

مقاله پژوهشی

اثر نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده گل زنبورعسل بر سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس

زهرا بیابانی^۱، زهرا کشتمند^{۲*}

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

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

* (نویسنده مسئول مکاتبات): zkeshtmand2001@gmail.com

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۳

چکیده

امروزه، استفاده از تکنولوژی و معرفی ترکیبات ضد باکتری دوستدار محیط زیست مانند نانوحامل های حاوی محصولات گیاهی مورد توجه است. هدف از این پژوهش بررسی اثر نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل زنبورعسل بر تغییرات سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپیدی 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 (۱۰^۸ CFU / ml)، دریافت کننده نانوکیتوزان (۱۰۰ mg/kg) و مدل آلوده + دریافت کننده نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل (۱۰۰ mg/kg) تقسیم بندی شدند. القا آلودگی و دریافت نانوکیتوزان با روش گلاوژ انجام شد. بعد از دوره تیمار و تشریح حیوانات، بافت کبد جهت بررسی سطح فعالیت آنتی اکسیدان تام، سوپر اکسید دسموتاز، 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، سوپر اکسید دسموتاز، 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، سوپر اکسید دسموتاز، 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 نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل زنبورعسل اثر تعدیل کنندگی بر سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش های آلوده به باکتری را نشان داد. بنابراین احتمالاً بتواند به عنوان یک راهکار امیدوارکننده درمانی استفاده شود.

کلیدواژه ها: نانوکیتوزان، دانه گرده گل، آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون لیپیدی، کبد، استافیلوکوکوس اورئوس، موش صحرایی.

مقدمه

از عوامل اصلی و پر شیوع عفونت های بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس^۱ می باشد [۱]. به علت گسترش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به گونه های استافیلوکوکوس اورئوس و پیدایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک، روز به روز تعداد آنتی بیوتیک های در دسترس برای درمان عفونت های ناشی از این باکتری کاهش می یابد. به طوری که در حال حاضر اغلب سویه های این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های رایج آن مقاوم شده اند [۲]. آلودگی به باکتری با برهم زدن تعادل سیستم اکسیدان- آنتی اکسیدانی سبب تولید گونه های فعال اکسیژن و اختلال عملکردی شدید می شود. رادیکال های آزاد مختلف مانند گونه های فعال اکسیژن به دلیل وجود الکترون های آزاد، مولکول هایی بسیار واکنش پذیر و سمی هستند [۳]. آنیون های سوپراکسید، رادیکال های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن، گونه های فعال اکسیژن هستند که به وسیله میتوکندری و طی مسیر متابولیک فسفوریلاسیون اکسیداتیو تولید می شوند و می توانند از مولکول های زیستی مانند DNA، RNA، پروتئین ها و لیپیدها یک الکترون برداشته و در عملکرد آنها اختلال ایجاد کند و سبب یک واکنش زنجیره ای از مولکول های ناپایدار شوند که با مولکول های دیگر واکنش نشان می دهند و باعث ایجاد رادیکال های آزاد سمی جدید می گردند [۴].

آنزیم های سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوکاتون پراکسیداز قادرند رادیکال های آزاد را به آب تبدیل کنند، اما این ترکیبات قادر به مقابله با تمام رادیکال های آزاد تولید شده به صورت مداوم نیستند، که نتیجه آن، آسیب اکسیداتیو در سلول و در نتیجه در بافت ها خواهد بود که منجر به اختلال در سیستم اکسایشی و تولید گونه های فعال اکسیژن در بافت ها می شود [۵]. با توجه به موارد فوق و افزایش روزافزون مقاومت نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها، در برخی کشورها در سال های اخیر تلاش های زیادی برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی صورت گرفته و طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی مهمترین و بهترین منبع تولید ترکیبات دارویی، گیاهان هستند [۶].

از زمان های قدیم، بسیاری از عصاره های گیاهی و ترکیبات زیست فعال جدا شده در سراسر جهان به عنوان عوامل درمانی

برای پیشگیری و درمان بیماری ها مورد استفاده قرار گرفته اند. هر محصول گیاهی که برای حفظ یا بازایی سلامتی استفاده می شود، به عنوان داروهای گیاهی طبقه بندی می شود [۷]. داروهای گیاهی به دلایل مختلف، از جمله ادعاهای مربوط به اثربخشی درمانی، هزینه های بالا و اثرات نامطلوب داروهای مدرن و بهبود در درمان، در حال مورد توجه عمومی بوده و محبوب تر شده اند [۸].

پیشرفت علم و فناوری و تحقیقات در مورد شناسایی ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی و کاربردهای متداول آنها، ممکن است منجر به شناسایی داروهای جدید با عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای موجود شود [۹]. یکی از ترکیبات طبیعی که اثرات آن در دهه اخیر در زمینه طب سنتی بررسی شده است، دانه گرده گل زنبور عسل است [۱۰].

گرده زنبور عسل (BP)^۲ یک ذره دایره ای بذر مانند (قطر ۲/۵-۲۵ میکرومتر) است که توسط دیواره محافظ پوشیده شده و حاوی مقادیر قابل توجهی پروتئین، لستین، آنزیم های فعال، اسید فولیک، ویتامین ها به ویژه خانواده B و سایر مواد معدنی است که به اثرات سلامتی و کمک می کند که به عنوان عامل محافظ در نظر گرفته می شوند [۱۱]. زنبورها حجم کمی از بزاق خود را با گرده های جمع شده از گیاهان ترکیب می کنند و جهت تامین مواد مغذی خود و نوزادان، دانه گرده را بر روی پای عقب جمع آوری کرده و وارد کندو می کند [۱۲]. همچنین دانه گرده گل، منبع بالقوه آنتی اکسیدان های طبیعی از جمله وائیل، پروتوکاتچونیک اسید، گالیک و اسید p-کوماریک و همچنین فلاونوئیدهایی مانند هسپریدین، روتین، کامفرول، آپیزین، لوتولین، کورستین و ایزورامتین است [۱۳]. این ترکیبات با غیرفعال کردن و حذف رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن (ROS) مانند H_2O_2 ، $O_2^{\bullet -}$ و $OH^{\bullet}$ فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داده اند. همچنین، اثرات آنتی اکسیدانی قوی BP را به ترکیبات فنلی آن مانند کوئرستین، ایزورامنتین، گالاتین، کریزین و پینوسمبرین نسبت دادند [۱۴، ۱۵]. در تحقیقات انجام شده، اثرات مفید این ترکیب بر التهاب پروستات، سرطان، بیماری مزمن الکلی، زخم سوختگی و افسردگی شناخته شده است [۱۶، ۱۷].

² Bee pollen

¹ *Staphylococcus aureus*

دلیل اثربخشی آنها در ارتقاء روند بهبود بیماری‌ها شناخته شده اند. به دلیل مقرون به صرفه بودن، حداقل عوارض جانبی، فراهمی زیستی بالا و اثربخشی، داروهای گیاهی نسبت به رویکردهای درمانی معاصر ارجحیت دارند. ازسویی نانوتکنولوژی و رویکردهای مبتنی بر نانو در مطالعات مختلف به عنوان روش‌های امیدوارکننده برای بهبود بیماری‌ها نشان داده شده‌اند [۲۴]. نانومواد به دلیل اندازه کوچک و مساحت سطح بزرگشان دارای خواص ویژه ای هستند که آنها را برای طیف وسیعی از فعالیت‌ها مفید می‌کند. از این رو در این مطالعه برای اولین بار، اثر نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده گل بر سطح آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی موش آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد [۲۵].

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 دانشکده‌ی علوم پایه‌ی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی 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 شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با درجه حرارت 22 ± 3 سانتی‌گراد 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 پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی انجام شد (IR.IAU.CTB.REC.1401.088).

گروه‌بندی حیوانات

۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ (۲۵۰ تا ۲۰۰ گرم) به طور تصادفی در ۴ گروه هفت‌تایی گروه‌بندی شدند. گروه کنترل: دریافت‌کننده آب و مواد غذایی به صورت روزانه گروه دوم: موش‌های دریافت‌کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^8 CFU/ml) [۲۶]. گروه سوم: دریافت‌کننده نانوکیتوزان (100 mg/kg) [۲۷].

با این حال، استفاده از ترکیبات و عصاره‌های زیست فعال گیاهی در فیتوداروها به دلیل عوامل خاصی مانند طعم نامطلوب، حلالیت کم، نفوذپذیری ضعیف، بی‌ثباتی فیزیولوژیکی و فراهمی زیستی کم، هنوز محدود است. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، رویکردهای نانوتکنولوژیکی به‌عنوان مکانیسم‌های تحویل دارو مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۱۸]. بیشتر ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره‌های گیاهی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها محلول در آب هستند. بنابراین، این ترکیبات جذب ضعیفی از خود نشان می‌دهند زیرا نمی‌توانند در غشای لیپیدی حرکت کنند. این منجر به کاهش فراهمی زیستی و اثربخشی می‌شود. با بارگذاری داروهای گیاهی در نانوحامل‌ها، جذب ترکیبات را می‌توان بهبود بخشید [۱۹]. سیستم‌های نانوکپسوله‌سازی جدید، به دلیل اندازه درون سلولی و نسبت سطح به حجم بالا، مکانیسم‌های جذب سلولی غیرفعال را افزایش می‌دهند و به مناطقی (مناطق داخل سلولی و خارج سلولی) نفوذ می‌کنند که ممکن است برای سایر سیستم‌های دارورسانی غیرقابل دسترس باشد، در نتیجه خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۲۰). همچنین، ماده فعال در اندازه نانو پایدار به دلیل محافظت آن در برابر عوامل اکسید کننده، سایر مواد شیمیایی و آنزیم‌ها [۲۱] مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند.

یکی ازاین حامل‌های زیستی، پلیمر زیست تخریب پذیر، زیست سازگار، غیرسمی با کاربردهای دارورسانی، کیتوزان است که برای مصرف انسان بی‌خطر است، از رایج‌ترین پلیمرهای طبیعی است که برای تولید نانوذرات پلیمری استفاده می‌شود [۲۲] و در چند سال گذشته، به عنوان ماتریس برای محصور کردن ترکیبات فعال مختلف به دلیل خواص بیولوژیکی سودمند آن مورد توجه قرار گرفته است. این موفقیت عمده‌تاً به دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد این ترکیب است، زیرا دارای خواص بیولوژیکی متفاوت، گسترده و دارای کمترین سمیت برای سلول‌ها و بافت‌ها می‌باشند؛ بنابراین می‌تواند به عنوان یک ماده ایمن برای استفاده درمانی معرفی شود [۲۳]. با توجه به مطالعات و تحقیقات انجام گرفته، گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات فعال متنوع مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و غیره به طور گسترده به

گروه چهارم: موش های دریافت کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^8 CFU/ml) + نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده (100 mg/kg) [۲۸].

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت 10^8 CFU/ml و نانوکیتوزان و نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده گل به میزان یک سی سی از طریق گاواژ به موش ها داده شد. جهت یکسان بودن شرایط موش ها در طول دوره تیمار، به گروه اول و دوم نیز روزانه، مقدار کمی از آب به صورت گاواژ داده شد.

تهیه دانه گرده گل

دانه گرده گل زنبور عسل از شرکت هانی بال ایران تهیه شد.

تهیه و تایید سوبه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

سوبه 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 [۲۶].

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 $1/5$ میلی لیتری در دور 3000 دور به مدت 3 دقیقه رسوب گیری شد. در مرحله آخر رسوبات در نیم مک فارلند PBS حل شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج 630 نانومتر جذب نور اندازه گیری شد. با توجه به جذب $OD_{630} = 0.5$ نانومتر هر لوله حاوی 1×10^8 CFU/ml باکتری است. محلول باکتری در آمپول 2 میلی لیتری ریخته شد و طی سه روز متوالی، یک سی سی به هر موش خوراندن شد [۲۶، ۲۹].

تهیه عصاره، دانه گرده ابتدا در جریان هوا قرار داده شد، 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 50 گرم از پودر دانه گرده گل زنبور عسل به 500 میلی لیتر حلال اتانول اضافه گردید. عصاره گیری به مدت 12 ساعت صورت گرفت. پودر جامد بدست آمده توسط آب مقطر دو بار تقطیر، و به حجم رسانیده شد و عصاره ی تهیه شده در دمای 4 درجه سانتی گراد تا زمان استفاده، نگهداری شد [۲۸].

تهیه کیتوزان های حاوی عصاره گل

کیتوزان (وزن مولکولی متوسط، 108 kDa) با بالاترین خلوص از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شد. 2 گرم پودر کیتوزان در 200 میلی لیتر محلول اسید استیک ($1\% \text{ V/V}$) حل شد. سپس 50 میلی لیتر محلول کلرید سدیم (3 گرم در لیتر) به آن اضافه و به مدت 30 دقیقه با دور 3000 دور در دقیقه هموزن شد. مقدار pH محلول ها با 0.5 مولار هیدروکسید سدیم برای سه نمونه تقریباً به 4 ، 5 و 6 تنظیم شد. محلول ها با استفاده از فیلترهایی با اندازه منافذ 45 میکرومتر برای حذف کیتوزان نامحلول فیلتر شدند. سپس 20 میلی لیتر محلول تری پلی فسفات سدیم (3 گرم در لیتر) به مدت 5 ساعت تحت همزن مغناطیسی با سرعت 1000 دور در دقیقه به صورت قطره ای به نمونه ها اضافه شد. محلول ها در دور 14000 به مدت 20 دقیقه سانتریفیوژ و رسوب کیتوزان سه بار با آب مقطر شسته و فیلتر شد تا ناخالصی های باقیمانده از بین برود. محصول در آون با دمای 55 درجه سانتیگراد به مدت 12 ساعت خشک و در نهایت برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. بارگذاری عصاره دانه گرده در طول تشکیل نانوذرات انجام شد. برای این منظور، 3 گرم ماده دارویی فعال در 10 میلی لیتر اتیل الکل در دمای 80 درجه سانتیگراد حل و 1 میلی لیتر تونین 80 ، برای جلوگیری از تجمع عصاره گل به آن اضافه شد. سپس این محلول به محلول کیتوزان با تری پلی فسفات سدیم اضافه شد تا روی نانوذرات کیتوزان تحت یک همزن مغناطیسی با دور 1000 بارگذاری شود [۳۰].

مشخصه یابی نانوکیتوزان حامل عصاره

جهت اندازه گیری قطر دینامیکی نانوذرات از دستگاه زتاسایزر

تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه دانه گرده

دانه گرده از بانک گیاهی مرکز ذخایر زیستی ایران تهیه شد. برای

میلی مولار متوقف شده و میزان فعالیت کاتالاز و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد [۳۴].

اندازه‌گیری گلوکاتینون پراکسیداز

حجمی از بافت کبد با یک میلی لیتر بافر فسفات با (pH=7/4) مخلوط و عمل هموژن سازی روی آن صورت گرفت. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی به دست آمده جهت بررسی و آنالیز جمع آوری شد. میزان گلوکاتینون پراکسیداز و جذب نمونه‌ها، در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۳۵].

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

جهت تهیه هموژن بافتی ابتدا بافت را وزن کرده و با بافر فسفات سالین ۵۰ میلی مولار (pH=7/4) هموژن شد. محلول استاندارد آنزیم که از شرکت پارس آزمون خریداری شده بود با بافر فسفات به غلظت‌های مختلف تهیه و منحنی استاندارد رسم گردید. ۶۵ میکرولیتر بافر فسفات سالین (pH=7/4)، ۳۰ میکرولیتر MTT به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس ۷۵/۰ میکرومول با ۱۰ میکرولیتر هموژن بافتی مخلوط شده و در حضور ۷۵ میکرولیتر پیروگال، ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکسید اضافه گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا خوانده شد [۳۶].

سنجش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد

جهت تهیه محلول HCL-TCA-TBA، ۳۷۵ میلی گرم تیوباربیتوریک اسید TBA 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 از حمام آب ۵۰ درجه سانتی گراد استفاده گردید. سپس بافت مورد نظر توزین و بلافاصله با محلول کلرید پتاسیم ۵٪ / ۱ هموژن گردید تا یک مخلوط هموژن ۱۰٪ بدست آید. سپس ۱ میلی لیتر از مخلوط هموژن بافتی با ۲ میلی لیتر از محلول HCL-TCA-TBA مخلوط شده 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

ساخت شرکت Malvern استفاده شده است. جهت بررسی سایز ذرات در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد از دستگاه مجهز به لیزر سبز با طول موج ۶۳۳ نانومتر به روش تفرق دینامیک نوراستفاده گردید [۳۱]. همچنین پراکندگی نور دینامیک، روشی فیزیکی است که برای تعیین اندازه ذرات موجود در محلول‌ها استفاده می‌شود. این روش غیرمخرب و سریع برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا میکرون به کار می‌رود. این روش به برهمکنش نور با ذره بستگی دارد. نور پراکنده شده بوسیله نانوذرات موجود در سوسپانسیون یا محلول با زمان تغییر می‌کند که می‌تواند به قطر ذره ارتباط داده شود [۳۲].

ارزیابی مارکرهای استرس اکسیداتیو

پس از پایان دوره تیمار ۳۵ روزه، موش‌های صحرایی با تزریق کتامین-زایلانین ۱٪ بیهوش و جهت سنجش سطح سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتینون پراکسیداز، سطح مالون دی آلدید و کاتالاز، بافت کبد جدا و بعد از شستشو در سرم فیرولوژی برای سنجش سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو، از کیت‌های تهیه شده شرکت پارس آزمون (۴۸ تستی با برند Zellbii-GmbH) استفاده شد.

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 هموژنیز در داخل میکروتیوپ قرار داده، سپس به مدت ۲ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه و در ادامه به مدت ۲ دقیقه در داخل ظرف یخ قرار گرفت. محلول مورد نظر در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول بالایی برداشته شده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد [۳۳].

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 انکوبه شد. واکنش آنزیمی با ۱ میلی لیتر مولبدن آمونیوم ۴/۳۲

نهایت، اندازه گیری جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد [۳۳].

تحلیل داده ها

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. همچنین، بررسی توزیع طبیعی داده ها با آزمون کولموگروف - اسمیرنوف انجام گرفت ($P > 0.05$).

یافته ها

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 ۹۰ نانومتر و میانگین اندازه ی نانوذرات کیتوزان حاوی عصاره حدود ۱۰۵ 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 (۹۰ نانومتر) و پس از بارگذاری دارو (۱۰۵ 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، $+20/5$ میلی ولت به دست آمده است که پایداری به نسبت خوب ذرات کلونیدی را نشان می دهد. بار سطحی بالای نانوذرات با افزایش نیروی دافعه ی بین ذرات، از به هم چسبیدن آنها جلوگیری کرده و سبب افزایش پایداری و زمدان نگهداری آنها می شود. پس از سنتز نانوذرات کیتوزان و بارگذاری عصاره، پتانسیل زتا روی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره انجام شد که نتیجه ی آن در شکل ۲ ب نشان داده شده است. بار سطحی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره نیز $+19/4$ میلی ولت

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، می توان 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) کاهش سطح آنتی اکسیدان تام، گلو تاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و نمودار ۲ افزایش سطح مالون دی آلدید در بافت کبدی گروه های دریافت کننده باکتری / استافیلوکوکوس / اورئوس و آلوده + دریافت کننده نانوکیتوزان حامل دانه گرده در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری نشان داده شد ($P < 0.01$).

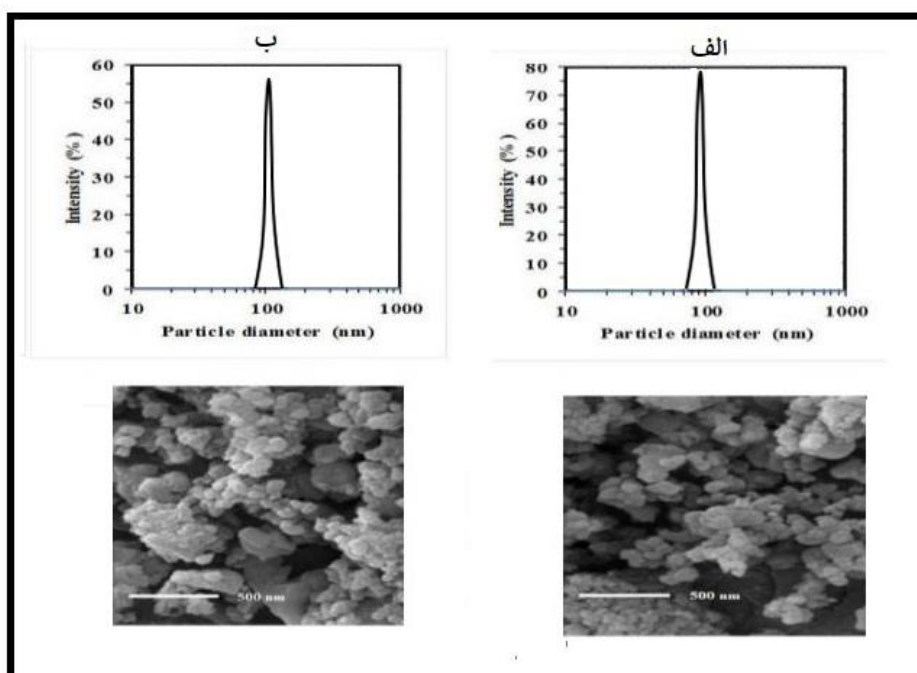
در حالیکه در گروه آلوده تیمار شده با نانوکیتوزان حامل دانه گرده، افزایش سطح آنتی اکسیدان تام، گلو تاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و کاهش سطح مالون دی آلدید بافت کبدی در مقایسه با گروه آلوده معنادار مشاهده شد ($P < 0.05$).

بحث:

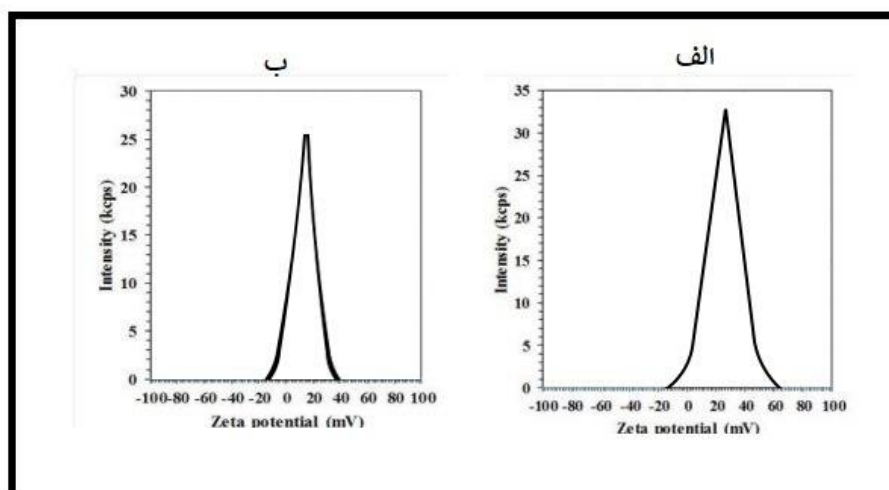
با توجه به اینکه عفونت های باکتریایی از عوامل مهم مرگ و میر در محیط های بیمارستانی هستند، با گسترش و شیوع اپیدمی گونه های مقاوم، توجه به آنها افزایش یافته است. به علاوه، درمان های رایج آنتی بیوتیکی می توانند میکروب های مفید را از بین برده و منجر به ماندگاری سویه های مقاوم شوند. همچنین باکتری می تواند وارد گردش خون شود و موجب بروز سپتی سمی گردد که در این صورت درصد مرگ و میر بالاست [۴، ۶].

در این پژوهش تاثیر نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل بر تغییرات سطح آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش صحرایی آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ارزیابی شد.

در گروه های دریافت کننده باکتری کاهش سطح فعالیت سطح آنتی اکسیدان تام، سوپراکسید دسموتاز، گلو تاتیون پراکسیداز، کاتالاز و افزایش مالون دی آلدید در مقایسه با گروه کنترل نشان داده شد.



شکل ۱. نمودار گستری اندازه ذرات و ریخت‌شناسی نمونه‌ها: الف نانوذرات کیتوزان با متوسط اندازه ۹۰ نانومتر، ب: نانوکیتوزان حامل عصاره با متوسط اندازه ۱۰۵ نانومتر



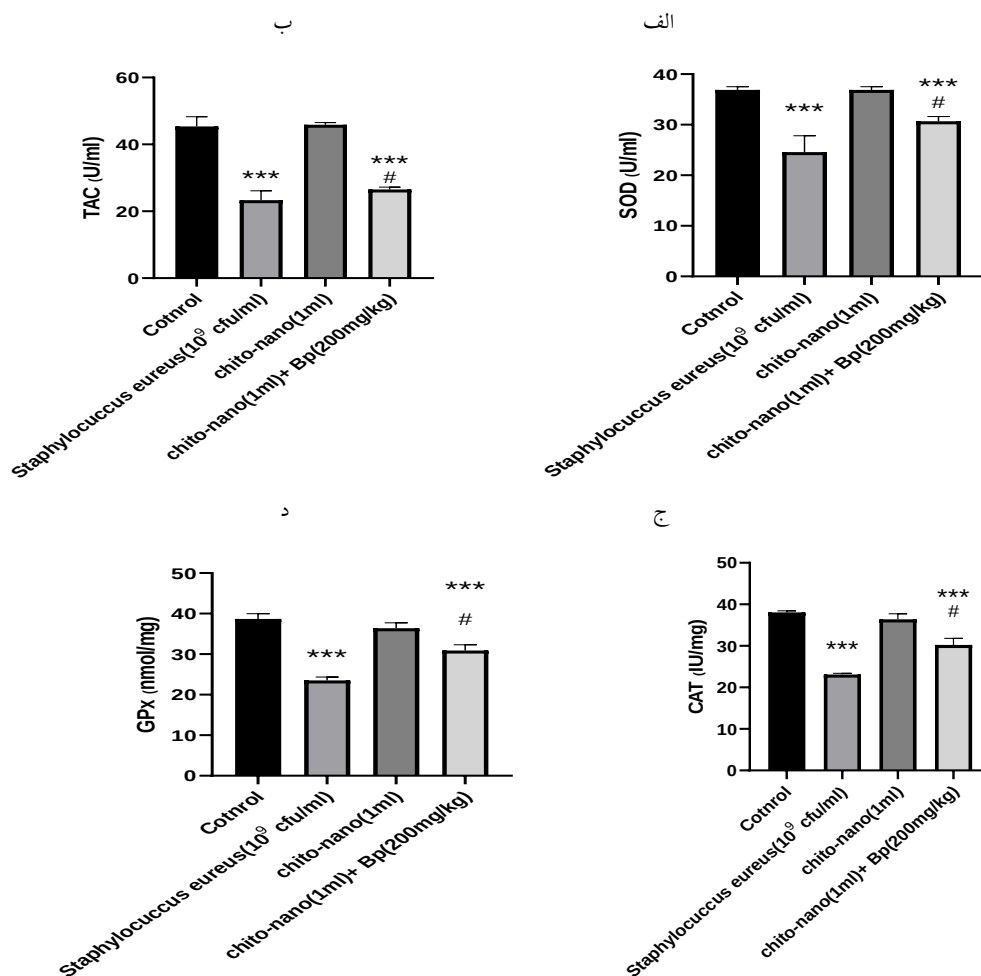
شکل ۲. نمودار پتانسیل زتای نمونه‌ها، الف: پتانسیل زتای نانوکیتوزان (۲۰/۵+). ب: پتانسیل زتای نانوکیتوزان حامل عصاره (۱۹/۴+ میلی‌ولت)

[۳۸]. که نتایج این مطالعه نیز همجهت با مطالعات پیشین است.

پژوهش‌ها نشان داده است که عفونت باکتریایی می‌تواند با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد، سمی کردن سلول، استرس اکسیداتیو واسطه و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی باعث برهم زدن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدان-اکسیدان در بافت شود. همچنین این باکتری با ایجاد عفونت می‌تواند باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۴، ۵].

Guo و همکاران در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۳ توسط اثرات باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بر کاهش سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و افزایش مالون دی آلدئید گزارش داده شده [۳۷].

همچنین در پژوهش انجام شده توسط Merghni و همکاران در سال ۲۰۲۳ برهم خوردن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید سمولتاز و کاتالاز و افزایش مالون دی آلدئید را در موش‌های صحرایی آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند

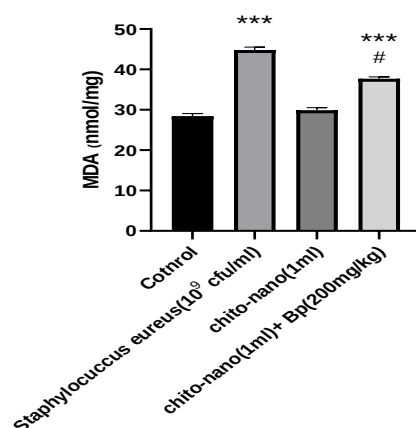


نمودار ۱. مقایسه سطح آنتی اکسیدان های بافت کبدی، الف: سطح آنتی اکسیدان نام ب: سوپراکسید دسموتاز ج: گلوکاتایون پراکسیداز د: کاتالاز در گروه های مختلف آزمایش

نتایج براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار

*** $P < 0.001$ مقایسه با گروه کنترل

$P < 0.05$: مقایسه با گروه آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورنوس



نمودار ۲. مقایسه سطح مالون دی آلدئید بافت کبدی در گروه های 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 اورنوس

بسیاری از محققان دریافته‌اند که پلی فنل‌ها، آنتی اکسیدان‌هایی با خواص ردوکس هستند که به آنها اجازه می‌دهد به عنوان عوامل کاهنده، اهدا کننده هیدروژن و خاموش کننده‌های اکسیژن منفرد عمل کنند. پلی فنل‌ها همچنین دارای خواص کیلاسیون فلزی هستند که می‌توانند به فلزات متصل شوند (کلاتاسیون فلزات) و با رادیکال‌های آزاد و مواد سمی ژنتیکی یا سرطان زا واکنش نشان دهند [۴۵].

فلاونوئیدها مشتقات گیاهی ساختار پلی فنلی هستند که شامل چندین زیرگروه مانند فلاون‌ها، فلاونول‌ها، فلاونون‌ها، فلاوانونول‌ها، فلاوانول‌ها (کاتچین‌ها)، آنتوسیانین‌ها و کالکون‌ها و همچنین ایزوفلاون‌ها و نئوفلاونوئیدها هستند. شناخته شده ترین زیرگروه‌ها ترکیبات حاوی اسکلت بنزو-۷-پیرون هستند. فلاونوئیدها اغلب به شکل گلیکوزیدها ظاهر می‌شوند که در آن نقش آگلیکون‌هایی را ایفا می‌کنند که توسط یک پیوند گلیکوزیدی با یک گروه کربوهیدراتی مرتبط هستند. وجود گروه‌های فنل در مولکول‌های فلاونوئیدها فعالیت ضد رادیکالی را بیشتر می‌کند، زیرا رادیکال‌های تشکیل شده در طول پاک‌سازی با رزونانس تثبیت می‌شوند [۴۶].

نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی‌های انجام شده و ارزیابی نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌توان تصور نمود نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل احتمالاً به دلیل دارا بودن ترکیبات متنوع با خاصیت آنتی اکسیدانی، سطح آنتی اکسیدان‌های و مالون دی الدهید در بافت کبد موش‌های عفونی شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برکبد موش‌های صحرایی نر را تعدیل کرده و با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد سبب مهار ترکیبات سمی توسط محصولات متابولیکی حفاظت شده می‌گردد. از این رو می‌توان پیش بینی کرد که احتمالاً نانوکیتوزان حامل دانه گرده گل به عنوان یکی از کاندیدهای مناسب و یا مکمل در پیشگیری و کاهش عوارض جانبی عفونت‌های باکتریایی و میکروارگانیسم‌های مضر دیگر استفاده شود اگر چه مقدار مصرف و مدت زمان استفاده از آن‌ها باید با دقت بیشتری و در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

در بخش دیگر این پژوهش، نشان داده شد، در گروه تیمار سطح آنتی اکسیدان‌ها در بافت کبد درمقایسه با گروه آلوده افزایش و میزان مالون دی آلدهید کاهش معناداری را نشان داد.

در پژوهش انجام شده در سال ۲۰۱۳ توسط Ferreira و همکاران، تاثیر عصاره دانه گرده گل بر کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت کبد موش‌های آسیب دیده با اگریکیمیکال نشان داده شد [۳۹].

در سال ۲۰۱۷ Huang و همکاران نشان دادند مصرف عصاره دانه گرده گل در موش‌های دریافت کننده سیس پلاتین سبب افزایش سوپراکسید دسموتاز و کاهش مالون دی آلدهید شده [۴۰]. که نتایج حاصل از این مطالعه نیز با مطالعات پیشین هم جهت می‌باشد

Ahmadi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که استفاده از فرم نانوکپسوله آویشن و کیتوزان به طور معنی‌داری از رشد باکتری لیستریا منوسایتوزنز جلوگیری کرد همچنین، کیتوزان بهتر از عصاره آویشن باعث مهار لیستریا منوسایتوزنز شد [۴۱].

پژوهش‌های مختلف در ارتباط با اجزای گرده زنبور عسل گزارش داده اند که این محصولات دارای ترکیبات متنوع از جمله مواد مغذی (پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها)، اسیدهای آمینه (گرده زنبور عسل منبع غنی لوسین، ایزولوسین و اسیدهای آمینه برون زا شاخه‌ای والین است)، اسیدهای چرب، استرها، ویتامین‌ها (کاروتنوئیدها، B، E، H، و اسید فولیک)، مواد معدنی (ماکرو و ریز عناصر)، و همچنین ترکیبات آلی فنلی - فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و مشتقات آنها، اسیدهای آلی مختلف (اگزالیک، تارتاریک، مالیک، سیتریک، سوکسینیک، استیک، لاکتیک و گلوکونیک)، اجزای معدنی، عناصر ماکرو (سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم)، ریز عناصر (آهن، روی، منگنز و مس) و همچنین برخی فلزات دیگر (کروم، آلومینیوم، استرانسیم، قلع، نیکل و وانادیم) می‌باشد. [۴۲، ۴۳]. به دلیل وجود چنین ترکیبات و مولکول‌هایی محصولات زنبور عسل منبع بالقوه ای از آنتی اکسیدان‌های طبیعی از جمله پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، اسیدفولیک و مشتقات می‌باشند که قادر به مقابله با اثرات استرس اکسیداتیو زمینه ساز پاتوژنز بیماری‌های متعدد است [۴۴].

intervention exacerbated oxidative stress and inflammatory responses in SD rats under hypobaric hypoxia exposure. *Free Radical Biology and Medicine*. 2023; 209:70-83.

- [7] Papaefthimiou M, Kontou PI, Bagos PG, Braliou GG. Antioxidant activity of leaf extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni exerts attenuating effect on diseased experimental rats: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2023; 15(15):3325.
- [8] Esim N, Dawar P, Arslan NP, Orak T, Doymus M, Azad F, Ortucu S, Albayrak S, Taskin M. Natural metabolites with antioxidant activity from micro-and macro-algae. *Food Bioscience*. 2024 :105089.
- [9] Rauf A, Ahmad Z, Formanowicz D, Ribaudo G, Alomar TS. Antioxidant potential of polyphenolic and flavonoid compounds. *Frontiers in Chemistry*. 2024; 12:1463755.
- [10] Dos Santos NC, Malta SM, Franco RR, Silva HC, Silva MH, Rodrigues TS, de Oliveira RM, Araújo TN, Augusto SC, Espindola FS, Ueira-Vieira C. Antioxidant and anti-Alzheimer's potential of *Tetragonisca angustula* (Jataí) stingless bee pollen. *Scientific reports*. 2024; 14(1):308.
- [11] Urcan AC, Criste AD, Dezmiorean DS, Bobiş O, Bonta V, Burtescu RF, Olah NK, Cornea-Cipcigan M, Mărgăoan R. Enhancing Antioxidant and Antimicrobial Activities in Bee-Collected Pollen through Solid-State Fermentation: A Comparative Analysis of Bioactive Compounds. *Antioxidants*. 2024; 13(3): 292.
- [12] Aboulghazi A, Fadil M, Touzani S, Hibaoui L, Hano C, Lyoussi B. Phenolic Screening and Mixture Design Optimization for In Vitro Assessment of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Honey, Propolis, and Bee Pollen. *Journal of Food Biochemistry*. 2024; 2024(1):8246224.
- [13] Al-Kahtani SN, Alaqil AA, Abbas AO. Modulation of antioxidant defense, immune response, and growth performance by inclusion of propolis and bee pollen into broiler diets. *Animals*. 2022; 12(13):1658.
- [14] El Ghouizi A, El Menyiy N, Falcão SI, Vilas-Boas M, Lyoussi B. Chemical composition, antioxidant activity, and diuretic effect of Moroccan fresh bee pollen in rats. *Veterinary world*. 2020; 13(7):1251.
- [15] Ilie CI, Spoiala A, Chircov C, Dolet G, Oprea OC, Vasile BS, Crainiceanu SA, Nicoara AI, Marinas IC, Stan MS, Ditu LM. Antioxidant, Antitumoral, Antimicrobial, and Prebiotic Activity of Magnetite Nanoparticles Loaded with Bee Pollen/Bee Bread Extracts and 5-Fluorouracil. *Antioxidants*. 2024; 13(8):895.

تقدیر و تشکر

نویسنده این مقاله، از همکاری مجتمع آزمایشگاهی زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی قدردانی می کند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکزی انجام گرفته است و سعی شده که تمام موازین اخلاقی کار با حیوان مورد توجه باشد و الزامات معاهده هلسینکی رعایت گردد (IR.IAU.CTB.REC.1401.088).

منابع

- [1] Bao L, Zhao Y, Duan S, Wu K, Shan R, Liu Y, Yang Y, Chen Q, Song C, Li W. Ferroptosis is involved in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis through autophagy activation by endoplasmic reticulum stress. *International Immunopharmacology*. 2024; 140:112818.
- [2] Wang Z, Guo L, Yuan C, Zhu C, Li J, Zhong H, Mao P, Li J, Cui L, Dong J, Liu K. *Staphylococcus pseudintermedius* induces pyroptosis of canine corneal epithelial cells by activating the ROS-NLRP3 signalling pathway. *Virulence*. 2024; 15(1):2333271.
- [3] Tyagi A, Kumar V, Joshi N, Dhingra HK. Combinatorial Effects of Ursodeoxycholic Acid and Antibiotic in Combating *Staphylococcus aureus* Biofilm: The Roles of ROS and Virulence Factors. *Microorganisms*. 2024; 12(10):1956.
- [4] Gao X, Wang Z, Xu Y, Feng S, Fu S, Luo Z, Miao J. PFKFB3-Mediated glycolysis via the reactive oxygen species-hypoxic inducible factor 1 α Axis contributes to inflammation and proliferation of *Staphylococcus aureus* in epithelial cells. *The Journal of Infectious Diseases*. 2024; 229(2):535-546.
- [5] Ebrahimi P, Hoxha L, Mihaylova D, Nicoletto M, Lante A. UV-A treatment of phenolic extracts impacts colour, bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2024; 104(15):9559-9568.
- [6] Liao Y, Chen Z, Yang Y, Shen D, Chai S, Ma Y, Ge R, Wang X, Wang S, Liu S. Antibiotic

- [16] He Q, Wang J, Li J, Yang W. Polyphenol Profile and Antioxidant, Antityrosinase, and Anti-Melanogenesis Activities of Ethanol Extract of Bee Pollen. *Pharmaceuticals*. 2024; 17(12): 1634.
- [17] Tumilaar SG, Hardianto A, Dohi H, Kurnia D. A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. *Journal of Chemistry*. 2024; 2024(1):5594386.
- [18] Kuljarusnont S, Iwakami S, Iwashina T, Tungmunthum D. Flavonoids and Other Phenolic Compounds for Physiological Roles, Plant Species Delimitation, and Medical Benefits: A Promising View. *Molecules*. 2024; 29(22):5351.
- [19] Sahyon HA, Al-Harbi SA. Antimicrobial, anticancer and antioxidant activities of nano-heart of Phoenix dactylifera tree extract loaded chitosan nanoparticles: In vitro and in vivo study. *International journal of biological macromolecules*. 2020; 160:1230-1241.
- [20] Herdiana Y, Husni P, Nurhasanah S, Shamsuddin S, Wathoni N. Chitosan-based nano systems for natural antioxidants in breast cancer therapy. *Polymers*. 2023; 15(13):2953.
- [21] Zhang M, Hou G, Hu P, Feng D, Wang J, Zhu W. Nano chitosan–zinc complex improves the growth performance and antioxidant capacity of the small intestine in weaned piglets. *British Journal of Nutrition*. 2021; 126(6):801-812.
- [22] Song H, Yuan W, Jin P, Wang W, Wang X, Yang L, Zhang Y. Effects of chitosan/nano-silica on postharvest quality and antioxidant capacity of loquat fruit during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2016; 119:41-48.
- [23] Abdelrazek DA, Hassan NH, Ibrahim MA, Hassanen EI, Farroh KY, Abass HI. Ameliorative effects of rutin and rutin-loaded chitosan nanoparticles on testicular oxidative stress and histological damage induced by cyclophosphamide in male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2024; 184:114436.
- [24] Rahman AN, Elshopekey GE, Behairy A, Altohamy DE, Ahmed AI, Farroh KY, Alkafafy M, Shahin SA, Ibrahim RE. Chitosan-Ocimum basilicum nanocomposite as a dietary additive in Oreochromis niloticus: Effects on immune-antioxidant response, head kidney gene expression, intestinal architecture, and growth. *Fish & Shellfish Immunology*. 2022; 128:425-435.
- [25] Liang H, Wang Y, Liu F, Duan G, Long J, Jin Y, Chen S, Yang H. The Application of Rat Models in Staphylococcus aureus Infections. *Pathogens*. 2024 ; 13(6):434.
- [26] Al-Baqami N, Hamza R. Synergistic antioxidant capacities of vanillin and chitosan nanoparticles against reactive oxygen species, hepatotoxicity, and genotoxicity induced by aging in male Wistar rats. *Human & Experimental Toxicology*. 2021; 40(1):183-202.
- [27] Bouazza S, Demmouche A, Toumi-Benali F, Zouba M, Bahri MR, Agher N, Merakchi N, Elahmar M. Effect of bee pollen extract on lead-induced toxicity in rat testis. *South Asian Journal of Experimental Biology*. 2018; 8(3):91-102.
- [28] Shamakhteh F, Ibrahim SK, Saki M, Hatif ST. Investigating the antibiotic resistance pattern of Staphylococcus aureus isolated from clinical samples of patients hospitalized in the special care departments of Ahvaz teaching hospitals. *Cellular, Molecular and Biomedical Reports*. 2021 1(4):191-8.
- [29] Guo X. Antibacterial and anti-inflammatory effects of genistein in Staphylococcus aureus induced osteomyelitis in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2023; 37(4):e23298.
- [30] Merghni A, Belmamoun AR, Urcan AC, Bobiş O, Lassoued MA. 1, 8-Cineol (Eucalyptol) Disrupts Membrane Integrity and Induces Oxidative Stress in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Antioxidants*. 2023 6; 12(7):1388.
- [31] Vaezifar, S., Molaei, M. 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*, 2019; 37(541): 1047-1053. [Persian]
- [32] Rami M, Habibi A, Khajehlandi M. 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*. 2018; 22 (6): 555-563. [Persian]
- [33] Hadwan MH, Alta'ee AH, Mohammed RM, Hadwan AM, Al-Kawaz HS, Al Talebi ZA. An efficient protocol for quantifying catalase activity in biological samples. *Bulletin of the National Research Centre*. 2024; 48(1): 34.
- [34] Reza Pourbabaki, Monireh Khadem, Sajjad Samiei, Fatemeh Amirkhanloo, Seyed Jamaledin Shahtaheri. Role of rosemary officinalis in the hepatotoxicity induced by Chlorpyrifos sub-chronic exposure in rats. *Iran Occupational Health*. 2021 ; 6: 1- 14.
- [35] Sincihu Y, Lusno MF, Mulyasari TM, Elias SM, Sudiana IK, Kusumastuti K, Sulistyorini L, Keman S. 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 β 42 levels. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2023; 31: 73-83.
- [36] Ferreira D, Rocha HC, Kreutz LC, Loro VL, Marqueze A, Koakoski G, Santos da Rosa JG, Gusso D, Oliveira TA, de Abreu MS, Barcellos LJ. Bee products prevent agrichemical-induced oxidative damage in fish. *PloS one*. 2013; 8(10):e74499.
- [37] Huang H, Shen Z, Geng Q, Wu Z, Shi P, Miao X. Protective effect of Schisandra chinensis bee pollen extract on liver and kidney injury induced by cisplatin in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 95:1765-1776.
- [38] Salmanpour ahmadi hossein A, manouchehri H, safari R. Evaluation chitosan nono particles and nano-encapsulated thyme effect on microbial spoilage of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) fillet inoculated with *listeria monocytogenes*. *Journal of fisheries (iranian journal of natural resources)*. 2016; 68(4):577-587.
- [39] Tutun H, Kaya MM, Usluer MS, Kahraman HA. Bee pollen: Its antioxidant activity. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2021; 21(1):119-31.
- [40] Kocot J, Kielczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018; 2018(1):7074209.
- [41] Boulfous N, Belattar H, Ambra R, Pastore G, Ghorab A. Botanical Origin, Phytochemical Profile, and Antioxidant Activity of Bee Pollen from the Mila Region, Algeria. *Antioxidants*. 2025; 14(3):291.
- [42] LeBlanc BW, Davis OK, Boue S, DeLucca A, Deeby T. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food chemistry*. 2009; 115(4):1299-1305.
- [43] Rodríguez-Pólit C, Gonzalez-Pastor R, Heredia-Moya J, Carrera-Pacheco SE, Castillo-Solis F, Vallejo-Imbaquingo R, Barba-Ostria C, Guamán LP. Chemical properties and biological activity of bee pollen. *Molecules*. 2023; 28(23):7768.

Effect of nanochitosan carrying *bee pollen* extract on antioxidant levels and lipid peroxidation in liver tissue of mice infected with *Staphylococcus aureus*

Biabani Z.¹, Keshtmand Z.^{2*}

¹ Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

^{2*} Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* (Corresponding author): zkeshtmand2001@gmail.com

Received: December 2024

Accepted: March 2025

Abstract

Today, the use of technology and the introduction of environmentally friendly antibacterial compounds, such as nanocarriers containing plant products, is of interest. The aim of this study is to investigate the effect of nanochitosan carrying bee pollen on changes in antioxidant levels and lipid peroxidation in 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 (100 mg/kg), and infected model + receiving nanochitosan carrying *Bee pollen* (100 mg/kg). Infection induction and receiving nanochitosan were performed by gavage. After the treatment period and dissection of the animals, 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 antioxidants, 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 and an increase in the levels of total antioxidants, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the treatment groups compared to the infected group were significantly shown ($P < 0.05$). Based on the results obtained, nanochitosan carrying bee pollen showed a modulating effect on the levels of antioxidants and lipid peroxidation in the liver tissue of rat infected with bacteria. Therefore, it can probably be used as a promising therapeutic strategy.

Keywords: Nanochitosan, Bee pollen, antioxidant, lipid peroxidation, liver, *Staphylococcus aureus*, rat.