع کردن مکانیسم‌های سیگنالینگ (Liang et al., 2024). ماهیت استافیلوکوکوس اورئوس نشان می‌دهد که توانایی غلبه بر مکانیسم‌های دفاعی میزبان را دارد. بسیاری از مطالعات نشان داد که استافیلوکوکوس اورئوس تقریباً تمام پستانداران را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله عفونت پوستی، کلونیزاسیون بینی، سپسیس، نارسایی کلیه، آرتریت و اندوکاردیت نیز می‌باشد (Feng et al., 2015).

آسیب کبدی یکی از ویژگی‌های رایج سموم باکتریایی است که منجر به ایجاد شوک شدید و نارسایی چند عضوی می‌شود (Prasad et al., 2011). آلودگی به باکتری با برهم زدن تعادل سیستم دفاعی سبب تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال عملکردی شدید می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل وجود الکترون‌های آزاد، مولکول‌هایی بسیار واکنش‌پذیر هستند (Feng et al., 2015)، که به وسیله میتوکندری و طی مسیر متابولیک فسفوریلاسیون اکسیداتیو تولید می‌شوند و می‌توانند از مولکول‌های زیستی یک الکترون برداشته و در عملکرد آن‌ها اختلال ایجاد کند و سبب یک واکنش زنجیره‌ای

از مولکول‌های ناپایدار شوند که با مولکول‌های دیگر واکنش نشان می‌دهند و باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد سمی جدید می‌گردند (Wu et al., 2017).

بین تولید محصولات پراکسیداسیون لیپیدی، یعنی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و سطح آنتی اکسیدان‌های درون‌زا در طول شرایط فیزیولوژیکی، تعادل وجود دارد که برای محافظت از بافت در برابر آسیب اکسیداتیو عمل می‌کنند. اختلال در این تعادل، از طریق افزایش تولید ROS یا کاهش سطح آنتی اکسیدان‌ها، منجر به وضعیتی می‌شود که به آن "استرس اکسیداتیو" گفته می‌شود. بنابراین، ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی، وضعیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی و کاهش محتوای گلوتاتیون در بافت بیولوژیکی همواره به عنوان نشانگر آسیب بافتی و استرس اکسیداتیو استفاده شده است (Guo., 2023).

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها رایج‌ترین راهکار برای درمان عفونت‌های باکتریایی است، اما ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک (متی‌سیلین و وانکومایسین) حتی به یک تهدید بزرگ برای سلامت عمومی تبدیل می‌شود (Lin). (et al., 2021) مصرف روز افزون داروهای شیمیایی روز به روز مشکلاتی حادی از قبیل پدیده خود ایمنی و مقاومت دارویی را بر اثر مصرف مداوم بوجود آورده است. لذا استفاده از داروهای گیاهی که فاقد عوارض جانبی هستند یا عوارض جانبی کمی دارند، برتری قابل ملاحظه‌ای نسبت به داروهای شیمیایی دارد (Rana et al., 2022).

بسیاری از محققین اخیراً به دلیل اهمیت فارماکولوژیکی گسترده گیاهان دارویی، بر روش‌های درمانی مبتنی بر گیاهان برای درمان انواع مشکلات سلامت انسان تمرکز کرده‌اند (Noor et al., 2022). بر اساس اطلاعات علمی موجود، عصاره‌ها و روغن‌های گیاهی به عنوان



درمان های ضد میکروبی و ضد التهابی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته اند (Deciga-campos., 2022). از این رو، خواص ضد میکروبی مشتق شده از گیاهان بسته به گونه، توپوگرافی و آب و هوای کشور مبدا دارای طیف گسترده ای از فعالیت هستند و ممکن است حاوی دسته های مختلفی از مواد فعال مانند پلی فنول ها، کینون ها، فلاونوئیدها، تانن ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و غیره باشند (Shaaban et al., 2024).

از این رو مدیریت بیماری ها توسط گیاهان و مشتقات آنها روز به روز اهمیت بیشتری پیدا می کند. پیشنهاد شده است که آنتی اکسیدان های طبیعی به دست آمده از گیاهان، استرس اکسیداتیو را کاهش می دهند و در نتیجه از اندام ها محافظت می کنند (Al-ghanayem et al., 2022).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها، قرن ها سابقه دارد. امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند اما تخمین زده شده که دست کم یک سوم فرآورده های دارویی منشأ گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته اند (Dong et al., 2023; Zeedan et al., 2024). در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران امکان شناسایی مواد مؤثر گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آنها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در سطح صنعتی وجود دارد. این کار به ویژه در مورد گیاهانی که منحصر به ایران هستند و تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته اند اهمیت ویژه ای دارد.

گیاه ازمک با نام علمی *Lepidium draba L* یکی از گیاهان خانواده شب بو (*Cruciferae*) است. ساقه آن به ۲۰ تا ۶۰ سانتیمتر می رسد و در بالا بسیار منشعب می شود. برگ های پایین آن تخم مرغی و قاشقی شکل می باشند،

برگ های روی ساقه بیضی کشیده تا سرنیزه ای هستند؛ برگ های بهاره آن لطیف تر، طعم تره تیزک یا شاهی دارد و به عنوان سبزی صحرایی جمع آوری و در تغذیه انسان به کار می رود (Jambour et al., 2024). این گیاه در اکثر مزارع و کنار نهرها می روید. این گیاه ریشه های قوی و طویل داشته، سرعت نمو آن زیاد است و هر سال ساقه های قوی تولید می کند؛ تولید دانه نیز در این گیاه زیاد بوده گاهی به دو بار در سال می رسد (Jambour et al., 2024). برگ گیاه ازمک حاوی مقدار زیادی ویتامین C بوده و دارای خاصیت ضد باکتری است همچنین خاصیت ضد انگلی دارد (Jahantab et al., 2023).

برگ گیاه ازمک حاوی مقدار زیادی ویتامین C بوده و دارای خاصیت ضد باکتری است. عصاره حاصل از برگ های گیاه ازمک در درمان ناراحتی های سیستم تنفسی مانند سرفه های سخت و دردناک کاربرد دارد و خاصیت ضد انگلی نیز دارد (Poorbarat et al., 2022). بر اساس گزارش ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، تانن ها، ساپونین ها، لوکوآنتوسیانین ها، تری ترپنوئیدها و فلاونوئیدها مواد تشکیل دهنده ای هستند که در قسمت های هوایی *L. draba* یافت می شوند. سه گلیکوزید فلاونوئید شناخته شده، یعنی رامنوسیتین-۳-O-β-D-گلوکوزید، کمپلاناتوزید و جنکوانین-۴-O-β-D-گلوکوزید، از تمام قسمت های *L. draba* جدا شده اند. در مطالعه انجام شده توسط پوربرات و همکاران در سال ۲۰۲۲ اثرات آنتی اکسیدانی گیاه ازمک در موش های آزمایشگاهی گزارش داده شد (Poorbarat et al., 2022).

از راهبردهای امیدوارکننده جهت غلبه بر مقاومت میکروبی و عوارض جانبی آنها در بافتها هدفمند کردن روش های درمانی و استفاده از نانوحامل هاست (Feng



(et al., 2022). در طی چندین دهه گذشته بسیاری از محققان توجه خود را به توسعه داروهای ایده‌ال که به طور اختصاصی ناحیه عمل را هدف قرار دهند، معطوف کرده‌اند، چرا که بیشتر داروهای زیستی و شیمیایی در فاز بالینی به دلیل نداشتن توانایی دستیابی به ناحیه عمل هدف، رد می‌شوند (Hajizadeh et al., 2024). تاکنون بسیاری از نانو مواد، ترکیبات آلی و معدنی به عنوان حامل ترکیبات زیست فعال برای پیشبرد روش‌های موثر در افزایش زیست فراهمی این ترکیبات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برخی از نانوحامل‌های مورد استفاده در این حوزه شامل نانولیپوزوم، نانوامولسیون، نانونیوزوم، نانوفیتوزوم، نانوذرات لیپیدی جامد، نانوحامل‌های لیپیدی و نانو کیتوزان می‌باشند و در دو دهه گذشته تحقیقات روی نانوذرات کیتوزان گسترش یافته و برای کاربردهای دارویی مختلف مورد توجه قرار گرفته است (Al-Fatlawi et al., 2024).

کیتوزان یک آمینو پلی ساکارید خطی ترکیبی و کاتیونی است که با ویژگی‌های سودمند زیستی از قبیل زیست سازگاری، زیست تخریب‌پذیری، پایداری بهتر، سمیت کم، روش‌های آماده‌سازی ساده و ملایم و ارایه راهکارهای متنوع برای انتقال دارو، اتصال اجزاء هدفدار به سطح نانوذرات بارگیری شده با دارو، چسبندگی مخاطی ذاتی و توانایی تعدیل یکپارچگی اتصالات سخت اپیتلیال به‌طور برگشت‌پذیر مورد توجه قرار گرفته است (Hassanen et al 2024 ; khodadadi etal 2025).

از این رو، با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده برای بسیاری از باکتری‌ها و از سویی اهمیت درمانی گیاهان و استفاده از نانو تکنولوژی جهت هدفمند کردن درمان‌ها، در این مطالعه برای اولین بار، اثر نانو کیتوزان حامل عصاره گیاه از مک بر سطح آنتی اکسیدانی و

پراکسیداسیون لیپیدی موش آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد.

### مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشگاه شهید بهشتی تهیه و به حیوان‌خانه‌ی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه علوم و تحقیقات انتقال داده شدند، به منظور سازش با محیط آزمایشگاه به مدت یک هفته و پیش از شروع آزمایشات موش‌ها بدون محدودیت در دسترسی به آب و غذا در در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با درجه حرارت  $22 \pm 3$  سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در حیوانخانه نگهداری شدند و آزمایش‌ها در بازه‌ی زمانی مشخصی (ساعت ۹ تا ۱۲ ظهر) منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و اصول اخلاقی مورد تایید دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام شد (IR.IAU.CTB.REC.1403.339).

### گروه‌بندی حیوانات

۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) به طور تصادفی در ۳ گروه هفت‌تایی گروه‌بندی شدند.

گروه کنترل: دریافت‌کننده آب و مواد غذایی به صورت روزانه

گروه دوم: موش‌های دریافت‌کننده *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^8$  CFU/ml) (Arkia et al., 2022).

گروه دریافت‌کننده نانو کیتوزان (۱ میلی لیتر) (Al-Fatlawi et al., 2024).

گروه سوم: موش‌های دریافت‌کننده *استافیلوکوکوس اورئوس* ( $10^8$  CFU/ml) + نانو کیتوزان حامل عصاره از مک ( $200$  mg/kg) (Wang et al., 2021).



متوالی، یک سی سی به هر موش خورانده شد (Tabaei et al., 2016).

### تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه ازمک

گیاه ازمک از بانک گیاهی مرکز ذخایر زیستی ایران تهیه شد. برای تهیه عصاره، گیاه ازمک را ابتدا در جریان هوا قرار داده، سپس در سایه کاملاً خشک و با آسیاب پودر گردید. از پودر تهیه شده برای عصاره گیری به روش سوکسله استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ گرم از پودر گیاه ازمک به ۵۰۰ میلی لیتر حلال اتانول اضافه گردید. عصاره گیری به مدت ۱۲ ساعت صورت گرفت. پودر جامد بدست آمده توسط آب مقطر دو بار تقطیر به حجم رسانیده شد و عصاره تهیه شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده، نگهداری شد (Wang et al., 2021).

### تهیه کیتوزان های حاوی عصاره گیاه ازمک

از روش ژل شدن یونی جهت تهیه نانوذرات کیتوزان استفاده خواهد شد. کیتوزان با میانگین وزن مولکولی ۳۰ کیلودالتون و ۸۵٪ داسیتالسیون با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر در اسید استیک ۳٪ (pH=۴) حل و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق بر روی همزن برقی با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده خواهد شد تا محلول یکنواخت و شفاف ایجاد شود. سپس نمونه به مدت ۵ دقیقه سونیکه شده و pH نهایی آن با افزودن سود یک مولار بر روی ۶ تنظیم خواهد شد. سپس نمونه مورد نظر با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول شفاف رویی حاوی نانوکیتوزان جدا سازی خواهد شد. نمونه حاوی نانو کیتوزان با استفاده از دستگاه الیوفالیزر پودر و جهت ارزیابی های فیزیکوشیمیایی استفاده خواهد شد (Tabaei et al., 2016).

### مشخصه یابی نانوکیتوزان حامل عصاره

القا آلودگی با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت  $10^8$  CFU/ml به صورت تک دوز و با تزریق درون صفاقی، نانوکیتوزان و نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک از طریق گاوژ به موش های صحرایی داده شد. جهت یکسان بودن شرایط موش ها در طول دوره تیمار (۳۰ روز)، به گروه اول و دوم نیز روزانه، مقدار کمی از آب به صورت گاوژ داده شد.

### تهیه گیاه ازمک

گیاه ازمک از بانک گیاهی مرکز ذخایر زیستی ایران تهیه شد.

### تهیه و تایید سویه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

سویه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC25923 از آزمایشگاه استاندارد ایران تهیه و جهت شناسایی نمونه های باکتری از تست های استاندارد شامل رنگ آمیزی گرم، کاتالاز و کوآگولاز لوله ای و رشد در مانیتول سالت آگار استفاده شد (Liang et al., 2024).

### کشت باکتری

سوش *استافیلوکوکوس اورئوس* تهیه شده بعد از انتقال به آزمایشگاه روی محیط کشت بلاد آگار (مرک، آلمان) پاساژ داده شد. سپس کلنی های حاصل از کشت از نظر میکروسکوپی، ماکروسکوپی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. کلنی های کوآگولاز مثبت، مانیتول مثبت جهت مطالعات بعدی در محیط BHI در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۳ دقیقه رسوب گیری شد. در مرحله آخر رسوبات در نیم مک فارلند PBS حل شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومتر جذب نور اندازه گیری شد. با توجه به جذب  $OD_{630} = 0.5$  نانومتر هر لوله حاوی  $1 \times 10^8$  CFU/ml باکتری است. محلول باکتری در آمپول ۲ میلی لیتری ریخته شد و طی سه روز



### تعیین اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا

استفاده از ابزار DLS و اندازه گیری پتانسیل زتا به ما امکان می دهد قطر هیدرودینامیکی و بار سطحی نانوذرات تعیین شود. محدوده توزیع اندازه ذرات و هم چنین پیک اندازه ذرات با استفاده از دستگاه تفرق دینامیکی نور DLS تعیین می شود که بدین منظور از دستگاه نانوسایزر Instruments Brookhaven Corp استفاده گردید. DLS تکنیکی است که از روش های سریع و غیر مخرب برای اندازه گیری غلظت ذرات در سوسپانسیون ها استفاده می کند. این روش با تجزیه و تحلیل تغییرات در پراکندگی نور ناشی از نانوذرات در طول زمان، اندازه ذرات را از چند نانومتر تا میکرومتر اندازه گیری می کند (Ciftci et al., 2024). میزان بار سطحی و پتانسیل زتا نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه از مک نیز با استفاده از دستگاه زتاسایزر شرکت Instruments Brookhaven Corp در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. برای تعیین بار سطحی به ۱۵۰۰ میکرولیتر با غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر نیاز است و تفرق دینامیک نور در طول موج ۶۳۳ نانومتر اندازه گیری می شود (Vaezifar and Molaei 2019).

### سنجش مارکرهای استرس اکسیداتیو

پس از یک دوره تیمار ۳۰ روزه با رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه آزاد واحد تهران مرکزی (IR.IAU.CTB.REC.1403.399) حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین-زایلازین ۱٪ آسان کشی شده و نمونه برداری از بافت کبد جهت سنجش سطح سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، سطح مالون دی آلدئید و کاتالاز انجام شد. کیت های مربوطه جهت سنجش، از شرکت پارس آزمون (۴۸ تستی با برند Zellbii-GmbH) خریداری گردید.

### سنجش سطح آنتی اکسیدان تام

ابتدا مقداری از بافت کبد را با یک میلی لیتر محلول بافر فسفات سدیم به همراه ۱۰۰ میلی گرم گلدوس به داخل میکروتیوپ ریخته و محلول حاصل به مدت ۸ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی را جدا کرده و جهت اندازه گیری جذب نمونه ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر استفاده شد (Fatima et al., 2021).

### سنجش فعالیت کاتالاز

حجم اندکی از نمونه در ۱ میلی لیتر مخلوط حاوی پراکسید هیدروژن ۶۵ میلی مولار در ۶۰ میلی مولار بافر فسفات با pH برابر با ۷/۴ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۴ دقیقه در گرم خانه قرار داده شد. میزان فعالیت کاتالاز و جذب نمونه ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر اندازه گیری شد (Luhova et al., 2003).

### اندازه گیری گلوکاتایون پراکسیداز

حجمی از بافت کبد با یک میلی لیتر بافر فسفات با  $pH = (4/7)$  مخلوط شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و از مایع رویی جهت جذب نمونه ها، در طول موج ۳۴۰ نانومتر استفاده شد (Pourbabaki et al., 2021).

### سنجش فعالیت سوپراکسید دسموتاز

ابتدا حجمی از بافت کبد جدا شده با بافر فسفات سالین ۵۰ میلی مولار  $pH = (4/7)$  هموزن شد. ۶۵ میکرولیتر بافر فسفات سالین  $pH = (4/7)$ ، ۳۰ میکرولیتر MTT به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۷۵/۰ میکرومول با ۱۰ میکرولیتر هموزن بافتی مخلوط شده به ۷۵ میکرولیتر پیروگالل ۱۰۰، میکرولیتر دی متیل سولفو کسید اضافه گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا خوانده شد (Sincihu et al., 2023).



## سنجش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد

۳۷۵ میلی گرم تیوباریتوریک اسید در ۲ میلی لیتر اسید کلریدریک حل شده و به ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۱۵ درصدی تری کلرواستیک اسید اضافه شد، جهت حل شدن کامل رسوبات محلول تهیه شده از حمام آب ۵۰ درجه سانتی گراد استفاده گردید. سپس بافت مورد نظر توزین و بلافاصله با محلول کلرید پتاسیم ۱/۵٪ هموژن گردید تا یک مخلوط هموژن ۱۰٪ بدست آید. سپس ۱ میلی لیتر از مخلوط هموژن بافتی با ۲ میلی لیتر از محلول تهیه شده مخلوط و به مدت ۴۵ دقیقه در آب در حال جوش حرارت داده شد (محلول به رنگ نارنجی صورتی). بعد از خنک شدن، به مدت ده دقیقه با دور ۱۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید و در نهایت، اندازه گیری جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Rami et al., 2018).

## تحلیل داده ها

بررسی توزیع طبیعی داده ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف انجام گرفت ( $P > 0.05$ ). و نتایج حاصل از این پژوهش براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار و تحلیل داده های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۶ (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) و آزمون آماری واریانس یک طرفه، تست توکی انجام و اختلاف معنادار بین گروه ها ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

## نتایج

### تجزیه و تحلیل DLS

قطر هیدرودینامیکی نانوکیتوزان سنتز شده با استفاده از آنالیز DLS تعیین شد. نمودار DLS در شکل ۱ نشان داده

شده است. تجزیه و تحلیل نتایج DLS نشان داد که اندازه نانوکیتوزان سنتز شده تقریباً ۱۷۰/۲ نانومتر است.

### تحلیل پتانسیل زتا

بار سطحی نانوکیتوزان تشکیل شده با پتانسیل زتا نشان داده می شود. بار سطحی نانوکیتوزان نقش مهمی در حذف یا تجمع آنها و همچنین پایداری آنها دارد. اگر بار سطحی زیاد باشد (مثبت یا منفی)، نانوذرات یکدیگر را دفع خواهند کرد. مطابق شکل ۲، نانوکیتوزان سنتز شده از عصاره بار سطحی منفی داشتند (پتانسیل زتا ۳۵/۴ میلی ولت). مطالعات قبلی گزارش داده اند که نانوکیتوزان نقره پتانسیل زتا منفی را نشان می دهند. با تحلیل پتانسیل زتا می توان نتیجه گرفت که بار الکتریکی روی سطح نانوکیتوزان می تواند نیروی دافعه قوی بین آنها ایجاد کند که در نتیجه تجمع نانوذرات را کاهش می دهد.

نمودار گستره ی اندازه ی ذرات و ریخت شناسی نمونه های نانوکیتوزان و نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل به ترتیب در شکل ۱ الف و ب نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود، میانگین اندازه ی نانوذرات کیتوزان بدون عصاره حدود ۱۷۰/۲ نانومتر و میانگین اندازه ی نانوذرات کیتوزان حاوی عصاره حدود ۱۱۸/۱ نانومتر بود. اندازه ی نانوذرات کیتوزان سنتز شده در این پژوهش با دیگر مطالعات انجام گرفته در این رابطه مطابقت دارد. همچنین، از مقایسه ی اندازه ی نانوذرات کیتوزان قبل از بارگذاری دارو (۱۷۰/۲ نانومتر) و پس از بارگذاری دارو (۱۱۸/۱ نانومتر)، می توان نتیجه گرفت که میانگین اندازه ی ذرات پس از بارگذاری عصاره اندکی افزایش یافته است.

برای بررسی پایداری نانوذرات کیتوزان در کلونید، آزمون پتانسیل زتا انجام گرفت. نمودار توزیع بار سطحی نانوذرات کیتوزان در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار بار سطحی نانوذرات کیتوزان ۳۵/۳ میلی ولت به دست



## بحث

از عوامل مهم مرگ و میر در محیط‌های بیمارستانی عفونت‌های باکتریایی هستند، درمان‌های رایج آنتی-بیوتیکی میکروب‌های مفید را از بین برده و منجر به ماندگاری سویه‌های مقاوم شوند. همچنین باکتری می‌تواند وارد گردش خون شود و موجب بروز سپتی سمی گردد که در این صورت درصد مرگ و میر بالاست (Taha et al., 2024).

در این پژوهش تاثیر نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک بر تغییرات سطح آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش صحرایی آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شد.

در گروه‌های دریافت کننده باکتری، کاهش سطح فعالیت آنتی‌اکسیدان تام، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و افزایش مالون دی آلدید در مقایسه با گروه کنترل نشان داده شد.

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۳ توسط Guo و همکاران گزارش داده شده که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* سبب کاهش سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و افزایش سطح مالون دی آلدید در بافت کبدی گروه‌های دریافت کننده باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و آلوده+ دریافت کننده نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری نشان داده شد ( $P<0/01$ ).

همچنین در سال ۲۰۲۳، Merghni و همکاران بر هم خوردن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز و افزایش مالون دی آلدید را در موش‌های صحرایی آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* را مشاهده شد (Merghni et al., 2023). که نتایج این مطالعه نیز همسو با مطالعات پیشین است.

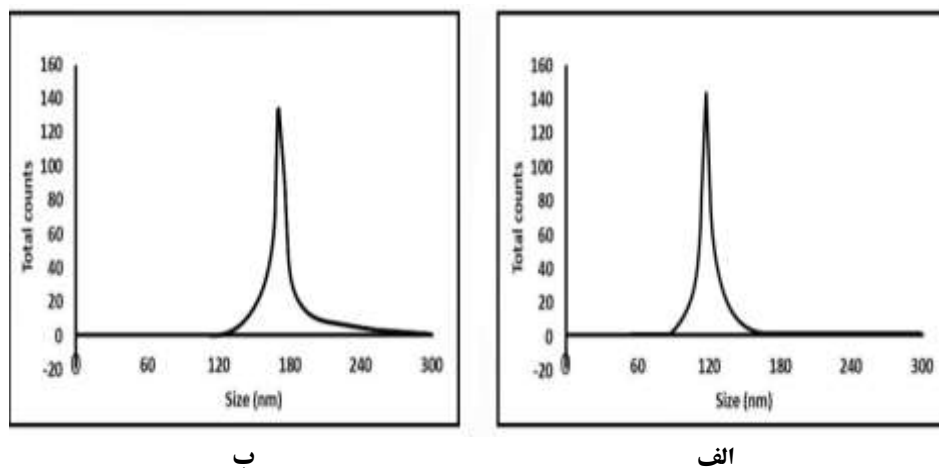
آمده است که پایداری به نسبت خوب ذرات کلونیدی را نشان می‌دهد. بار سطحی بالای نانوذرات با افزایش نیروی دافعه ی بین ذرات، از به هم چسبیدن آنها جلوگیری کرده و سبب افزایش پایداری و زمان نگهداری آنها می‌شود. پس از سنتز نانوذرات کیتوزان و بارگذاری عصاره، پتانسیل زتا روی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره انجام شد که نتیجه ی آن در شکل ۲ب نشان داده شده است. بار سطحی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره نیز ۳۱/۴ میلی‌ولت گزارش شده است که نشان از پایداری ذرات کلونیدی حامل عصاره دارد. همچنین، از مقایسه ی پتانسیل زتای نانوذرات کیتوزان حامل عصاره با نانوذرات کیتوزان بدون عصاره، می‌توان نتیجه گرفت که با اضافه شدن عصاره به نانوذرات، پتانسیل زتای آنها تغییر چندانی نداشته و نانوذرات همچنان پایدار باقی مانده است.

نمودار ۱ (الف تا د) تغییرات سطح شاخص‌های استرس اکسیداتیو سنجیده شده در این تحقیق را نشان می‌دهد. کاهش سطح آنتی‌اکسیدان تام، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و نمودار ۲ افزایش سطح مالون دی آلدید در بافت کبدی گروه‌های دریافت کننده باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و آلوده+ دریافت کننده نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری نشان داده شد ( $P<0/01$ ).

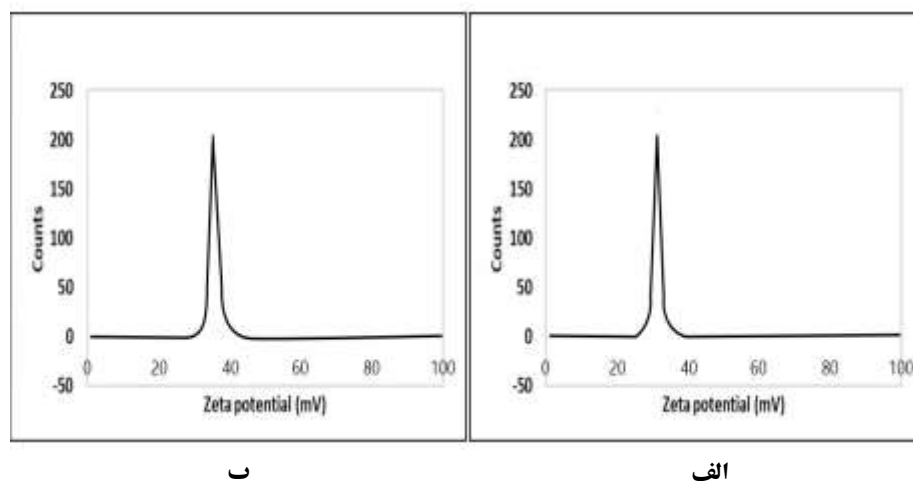
در حالیکه در گروه آلوده تیمار شده با نانوکیتوزان حامل دانه گرده، افزایش سطح آنتی‌اکسیدان تام، گلوتاتیون-پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و کاهش سطح مالون دی آلدید بافت کبدی در مقایسه با گروه آلوده معنادار مشاهده شد ( $P<0/05$ ).



تاثیر نانوکیتوزان حامل عصاره از مک بر سطح آنتی اکسیدان ها..... (سینائی و همکاران) ..... ۵۷.



شکل ۱. نمودار گسری اندازه ذرات و ریخت شناسی نمونه ها: الف) نانوذرات کیتوزان با متوسط اندازه ۱۸۱ نانومتر، ب) نانوکیتوزان حامل عصاره با متوسط اندازه ۱۷۰/۲ نانومتر



شکل ۲. نمودار پتانسیل زتای نمونه ها، الف: پتانسیل زتای نانوکیتوزان حامل عصاره (۳۱/۴ میلی ولت) ب) پتانسیل زتای نانوکیتوزان (۳۵/۳)،

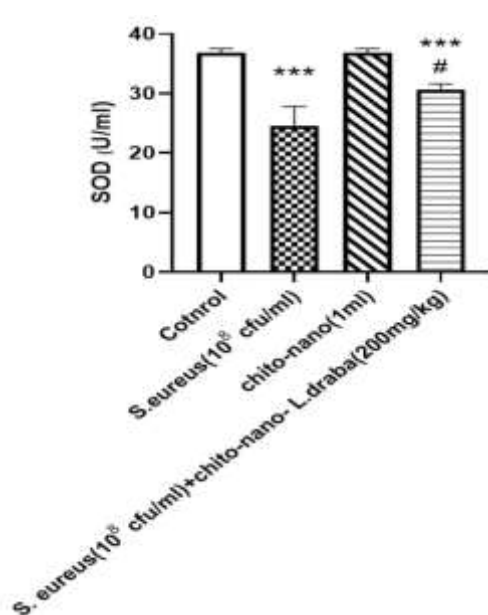
در نتیجه منجر به پراکسید هیدروژن می شود که در نهایت توسط GPx و کاتالاز خنثی می شود

(Abdelrazzak and Ramadan 2024).

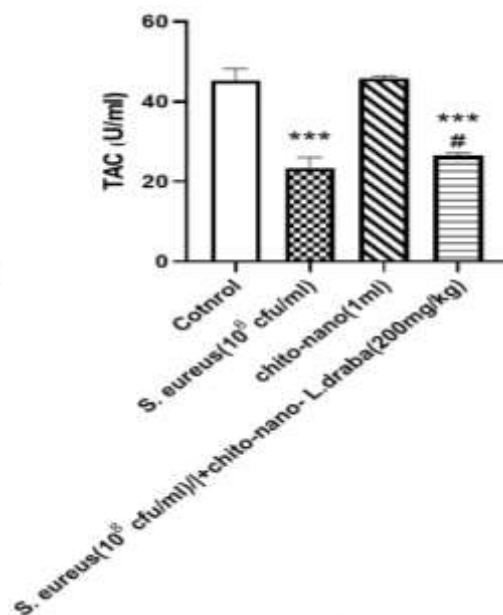
در مطالعه حاضر افزایش معنی داری در محصولات پراکسیداسیون لیپیدی با کاهش معنی داری در سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند SOD، کاتالاز، GPx، GST، GR در گروه آلوده به باکتری مشاهده شد که با مطالعات پیشین نیز همسو می باشد.

پراکسیداسیون لیپیدی می تواند باعث تغییراتی در سیالیت و نفوذپذیری غشا و افزایش سرعت تخریب پروتئین شود که در نهایت منجر به لیز سلولی می شود. به خوبی پذیرفته شده است که پاک کننده های رادیکال های آزاد مانند SOD، CAT و GSH و آنزیم های تنظیم کننده متابولیسم مانند GPx، GR و GST می توانند از سیستم سلولی در برابر اثرات مضر رادیکال های آزاد محافظت کنند (Eleyan et al., 2024).

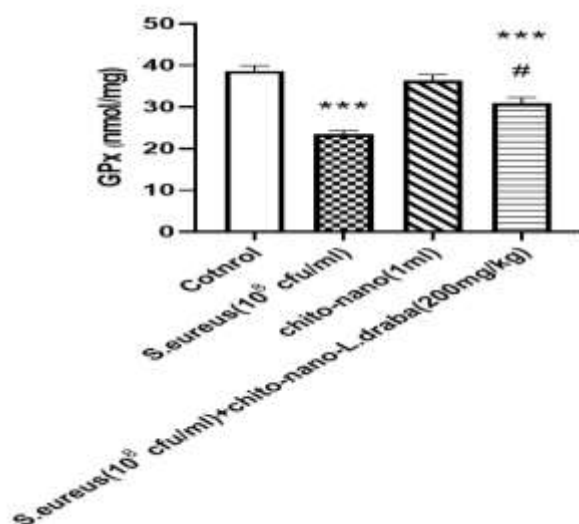
SOD به عنوان آنزیم آنتی اکسیدانی خط اول دفاعی نقش مهمی در تغییر موازات سوپراکسید ایفا می کند و



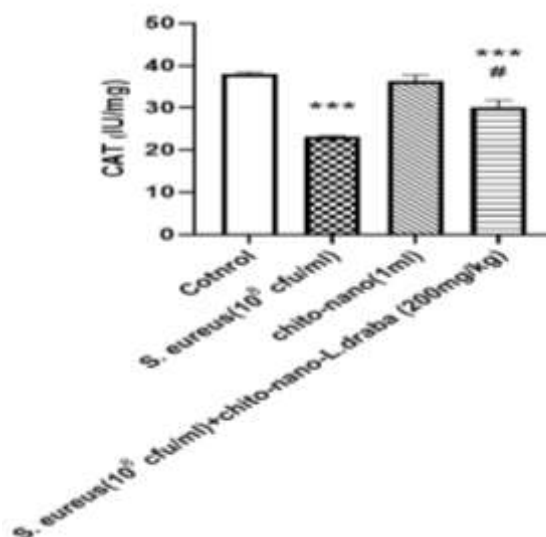
ب



الف



د



ج

نمودار ۱. مقایسه سطح آنتی اکسیدان‌های بافت کبدی، الف: سطح آنتی اکسیدان تام ب: سوپراکسید دیسموتاز ج: گلوکاتیون پراکسیداز د: کاتالاز در گروه‌های مختلف آزمایش (نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار؛ \*\*\* $P < 0.001$  مقایسه با گروه کنترل؛ #  $P < 0.05$  مقایسه با گروه آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس)

متابولیسم مانند GSH-Px، GR و GST می‌توانند از سیستم سلولی در برابر اثرات مضر رادیکال‌های آزاد محافظت کنند (Eleyan et al., 2024). SOD به عنوان آنزیم آنتی اکسیدانی خط اول دفاعی نقش مهمی در تغییر موازات سوپراکسید ایفا می‌کند و

پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند باعث تغییراتی در سیالیت و نفوذپذیری غشا و افزایش سرعت تخریب پروتئین شود که در نهایت منجر به لیز سلولی می‌شود. به خوبی پذیرفته شده است که پاک‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد مانند SOD، CAT و GSH و آنزیم‌های تنظیم‌کننده

در نتیجه منجر به پراکسید هیدروژن می شود که در نهایت توسط GPx و کاتالاز خنثی می شود (Abdelrazzak and Ramadan 2024).

در مطالعه حاضر افزایش معنی داری در محصولات پراکسیداسیون لیپیدی با کاهش معنی داری در سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند SOD، کاتالاز، GPx، GST، GR در گروه آلوده به باکتری مشاهده شد که با مطالعات پیشین نیز همسو می باشد. محتوای آنتی اکسیدان باعث کاهش گلوتاتیون در کبد موش های صحرایی مسموم با استافیلوکوکوس اورئوس می شود. کاهش سطح فعالیت SOD، کاتالاز و GPx نشان دهنده تجمع یون های سوپراکسید و همچنین یون های پراکسید هیدروژن است که ممکن است منجر به افزایش مشاهده شده در محصولات پراکسیداسیون لیپیدی در کبد موش های مسموم با استافیلوکوکوس اورئوس شود (Alfei et al., 2024).

علاوه بر این، تغییرات در متابولیسم گلوتاتیون در موش های تزریق شده با استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. گلوتاتیون ردوکتاز یک دفاع شناخته شده در برابر استرس اکسیداتیو است که به نوبه خود به گلوتاتیون به عنوان کوفاکتور نیاز دارد. مشخص شده است که GSH نقش مهمی در دفاع سلول های کبدی در برابر ROS، رادیکال های آزاد و متابولیت های الکتروفیل ایفا می کند (Gao et al., 2021).

از این رو، کاهش شدید GSH سلول ها را در برابر اکسیداتیو آسیب پذیرتر می کند، آسیب توسط رادیکال ها و افزایش تیولاسیون پروتئین یا اکسیداسیون گروه های SH کاهش در محتوای گلوتاتیون، کاهش یافته ممکن است منعکس کننده سطوح کاهش یافته فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در کبد موش های آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس باشد.

مطابق با نتایج ما، قبلاً پیشنهاد شده بود که عفونت استافیلوکوکوس اورئوس منجر به افزایش سطح واسطه های اکسیژن فعال با کاهش محتوای گلوتاتیون می شود (Xiang et al., 2018).

همچنین مشهود است که افزایش رادیکال های آزاد ساختار اندام های حیاتی را تغییر می دهد و همچنین مانند DNA به ماکرومولکول ها حمله می کند و در نتیجه تکه تکه شدن DNA را افزایش می دهد.

به طور مداوم، تغییرات بافتی همانطور که مشهود بود وجود داشت.

با بی نظمی سلول های کبدی همراه با هیپر تروفی سلول های کبدی مرکز لوبولار و همچنین افزایش قابل توجهی در نرخ قطعه قطعه شدن DNA در موش های آلوده به باکتری مشاهده شد که نشان دهنده آسیب DNA در کبد است.

در واقع عفونت های باکتریایی با تولید بیش از حد رادیکال های آزاد باعث برهم زدن تعادل سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی اکسیدانی و آنتی اکسیدانی شده که تولید این مولکول ها سبب تخریب مولکول های زیستی و در نهایت آسیب به بافت های مختلف می شود (Prasad et al., 2011; Wu et al., 2017).

در بخش دیگر این پژوهش، نشان داده شد، در گروه تیمار سطح آنتی اکسیدان ها در بافت کبد در مقایسه با گروه آلوده افزایش و میزان مالون دی آلدئید کاهش معناداری رانشان داد.

خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ترکیبات فنلی در گونه های لپیدوم در چندین مطالعه گزارش شده است. تعداد معینی از مشتقات کوئرستین، کامفرول و ایزورامنتین، گلیکوزید کوئرستین (کوئرستین-۷،۳- دی-O-گلیکوزید و فلاونولیکان مشتق شده از گیاه نیز گزارش داده شده است که می توانند منجر به مهار تولید



نیتريت در سلول ها، فعاليت‌هاى ضد التهابى در ماکروفاژهاى و همچنين در سنجش‌هاى آنتى اکسيدانى کاهنده آهن عمل کنند.

در مطالعه انجام شده توسط فنگ و همکاران در سال ۲۰۲۲ اثرات محافظتى عصاره ازمک بر روى کبد و کليه در برابر سميت اکسى متولون نشان داده شد که عصاره فعاليت گلوتاتیون ردوکتاز را افزايش داد (GSR)، SOD، CAT، پراکسیداز (POD) و گلوتاتیون-S-ترانسفراز (GST)، در حالى که کل را افزايش مى دهد. ظرفيت آنتى اکسيدانى و کاهش سطح ترکيبات واکنش دهنده با تيوباريتوريک اسيد (TBARS) بافتى در بافت کبد و کليه (Feng et al., 2022).

يکى از دلایل تاثير نانو کیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک خنثى کردن گونه هاى باز فعال اکسيژن و حذف رادیکال‌هاى آزاد بود که منجر به افزايش سوپر اکسيد ديسموتاز و کاهش مالون دى الدهيد مى شود.

بسيارى از محققان دريافتند که پلى فل‌ها، آنتى اکسيدان-هاى با خواص ردوکس هستند که به آن‌ها اجازه مى دهد به عنوان عوامل کاهنده، اهدا کننده هيدروژن و خاموش کننده‌هاى اکسيژن منفرد عمل کنند. پلى فل‌ها همچنين داراى خواص کيلاسيون فلزى هستند که مى توانند به فلزات متصل شوند (کلاتاسيون فلزات) و با رادیکال‌هاى آزاد و مواد سمى ژنتيکى يا سرطان زا واکنش نشان دهند (Xiao et al., 2024).

### نتيجه گيرى

با توجه به بررسى‌هاى انجام شده و ارزيابى نتايج به دست آمده در اين مطالعه مى توان تصور نمود نانو کیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک احتمالاً به دليل دارا بودن ترکيبات متنوع با خاصيت آنتى اکسيدانى قوى، سطح آنتى اکسيدان‌هاى مالون دى الدهيد در بافت کبد موش-هاى عفونى شده با باکترى *استافيلوکوکوس اورئوس*

برکبد موش‌هاى صحرایى نر را تعديل کرده و با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش فعاليت آنتى اکسيدانى در گير در مکانيسم اکسيدانى مى تواند در مدیریت و درمان آسیب‌هاى ناشى از عفونت باکترى *استافيلوکوکوس اورئوس* استفاده شود.

اثرات محافظتى قابل توجهى در برابر آسیب کبدى ناشى از عفونت باکتریایى *استافيلوکوکوس اورئوس* از طريق افزايش گلوتاتیون، کاهش مالون دى آلدئيد و گونه‌هاى اکسيژن فعال بدون هيچ نشانه‌اى از سميت آشکار ارائه مى کنند. در نتيجه احتمالاً، نانو کیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک را مى توان به عنوان فيتوکميکال‌هاى اميدوارکننده براى محافظت از کبد در برابر سميت هاى مختلف از جمله عفونت هاى باکتریایى در نظر گرفت. مطالعات جامع ترى بايد براى بررسى پتانسيل محافظت از کبد ازمک انجام شود.

### تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از همکارى مجتمع آزمایشگاهى زیست شناسى دانشگاه آزاد اسلامى واحد علوم و تحقيقات قدردانى مى کند.

### تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام مى دارند که هيچ گونه تعارض منافع ندارند.

### ملاحظات اخلاقى

مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامى واحد علوم و تحقيقات انجام گرفته است و سعى شده که تمام موازين اخلاقى کار با حيوان مورد توجه باشد و الزامات معاهده هلسينكى رعايت گردد (IR.IAU.SRB.REC.1403.339).

### منابع

1. Abdelrazzak, A.B., Ramadan, L.M. (2024). Markers of oxidative stress and inflammation increase in the lung and liver of partially irradiated



- 1277.doi : 10.1007/978-3-031-43105-0\_136.
7. Ciftci, H., Er Caliskan, C., Yazici, B., Tekcan, A., Ozturk, K. (2024). Investigation of the Effect of Silver Nanoparticles Obtained from *Primula Vulgaris* Extracts by Applying the Green Synthesis Method on MCF-7 Cells'. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **43(7)**: 2556-2571. doi: 10.30492/ijcce.2024.2001893.602.
8. Déciga-Campos, M., Ventura-Martínez, R., González-Trujano, ME., Silveira, D. (2022). Pharmacological interaction between drugs and medicinal plants. *Frontiers in Pharmacology*, **13**:1081090. doi: 10.3389/fphar.2022.1081090.
9. Dong, J., Na, Y., Hou, A., Zhang, S., Yu, H., Zheng, S., Lan, W., Yang, L. (2023). A review of the botany, ethnopharmacology, phytochemistry, analysis method and quality control, processing methods, pharmacological effects, pharmacokinetics and toxicity of *codonopsis radix*. *Frontiers in Pharmacology*, **14**:1162036. doi: 10.3389/fphar.2023.1162036.
10. Eleyan, M., Zughbur, M.R., Hussien, M., Ayesh, B.M., Ibrahim, K.A.( 2024). Carvacrol modulates antioxidant enzymes, DNA integrity, and apoptotic markers in zearalenone-exposed fetal rat liver. *Drug and Chemical Toxicology*, **13**:1-10. doi: 10.1080/01480545.2024.2425984.
11. Fatima, N., Sheikh, N., Satoskar, A.R., et al.(2021). Effect of Short-Term Tacrolimus Exposure on Rat Liver, An Insight into Serum Antioxidant Status, Liver Lipid Peroxidation, and Inflammation. *Mediators Inflamm*, **2021**:6613786. doi:10.1155/2021/6613786.
- rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, **11(1)**:412-23. doi.org/10.1080/2314808X.2024.2352676
2. Arkia, S., Arasteh, J., Hesampour, A., Israfil, A. Synergistic effect of vancomycin and interferon-gamma-loaded chitosan nanogels on TNF- $\alpha$  gene expression in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) -infected mice. *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*, **4:8(1)** : 42-57.
3. Al-Fatlawi, I.N., Pouresmaeil, V., Davoodi-Dehaghani, F., Pouresmaeil, A., Akhtari, A., Tabrizi, M.H.( 2024). Effects of solid lipid nanocarrier containing methyl urolithin A by coating folate-bound chitosan and evaluation of its anti-cancer activity. *BMC biotechnology*, **24(1)**:18. doi.org/10.1186/s12896-024-00845-6.
4. Alfei, S., Schito, G.C., Schito, A.M., Zuccari, G.(2024). Reactive oxygen species (ROS)-mediated antibacterial oxidative therapies, available methods to generate ROS and a novel option proposal. *International Journal of Molecular Sciences*, **25(13)**:7182. doi: 10.3390/ijms25137182.
5. Al-Ghanayem, A.A., Alhussaini, M.S., Asad, M., Joseph, B.( 2022). Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on excision wound infections in rats. antioxidant, antimicrobial, and gene expression analysis. *Molecules*, **27(14)**:4481. doi: 10.3390/molecules27144481.
6. Benaicha, S., Bussmann, R.W., Elachouri, M.( 2024). *Lepidium draba* L. *Lepidium sativum* L. Brassicaceae, *In Ethnobotany of Northern Africa and Levant*. Cham: Springer Nature Switzerland, 1267-



- Farroh, K.Y. (2025). Oral supplementation of curcumin-encapsulated chitosan nanoconjugates as an innovative strategy for mitigating nickel-mediated hepatorenal toxicity in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 1-6. doi: 10.1007/s00210-025-03799-4.
18. Jahantab, E., Hosseini, S.H., Sadeghi, Z. (2023). Ethnobotanical study of medicinal plants, Fasa County, Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 22(86):88-112. doi: 10.61186/jmp.22.86.88.
19. Jambour, f., Hamedeyazdan, s., Soraya, H. (2024). Cardiotoxicity of hydroalcoholic extract of *Lepidium draba* in isoproterenol-induced heart failure in rats. *Journal of Research in Pharmacy*, 28(2). doi: 10.29228/jrp.712.
20. Khodadadi, M., Jahromi, G.P., Meftahi, G.H., Khodadadi, H., Hadipour, M., Ezami, M. (2024 Oct 30). Crocin nano-chitosan-coated compound mitigates hippocampal blood-brain barrier disruption, anxiety, and cognitive deficits in chronic immobilization stress-induced rats. *Heliyon*, 10;10(20):e39203. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e39203.
21. Liang, H., Wang, Y., Liu, F., Duan, G., Long, J., Jin, Y., Chen, S., Yang, H. (2024). The Application of Rat Models in *Staphylococcus aureus* Infections. *Pathogens*, 21;13(6):434. doi: 10.3390/pathogens13060434.
22. Lin, L., Long, N., Qiu, M., Liu, Y., Sun, F., Dai, M. (2021). The inhibitory efficiencies of geraniol as an anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial, natural agent against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in vivo. *Infection and drug*
12. Feng, J., Gao, H., Yang, L., Xie, Y., El-Kenawy, A.E., El-kott, A.F. (2022). Renoprotective and hepatoprotective activity of *Lepidium draba* L. extracts on oxymetholone-induced oxidative stress in rat. *Journal of Food Biochemistry*, 46(9):e14250. doi: 10.1111/jfbc.14250.
13. Feng, X., Maze, M., Koch, L.G., Britton, S.L., Hellman, J. (2015). Exaggerated acute lung injury and impaired antibacterial defenses during *Staphylococcus aureus* infection in rats with the metabolic syndrome. *PLoS One*, 10(5):e0126906. doi: 10.1371/journal.pone.0126906.
14. Gao, L., Tang, Z., Li, T., Wang, J. (2021). Combination of kaempferol and azithromycin attenuates *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis via anti-biofilm effects and by inhibiting the phosphorylation of ERK1/2 and SAPK. *Pathogens and Disease*, 79(8):ftab048.
15. Guo, X. (2023). Antibacterial and anti-inflammatory effects of genistein in *Staphylococcus aureus* induced osteomyelitis in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 37(4):e23298. doi: 10.1093/femspd/ftab048.
16. Hajizadeh, M., Sarayan, M.S., Taleghani, A., Shafaei, E., Sahebkar, A., Eghbali, S., Nasirizadeh, S. (2024). Evaluation of antimicrobial and antioxidant effects of silver nanoparticles synthesized with leaves of *Lepidium draba* L. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 17(3):101004. doi: 10.1016/j.jrras.2024.101004.
17. Hassanen, E.I., Hassan, N.H., Mehanna, S., Hussien, A.M., Ibrahim, M.A., Mohammed, F.F.,



- K.S., Sarma, P.V. (2011). Protective effects of *Prosopis juliflora* against *Staphylococcus aureus* induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of pharmaceutical and biomedical research*, **22**:172-178.
29. Rami, M., Habibi, A., Khajehlandi, M. (2018). The effect of moderate intensity exercise on the activity of catalase enzyme and malondialdehyde in hippocampus area of diabetic male Wistar rats. *Feyz Medical Sciences Journal*, **22 (6)** :555-563.
30. Rana, A., Kumar, N.R., Kaur, J. (2022). Therapeutic effect of propolis on *Staphylococcus aureus* induced oxidative stress in spleen of Balb/c mice: A biochemical and histopathological study. *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)[Formerly Natural Product Radiance (NPR)]*, **13(3)**:346-55. doi: 10.56042/ijeb.v60i08.54823.
31. Shaaban, M.T., Abdel-Hamid, M.S., Orabi, S.H., Korany, R.M., Elbawab, R.H. (2024). Assessment of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles-based *Artemisia annua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected lung tissues in albino rats. *Journal of Analytical Science and Technology*, **15(1)**:25. doi.org/10.1186/s40543-024-00436-2.
32. Sincihu, Y., Lusno, M.F., Mulyasari, T.M., Elias, S.M., Sudiana, I.K., Kusumastuti, K., Sulistyorini, L., Keman, S. (2023). Wistar rats hippocampal neurons response to blood low-density polyethylene microplastics: a pathway analysis of SOD, CAT, MDA, 8-OHdG expression in hippocampal neurons and blood serum A $\beta$ 42 levels. *Neuropsychiatric disease and resistance*, 2991-3000. doi: 10.2147/IDR.S318989.
23. Luhova, L., Lebeda, A., Hedererova, D., Pec, P. (2003). Activities of amine oxidase, peroxidase and catalase in seedlings of *Pisum sativum* L. under different light conditions. *Plant Soil Environ*, **49(4)**: 151-157. doi: 10.17221/4106-PSE.
24. Merghni, A., Belmamoun, A.R., Urcan, A.C., Bobiş, O., Lassoued, M.A. (2023). 1, 8-Cineol (Eucalyptol) Disrupts Membrane Integrity and Induces Oxidative Stress in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antioxidants*, **6;12(7)**:1388. doi: 10.3390/antiox12071388.
25. Noor, F., Tahir ul Qamar, M., Ashfaq, U.A., Albutti, A., Alwashmi, A.S., Aljasir, M.A. (2022). Network pharmacology approach for medicinal plants: review and assessment. *Pharmaceuticals*, **15(5)**:572. doi: 10.3390/ph15050572.
26. Poorbarat, S., Bibak, B., Mohammadi, A., Keshavarzi, Z., Alesheikh, P., Hoseinzadeh, A., et al. (2022). Evaluation of Anxiolytic Effects of Methanolic Extract of *Lepidium draba* L by Cross-Maze Method in Mice. *North Khorasan University of Medical Sciences*, **14 (2)** :21-27.
27. Pourbabaki, R., Khadem, M., Samiei, S., Amirkhanloo, F., Shahtaheri, S. (2021). Role of rosemary officinalis in the hepatotoxicity induced by Chlorpyrifos sub-chronic exposure in rats. *Iran Occupational Health, Iran Occupational Health Journal*, **18(1)**:75-88. doi:10.52547/ioh.18.1.75
28. Prasad, O.H., Navya, A., Vasu, D., Chiranjeevi, T., Bhaskar, M., Babu,



- reproductive hormones and inflammatory signalling in oxymetholone-treated rat. *Andrologia*, **53(11)**:e14239. doi: 10.1111/and.14239.
37. Wu, D., Zhou ,S., Hu, S., Liu, B.( 2017).Inflammatory responses and histopathological changes in a mouse model of Staphylococcus aureus-induced bloodstream infections. *The Journal of Infection in Developing Countries*, **30;11(4)**:294-305. doi: 10.3855/jidc.7800.
38. Xiang ,Y., Haixia ,W., Lijuan ,M., Yanduo ,T. (2018) .Isolation, purification and identification of antioxidants from *Lepidium latifolium* extracts. *Medicinal Chemistry Research*, **27**:37-45.
39. Xiao, P., Ma , H., Kuang, C., Wang ,W.( 2024). Hydroalcoholic extract of *lepidium draba* l. ameliorates capecitabine -induced enterocolitis in rats. *Journal of animal & plant sciences*,**34(4)**: 999-1011 . doi:10.36899/japs.2024.4.0782.
40. Zeedan, GS., El-Aziz, A., Tamer, H., Sedky, D., Mohamed, A., Abdalhamed, A.M., Abdel-Aziem ,S., Khafagi, M., Nasr, S.M. (2024 ). In Vivo Investigation of the Anti-Staphylococcus aureus Impact of *Balanites aegyptiaca* and *Curcuma longa* Ethanol Extracts on Apoptotic Gene Expression and Their Implications on Hemogram and Serum Protein Profiles. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, **10(1)**: 169-176.doi:10.17582/journal.aavs/2022/10.1.160.169.
- treatment, **5**:19:73-83. doi: 10.2147/NDT.S396556.
33. Tabaei, S., Kouhi Noghondar, M., Mohammadzadeh, M.,Ataei ,L., Amel Jamehdar, S. (2016) .Pattern of antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens. *Imam Reza hospital in Mashhad. Medical Journal of Mashhad university of Medical Sciences*, **59(2)**: 64-70. doi:10.22038/mjms.2016.7328.
34. Taha, S.M., Abd El-Aziz, N.K., Abdelkhalek, A., Pet ,I., Ahmadi, M., El-Nabtity ,S.M. (2024). Chitosan-Loaded *Lagenaria siceraria* and *Thymus vulgaris* Potentiate Antibacterial, Antioxidant, and Immunomodulatory Activities against Extensive Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*: *In Vitro and In Vivo Approaches*. *Antioxidants*, **30;13(4)**:428. doi: 10.3390/antiox13040428.
35. Vaezifar, S., Molaei, M.( 2019). Preparation and Characterization of Drug-Delivery System of Chitosan Nanoparticles Containing Doxorubicin for Use in the Treatment of Breast Cancer. *Journal of Isfahan Medical School*, **37(541)**: 1047-1053.doi: 10.22122/jims.v37i541.12118.
36. Wang ,Y., Bai ,L., Li, H., Yang, W., Li, M.( 2021). Protective effects of *Lepidium draba* L. leaves extract on testis histopathology, oxidative stress indicators, serum



## Effect of nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract on antioxidant levels and lipid peroxidation in liver tissue of rat infected with *Staphylococcus aureus*

Anahita Sinaei<sup>1</sup>, Zahra Keshtmand<sup>\*2</sup>, Morteza Mohajeri Amiri<sup>1</sup>

1. Department of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Biology, C.TC., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 09 March 2025

Accepted: 07 October 2025

---

### Abstract

The biocompatibility, biodegradability, antibacterial and non-toxic properties of nanochitosan and the use of plant compounds with antibacterial properties have been considered today. The aim of this study was to investigate the effect of nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract on changes in the level of antioxidants and lipid peroxidation of liver tissue infected with *Staphylococcus aureus* in male Wistar rats. In this experimental study, 28 male Wistar rats were divided into four groups including control group, infected with *Staphylococcus aureus* ( $10^8$  CFU/ml), receiving nanochitosan (1ml), and infected model + receiving nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract (200 mg/kg). Infection was induced by intraperitoneal injection, single dose, and receiving nanochitosan carrying the *Lepidium draba* extract by gavage for 30 days. After the treatment period and animal dissection, liver tissue was extracted to examine the activity levels of total antioxidant, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and malondialdehyde of different groups. Data analysis in different groups was performed with SPSS software and one-way variance statistical test, and  $p < 0.05$  was considered significant. The results showed a significant change in the levels of total antioxidant, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and malondialdehyde in the infected groups compared to the control group ( $P < 0.05$ ). While a decrease in the level of malondialdehyde, an increase in the level of total antioxidant, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the treatment groups compared to the infected group was shown to be significant ( $P < 0.05$ ). Based on the results obtained, probably due to its antioxidant compounds and effects, nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract showed a modulating effect on the level of antioxidants and lipid peroxidation in the liver tissue of bacteria-infected rats. Therefore, it can probably be used as a promising therapeutic strategy.

**Keywords:** Nanochitosan, *Lepidium draba*, Antioxidant, lipid peroxidation, Liver, *Staphylococcus aureus*, Rat

---

\* Corresponding Author: Zahra Keshtmand

Address: Department of Biology, C.TC., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: zahra.keshtmand@iaua.ac.ir