



The role of antioxidant activity of nano-chitosan-hydroalcoholic extract of Bee pollen in combating aluminum chloride-induced toxicity in rat brain tissue

Zahra Keshtmand*

Assistant Prof, Department of Biology, CT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Place of Research: Laboratory of Biology, CT.C University

Article Info

Abstract

Article History:

Recived 2025.05.23
Revised 2025.06.21
Accepted 2025.06.22

KeyWords:

Bee pollen
aluminum chloride
brain tissue
oxidative stress indices
rat

*Corresponding author:

E-mail address:

Zahra.keshtmand@iau.ac.ir,
zkeshtmand2001@gmail.com

Introduction: Aluminum is a metal with known toxicity to humans and animals that plays a role in the pathogenesis of various diseases. Plants contain a wide range of antioxidants that can neutralize free radicals and thus prevent the progression of many chronic diseases associated with oxidative stress. The aim of this study was to investigate the effects of nanochitosan carrying a hydroalcoholic extract of flower pollen on the antioxidant level of brain tissue in male rats exposed to aluminum chloride.

Materials and Methods: In this experimental study, 28 adult male Wistar rats were divided into 4 groups of 7: control, receiving aluminum chloride (100 kg/mg), nanochitosan (1 ml), aluminum chloride + nanochitosan carrying a hydroalcoholic extract of Bee pollen (200 kg/mg). Contamination induction and nanochitosan intake were performed by gavage. After the end of the treatment period and dissection of the animals, brain tissue was extracted to measure some oxidative stress indices in 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.

Results: The results obtained from this study showed that in the group receiving aluminum chloride, an increase in malondialdehyde and a decrease in superoxide dismutase and glutathione peroxidase were significantly shown compared to the control group ($P < 0.001$), while in the group treated with nanochitosan carrying the hydroalcoholic extract of Bee pollen grains, a decrease in malondialdehyde and an increase in superoxide dismutase and glutathione peroxidase were shown compared to the infected group ($P < 0.05$).

Conclusion: According to the findings of this study, nanochitosan carrying the hydroalcoholic extract of Bee pollen grains can probably be used as a pharmaceutical product for the prevention or treatment of damage caused by pollutants such as aluminum chloride.

Cite this article: Keshtmand Z, The role of antioxidant activity of nano-chitosan-hydroalcoholic extract of Bee pollen in combating aluminum chloride-induced toxicity in rat brain tissue. Iranian Journal of Biological Sciences. 2024; 19 (3): 53-64

doi 10.71631/zisti.2024.1207756

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



نقش فعالیت آنتی اکسیدانی نانو کیتوزان-عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل در مقابله با سمیت ناشی از کلرید آلومینیوم در بافت مغز موش صحرایی

زهرا کشتمند *

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

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی گروه زیست شناسی

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۴/۰۳/۰۲

بازنگری ۱۴۰۴/۰۳/۳۱

پذیرش ۱۴۰۴/۰۴/۰۱

کلمات کلیدی

دانه گرده گل

کلرید آلومینیوم

بافت مغز

شاخص های استرس اکسیداتیو

موش صحرایی

* مسئول مکاتبات:

zkeshtmand2001@gmail.com

Zahra.keshtmand@iaub.ac.ir

مقدمه: آلومینیوم فلزی با سمیت شناخته شده برای انسان و حیوانات در پاتوژنز بیماری های مختلف نقش دارد. گیاهان حاوی طیف گسترده ای از آنتی اکسیدان ها می باشند که می توانند رادیکال های آزاد را خنثی و در نتیجه مانع پیشرفت بسیاری از بیماری های مزمن مرتبط با استرس اکسیداتیو شوند. هدف از این تحقیق بررسی اثرات نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل بر سطح آنتی اکسیدان بافت مغز در موش های صحرایی نر در معرض کلرید آلومینیوم می باشد

مواد و روش: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به ۴ گروه ۷ تایی: کنترل، دریافت کننده کلرید آلومینیوم (۱۰۰ kg/mg)، نانوکیتوزان (۱ ml)، کلرید آلومینیوم + نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل (۲۰۰ kg/mg) تقسیم بندی شدند. القا آلودگی و دریافت نانوکیتوزان با روش گاواژ انجام شد. بعد از پایان دوره تیمار و تشریح حیوانات، بافت مغز جهت سنجش برخی از شاخص های استرس اکسیداتیو در 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.

یافته ها: نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد در گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم افزایش مالون دی آلدئید و کاهش سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز درمقایسه با گروه کنترل به صورت معنی دار نشان داده شد ($P < 0.001$)، در حالی که در گروه تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل کاهش مالون دی آلدئید و افزایش سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه آلوده نشان داده شد ($P < 0.05$)

نتیجه گیری: با توجه به یافته های این پژوهش احتمالاً نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل را می توان به عنوان یکی از محصولات دارویی جهت اهداف پیشگیری با درمانی ناشی از آسیب آلاینده ها مانند کلرید آلومینیوم به کار گرفت.

شیوه آدرس دهی این مقاله: کشتمند ز، نقش فعالیت آنتی اکسیدانی نانو کیتوزان-عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل در مقابله با سمیت ناشی از کلرید آلومینیوم در بافت مغز موش صحرایی. مجله دانش زیستی ایران. ۱۹:۱۴۰۳ (۳): ۶۴-۵۲

doi: 10.71631/zisti.2024.1207756

نویسندگان: حق مؤلف ©

شاپا الکترونیکی: ۴۵۹ X - ۲۷۱۷

شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

مقدمه

یکی از چالش‌های اصلی مدیریتی کشورها، امروزه آلودگی ناشی از آلاینده‌هاست؛ از این رو کشورها علاوه بر سیاست‌ها و اقدامات درون مرزهای خود، سامان‌دهی آلودگی را در حوزه بین‌المللی نیز دنبال می‌کنند (۱). آلودگی‌های مختلف از جمله آلاینده‌های محیط زیستی، وجود فلزات سنگین و سموم مختلف بر اندام‌ها اثرات مخربی دارد (۲)

فلزات سنگین به عنوان یک مسئله خطر ساز در ابعاد مختلف می‌باشند و به طور جدی می‌توانند زیست انسان و سایر موجودات زنده را به خطر بیندازند و با اینکه عوارض فلزات سنگین در دنیا شناخته شده اما در کشور های در حال توسعه، در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین همچنان وجود دارد (۳). این ترکیبات با هدف قرار دادن پروتئین‌های مسئول آپوپتوز، تنظیم چرخه سلولی و DNA، متیلاسیون، ترمیم DNA، اختلال در رشد سلولی و تمایز، سبب القا آسیب در بافت‌های مختلف می‌شوند. همچنین برخی از فلزات سنگین از طریق کاهش انتقال دهنده‌های عصبی یا تجمع در میتوکندری باعث ایجاد سمیت عصبی شده و سنتز ATP را مختل می‌کنند (۴)

آلومینیوم (Al) فلزی با سمیت شناخته شده که در پاتوژنز بیماری‌های مختلف نقش دارد. مسمومیت با آلومینیوم، تشکیل گونه‌های واکنش گر اکسیژن را تشدید می‌کند که تولید بیش از حد ROS به نوبه خود می‌تواند منجر به وقوع استرس اکسیداتیو و نهایتاً آسیب به ماکرومولکول‌ها و بافت‌ها در بدن شود. اگر استرس اکسیداتیو مهار نشود سبب ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود. آلومینیوم عنصر سمی بوده و افرادی که در معرض ترکیبات یا پودر آن هستند را مسموم می‌کند و برای بافت‌هایی مانند مغز سمی می‌باشد (۵). در معرض قرار گرفتن آلومینیوم نیز تقریباً اجتناب ناپذیر است، انسان به واسطه استنشاق هوای محیط و مصرف غذا و آب در مواجهه با آلومینیوم قرار می‌گیرد. مصرف آلومینیوم به مقدار بیش از حد منجر به تجمع در اندام‌ها و باعث آسیب رساندن به بافت‌ها می‌شود (۶). مطالعات نشان داده است کلرید آلومینیوم از طریق پراکسیداسیون لیپیدی در تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن شرکت داشته و از این طریق سبب القا آسیب در سلول‌ها و بافت‌های مختلف می‌شود (۷-۸)

گیاهان حاوی طیف گسترده‌ای از مواد شیمیایی و آنتی

اکسیدان‌ها می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی و در نتیجه مانع پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن مرتبط با استرس اکسیداتیو و گونه‌های فعال اکسیژن شوند (۹)

گرده زنبور عسل که به عنوان داروی درمانی استفاده می‌شود، کاربردهای بالقوه پزشکی و تغذیه‌ای دارد، مانند ضد حساسیت، ضد قارچ، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد التهابی، محرک سیستم ایمنی، ضد درد موضعی، کاهش دهنده چربی، فعالیت‌های ضد سرطان و ضد ترومبوتیک (۱۰). ترکیب شیمیایی گرده زنبور عسل با تکنیک‌های کروماتوگرافی یا طیف سنجی شناسایی شده که از جمله این ترکیبات پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب ضروری، استرول‌ها، قند، فیبرخام، اسیدهای نوکلئیک، ویتامین‌ها می‌باشد که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشند (۱۱،۱۲)

در حال حاضر یکی از مرسوم‌ترین روش‌های استعمال دارو، مصرف خوراکی آن است. که نسبت به سایر روش‌های معمول مانند تزریق وریدی یا عضلانی راحت‌تر و بدون درد است. اما اثربخشی داروها در این شرایط به دلیل رفتارهای فارماکوکینتیک ضعیف از جمله فراهمی زیستی کم، محیط شدیداً اسیدی معده و آنزیم‌های موجود در آن و همچنین با توجه به ساختارهای حساس مولکول‌های دارویی که ناشی از گروه‌های عاملی آنهاست، بسیار محدود است (۱۳). بنابراین نیاز است داروها در طول مسیر تا رسیدن به مقصد تحویل دارو، محافظت شوند. با توجه به محیط لوله گوارش مانند اختلاف زیادی که در pH معده و روده وجود دارد، می‌توان نانوحامل‌هایی طراحی کرد که در محیط اسیدی معده مقاوم بوده و تغییرات زیادی از خود نشان ندهند اما در محیط بازی روده دستخوش تغییر شوند و بالعکس (۱۴)

کیتوزان یک پلی ساکارید طبیعی فراوان در طبیعت می‌باشد که از داستیل شدن کربو هیدرات کیتین بدست می‌آید. از جمله خصوصیات بارز این نانوحامل می‌توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب پذیری، سمیت پایین، خواص آنتی باکتریال، ضد حساسیت، ضد میکروب، کاهش دهنده التهاب و درد، آنتی اکسیدان، منعقد کننده خون، کاهش دهنده کلسترول، روش‌های آماده‌سازی ساده و ملایم و ارایه راهکارهای متنوع برای انتقال دارو، می‌باشد که مورد توجه قرار گرفته است.

از این رو کیتین، کیتوزان و رهاسازی داروها آینده روشنی را به عنوان یک عامل کمکی در انتقال دارو دارند (۱۵) در دو دهه گذشته تحقیقات روی نانوذرات کیتوزان گسترش یافته و برای کاربردهای دارویی مختلف مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه کلرید آلومینیوم یکی از مهم ترین آلاینده های زیست محیطی است که قادر به تولید رادیکال های آزاد و به دنبال آن ایجاد

استرس اکسیداتیو می باشد بنابراین، احتمالاً استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی به عنوان عامل حفاظتی در بافت های مختلف ضروری به نظر می رسد. از این رو، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل بر سطح شاخص های استرس اکسیداتیو بافت مغز موش صحرایی نر در معرض کلرید آلومینیوم می باشد

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از دانشگاه شهید بهشتی تهیه و یک هفته پیش از شروع آزمایش، موش ها به منظور سازش با محیط آزمایشگاه به حیوانخانه دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی منتقل و پس از نگهداری حیوانات و سازش با شرایط محیط جدید تمامی آزمایش ها انجام شد. موش ها در شرایط کنترل با سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، با درجه حرارت 22 ± 3 سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد بدون محدودیت در دسترسی به آب و غذا نگهداری شدند. آزمایشات در بازه زمانی مشخصی ساعت ۹ تا ۱۲ ظهر و منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و در کلیه روش ها، اصول اخلاقی مورد تایید دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی رعایت گردید (IR.IAU.CTB.REC.۱۴۰۳،۲۲۲).

کلرید آلومینیوم (100 kg/mg) و نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده گل زنبور عسل (200 kg/mg) از طریق گاوآذ به موش ها داده شد (۱۷،۱۶)

تهیه کیتوزان

کیتوزان با بالاترین خلوص از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شد

تهیه دانه گرده گل

دانه گرده گل زنبور عسل از بانک گیاهی مرکز ذخایر زیستی ایران تهیه شد

تهیه کلرید آلومینیوم

به منظور آلوده نمودن نمونه ها با کلرید آلومینیوم، این ماده شیمیایی با کد ۱۰۲۷۹۰ از شرکت آزمیران خریداری شد

تهیه عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل

برای تهیه عصاره، دانه گرده گل زنبور عسل 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 گیاهی دانه گرده گل 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 ی تهیه شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده، نگهداری شد (۱۸)

گروه بندی حیوانات

۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) که در شرایط ذکر شده نگهداری شدند، به طور تصادفی در ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند
گروه ۱: موش های این گروه فقط آب و غذای پلیت شده را به صورت روزانه دریافت کردند
گروه ۲: موش هایی که کلرید آلومینیوم (100 kg/mg) دریافت کردند
گروه ۳: موش های دریافت کننده نانوکیتوزان (۱ میلی لیتر)
گروه ۴: موش هایی که دریافت کننده کلرید آلومینیوم+ نانو کیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل (200 kg/mg) بودند

تهیه کیتوزان های حاوی عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل

۲ گرم پودر کیتوزان در ۲۰۰ میلی لیتر محلول اسید استیک (۱٪ V/V) حل شد. برای رقیق کردن محلول تهیه شده ۵۰ میلی-لیتر محلول کلرید سدیم (۳ گرم در لیتر) به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. برای تنظیم pH محلول ها، ۰/۵ مولار هیدروکسید سدیم اضافه گردید. با استفاده از فیلترها، کیتوزان نامحلول جداسازی و ۲۰ میلی لیتر محلول تری پلی فسفات سدیم (۳ گرم در لیتر) به مدت ۵ ساعت تحت همزن مغناطیسی با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به صورت قطره ای به نمونه ها اضافه و در نهایت جهت از بین بردن ناخالصی ها مجدد محلول ها در دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و رسوب کیتوزان سه بار با آب مقطر شسته و محصول در آون با دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت خشک و برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. بارگذاری عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل در طول تشکیل نانوذرات انجام شد. برای این منظور، ۳ گرم عصاره تهیه شده در ۱۰ میلی لیتر اتیل الکل در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حل و ۱۰ میلی لیتر توئین ۸۰ برای جلوگیری از تجمع عصاره دانه کرده گل به آن اضافه و این محلول تحت یک همزن مغناطیسی با دور ۱۰۰۰ جهت بارگذاری روی نانو به محلول کیتوزان با تری پلی فسفات سدیم اضافه شد (۳۰).

اندازه گیری اندازه نانو ذرات و پتانسیل زتا

اندازه گیری اندازه نانو ذرات و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه DLS و پتانسیل زتامدل Zetasizer Nano ZS ساخت شرکت Malvern کشور انگلستان انجام شد (۳۱).

نمونه گیری

پس از یک دوره تیمار ۳۵ روزه موش ها با نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبورعسل به روش گاواژ (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، با رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه تهران مرکزی، حیوانات توسط کتامین- زایلایزین ۱٪ یوتانایز شده، بافت مغز استخراج و جهت سنجش شاخص های اکسیدانی- آنتی اکسیدانی در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد

اندازه گیری سوپراکسید دسموتاز

در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز جهت تولید رادیکال های سوپراکسید استفاده می شود با واکنش رادیکال های سوپراکسید، رنگ قرمز فورمازون تولید می کنند که در طول موج ۵۰۵ nm اندازه گیری شد (۱۷)

اندازه گیری گلوکاتایون پراکسیداز

آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوکاتایون توسط کومن هیدروپراکسیدرا کاتالیز می نماید. در حضور آنزیم گلوکاتایون ردوکناز و NADPH، گلوکاتایون اکسید شده مجدداً به گلوکاتایون احیاء تبدیل می شود که همراه این احیاء با اکسیداسیون همزمان ADPH به NADP است. در این واکنش کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری شد (۲۱)

اندازه گیری مالون دی آلدئید

این روش بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید بوده و اندازه گیری جذب با روش اسپکتروفتومتری و مقایسه با منحنی استاندارد انجام شد (۲۲)

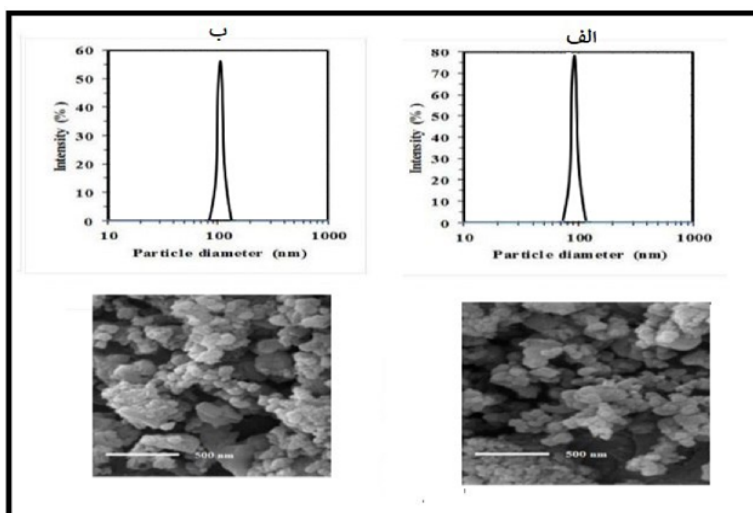
تحلیل داده ها

طبیعی بودن توزیع داده های به دست آمده با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی شد ($P > ۰/۰۵$). برای آنالیز داده های به دست آمده از این تحقیق، از نرم افزار SPSS، آزمون واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده و سطح معناداری نیز $P > ۰/۰۵$ در نظر گرفته و نتایج در هر مورد به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد

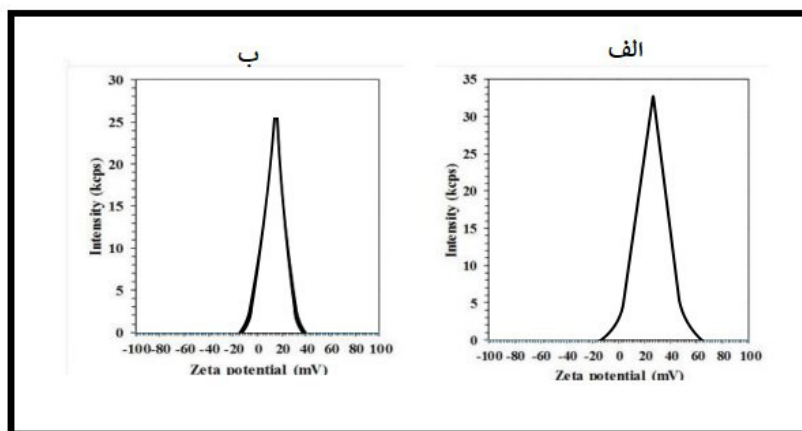
یافته ها

نمودار اندازه ذرات و ریخت شناسی نمونه های نانو کیتوزان و نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل به ترتیب در شکل ۱ الف و ب نشان داده شده است. میانگین اندازه ی نانوذرات کیتوزان بدون عصاره حدود ۹۰ نانومتر و میانگین اندازه نانوذرات کیتوزان حاوی عصاره هیدروالکلی حدود ۱۰۵ نانومتر بود. همچنین، نمودار توزیع بار سطحی نانوذرات کیتوزان با استفاده از آزمون پتانسیل زتا 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 کلوئیدی را نشان می دهد. پس از سنتز نانوذرات کیتوزان و بارگذاری عصاره، پتانسیل زتا روی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره انجام شد که نتیجه آن در شکل ۲ ب نشان داده شده است. بار سطحی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره نیز $+19/4$ میلی ولت گزارش شد. که نشان از پایداری ذرات کلوئیدی حامل عصاره دارد. از مقایسه ی پتانسیل زتای نشان می دهد که با اضافه شدن عصاره به نانوذرات، پتانسیل زتای آنها تغییر چندانی نداشته و نانوذرات همچنان پایدار باقی مانده است



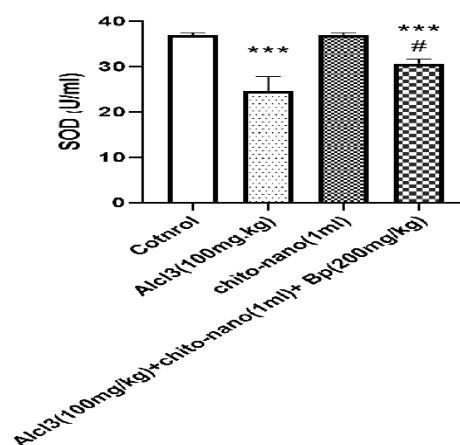
شکل ۱. نمودار اندازه ذرات و ریخت شناسی نمونه ها: الف: نانوذرات کیتوزان با متوسط اندازه ۹۰ نانومتر، ب: نانوکیتوزان حامل عصاره با متوسط اندازه ۱۰۵ نانومتر



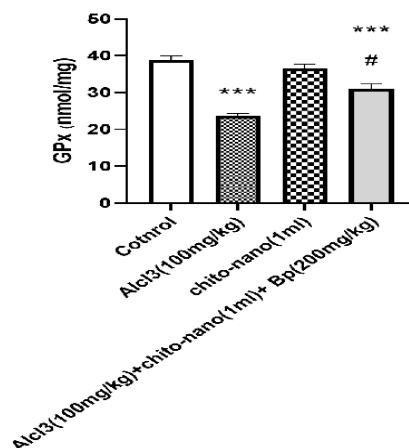
شکل ۲. نمودار پتانسیل زتا نمونه ها: الف: پتانسیل زتای نانوکیتوزان $(+20/5)$ ، ب: پتانسیل زتای نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل $(+19/4)$ میلی ولت

همچنین نمودار ۳ تغییرات سطح مالون دی آلدهید در گروه های مختلف را گزارش می دهد که بر این اساس، افزایش معنادار مالون دی آلدهید در گروه های دریافت کننده کلرید آلومینیوم و تیمارشده با نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده در مقایسه با گروه کنترل و در گروه تیمار، کاهش سطح مالون دی آلدهید بافت مغز در مقایسه با گروه آلوده نشان داده شده است ($P < 0.05$).

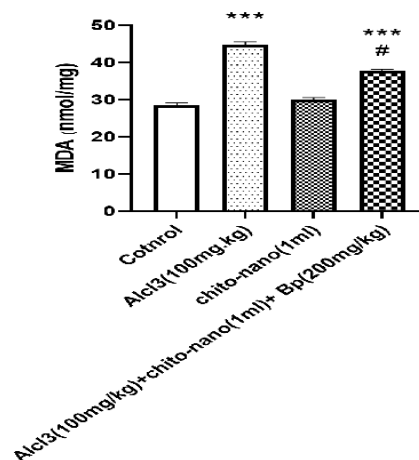
با توجه به نمودار ۱ تا ۲ و مقایسه گروه های مختلف، کاهش سطح سوپراکسیدسموتاز و گلوکاتیون پراکسیداز در بافت مغز گروه های دریافت کننده کلرید آلومینیوم و تیمارشده با نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری نشان داده شده است ($P < 0.01$). در حالیکه افزایش معنادار آنها در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم نیز قابل مشاهده است ($P < 0.05$).



نمودار ۱. مقایسه سطح سوپراکسید دسموتاز بافت مغز در گروه های مختلف آزمایش. نتایج براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده. $P < 0.001$ *** مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05$ # مقایسه با گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم



نمودار ۲. مقایسه سطح گلوکاتیون پراکسیداز بافت مغز در گروه های مختلف آزمایش. نتایج براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده. $P < 0.001$ *** مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05$ # مقایسه با گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم



نمودار ۳. مقایسه سطح مالون دی آلدئید بافت مغز در گروه های مختلف آزمایش. نتایج براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده. $P < 0.001^{***}$ مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05^{#}$ مقایسه با گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم

بحث

آلزینات حاوی کاتچین در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از کلرید آلومینیوم گزارش دادند که در موش های بیمار شده با آلومینیوم کلرید کاهش معنی داری در سطح آنتی اکسیدان تام مشاهده شد (۲۷). ال دمر داش و همکاران در سال ۲۰۲۴ در موش های دریافت کننده کلراید آلومینیوم تغییرات سطح شاخص های استرس اکسیداتیو کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و مالون دی آلدئید را گزارش دادند، همچنین نشان دادند که مصرف نانوکیتوزان حامل سیلیمارین منجر به افزایش معنادار کاتالاز و سوپراکسیددسموتاز و کاهش مالون دی آلدئید در گروه های دریافت کننده شد (۲۸). بررسی های مختلف نشان داده است که استرس های اکسیداتیو میتوانند موجب افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و یا کاهش توانایی سیستم های آنتی اکسیدان در مهار رادیکال های آزاد گردند. در حضور آلاینده ها، رادیکال های آزاد تولید شده بیش از مقدار آنتی اکسیدان های موجود در بدن است که توسط انواع آنتی اکسیدان ها مانند گلوکاتیون تا حدودی مهار می شود. بنابراین حضور این ترکیبات در بدن باعث لیپید پراکسیداسیون، آسیب DNA، اکسیداسیون پروتئین و تخریب فسفولیپیدها در غشای سلولی می شوند اکسیژن واکنشی علاوه بر اینکه پروتئین ها، کربوهیدرات ها و چربی ها را تغییر داده، انتقال دهنده ها و آنزیم ها

اگر چه به طور طبیعی حضور برخی از فلزات به منظور انجام فعالیت های بیولوژیکی موجودات زنده ضروری است اما انتشار آلاینده ها از منابع مختلف منجر به افزایش غلظت عناصر در سطوح خطرناک در محیط زیست برای موجودات زنده شده است (۲۳-۲۴). فلزات سنگین ترکیبات غیرقابل تجزیه ای هستند که در اشکال آلی و معدنی متعددی باقی می مانند (۲۵). تجمع فلزات سنگین در اندام های انسان تأثیر نامطلوبی بر سلامت انسان دارد. ماهیت تجزیه ناپذیر فلزات سنگین، سبب جهش زایی، القا سرطان و آسیب در اندام ها می شود (۲۶). در تحقیق حاضر اثر نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل زنبور عسل بر سطح شاخص های استرس اکسیداتیو بافت مغز موش های صحرایی نر نژاد ویستار آلوده به کلرید آلومینیوم بررسی شد در این پژوهش در گروه دریافت کننده کلرید آلومینیوم، تغییرات سطح شاخص های استرس اکسیداتیو بافت مغز مشاهده شد. نتایج بررسی در گروه موش های آلوده شده با کلرید آلومینیوم کاهش سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز و افزایش مالون دی آلدئید بافت مغز را مقایسه با گروه کنترل به طور معنادار نشان داده شد. محمد باغبان و همکاران در سال ۲۰۲۴ در بررسی اثرات محافظت کننده کبدی نانوذره کیتوزان/

را غیرفعال ساخته و به ماشین نسخه برداری و DNA آسیب می زند. همچنین اکسیژن و اکنشی، زنجیرهای از واکنش ها را آغاز می کند که، موجب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیраشباع در فسفولیپیدهای غشا می شود (۲۹)

در بخش دیگری از این پژوهش تاثیر نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل بر سطح شاخص های استرس اکسیدانیو مورد بررسی قرار گرفت که، در گروه موش های آلوده تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل افزایش سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاهش مالون دی آلدئید بافت مغز را مقایسه با گروه آلوده به طور معنا دار مشاهده شد. در تحقیق انجام شده توسط بیابانی و کشتمند در سال ۲۰۲۵ اثر نانوکیتوزان حامل عصاره دانه گرده گل زنبورعسل بر سطح آنتی اکسیدان ها و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد موش آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شد که در گروه دریافت کننده نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل افزایش سطح شاخص های کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و ظرفیت کامل آنتی اکسیدان و کاهش سطح مالون دی آلدئید در مقایسه با گروه آلوده به باکتری نشان داده شد (۳۰) که نتایج این پژوهش نیز همسو با مطالعات پیشین است. ندا سیستانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ در بررسی ایمنی گرده گل زنبور عسل بر عملکرد، استرس اکسیداتیو و تغییرات هیستوپاتولوژی کبد، کلیه و پانکراس موش صحرایی مشاهده کردند که گرده گل زنبور عسل ویژگی های درمانی دارد و به عنوان یک ماده مغذی می تواند با افزایش محتوای گلوکاتایون و ظرفیت آنتی اکسیدانی بدن برای انسان مفید و اثربخش باشد. این ماده در این پژوهش هیچ اثر سمیتی روی اندام های کبد، کلیه و پانکراس ایجاد نکرد و حتی توانست ارگان-ارگان های حیاتی را در شرایط استرس اکسیداتیو حفاظت کند (۳۱). اراسلان و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی نقش گرده گل روی ماده مخرب و سمی پروپکسور پرداختند و مشاهده شد که گرده گل سبب کاهش میزان مالون دی آلدئید و افزایش سطح گلوکاتایون بافت کلیه شده که به علت نقش آنتی اکسیدانی گرده گل می شود (۳۲). در مطالعه دیگری توسط این محقق و همکارانش در سال ۲۰۰۹ به بررسی اثرات بهبوددهنده و محافظتی گرده گل روی ماده سمی کارباریل پرداختند و به نتایج مشابهی

در این زمینه دست یافتند (۳۳). آنا ساریک و همکاران در مطالعاتی جداگانه اثرات و ویژگی های گرده گل زنبور عسل در موش سفید کوچک را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که همه گونه های گرده گل دارای مقدار قابل توجهی ترکیباتی فنولی و ویتامین آسکوربات با ویژگی های آنتی اکسیدانی هستند که می تواند تأثیر بسزایی در محافظت و سلامت ارگان های مختلف داشته باشد (۳۴). دانه گرده گل حاوی ترکیبات پلی فنلی از جمله اولئوروپین، فلاونوئیدها و تری ترپن ها می باشد که در برابر استرس اکسیداتیو دارای اثرات محافظت کنندگی و مهمی در سلامتی می باشند و باعث افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در برابر استرس اکسیداتیو می گردند. از این رو اخیراً به دلیل ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا مورد توجه قرار گرفته است. سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم های آنتی اکسیدان مهمی هستند که در پاک کردن سوپر اکسید و آب اکسیژنه شرکت می کنند و بدین ترتیب در حفظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی غشاها موثر هستند (۳۵). سوپر اکسید دسموتاز به عنوان شاخص بیوشیمیایی جهت بررسی وضعیت آسیب در استرس اکسیداتیو به کار می رود و به همراه آنزیم کاتالاز نخستین خط دفاعی بدن را در برابر آنتی اکسیدان ها تشکیل می دهد. فعالیت پائین سوپر اکسید دسموتاز در موش های صحرایی آلوده به کلرید آلومینیوم ممکن است ناشی از تولید بیش از حد اکسیژن واکنشی باشد (۳۶). به طور کلی، پذیرفته شده است که آنتی اکسیدان ها قدرت پاک کنندگی رادیکال های آزاد را دارند. آنتی اکسیدان ها (مهارکننده های پراکسیداسیون چربی) نه تنها به عنوان نگهدارنده های غذایی بلکه به عنوان عوامل دفاعی سلول-های زنده در برابر آسیب اکسیداتیو محسوب می شوند (۳۷)

باتوجه به ترکیبات پلی فنولیک موجود در دانه گرده، احتمالاً با افزایش دادن ترشح آدیپونکتین، باعث القای تولید سائتوکین ضدالتهابی اینترلوکین ۱۰ و فعالیت $TNF-\alpha$ می گردد. بنابراین IL-1۰ به طور مستقیم موجب افزایش سطح SOD و فعالیت $TNF-\alpha$ و در نهایت افزایش سطح آنتی اکسیدانی تام بدن می شود (۳۸). ترکیبات فنولی موجود در دانه گرده گل (۲۴) می توانند یک اتم هیدروژن را از گروه OH آروماتیک به رادیکال آزاد داده و آن را خنثی کنند. با این روش کاهش محصولات استرس-اکسیداتیو از جمله مالون دی آلدید را به دنبال خواهد

داشت. از سویی عصاره دانه گرده گل به دلیل خواص آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش مالون دی آلدهید شده است. سوپراکسید دسموتاز جزء آنزیم های آنتی اکسیدانی و به نوعی یکی از مهم ترین آنها محسوب می شود که در روند خنثی سازی گونه های فعال

اکسیژن یا ROS مشارکت دارد و واکنشی را کاتالیز می کند که طی آن آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می شود و به این طریق اثرات توکسیک سوپراکسید کاهش می یابد (۳۹).

نتیجه گیری

در این مطالعه اثربخشی نانوکیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل بر سطح آنتی اکسیدان های بافت مغز در موش های صحرایی نر در معرض کلرید آلومینیوم نشان داده شده است. از آنجایی که توانایی حذف و به دام انداختن آلایندها توسط برخی از گیاهان امکان پذیر است از این رو شناسایی و معرفی این گیاهان نیازمند مطالعات بیشتر و دقیق تر می باشد و بررسی ها نشان داده است که استفاده از گیاهان ممکن است

رویکرد خوبی برای مقابله با کاهش آسیب های القایی فلزات سنگین در انواع مختلف بافت ها داشته باشد و می تواند یک کاندیدای امیدوارکننده برای زیست پالایی و حذف آلایندهای مختلف زیستی در بدن باشند. از این رو احتمالاً، مصرف نانو کیتوزان حامل عصاره هیدروالکلی دانه گرده گل، یک راه ساده و موثر برای کاهش آسیب های آلایندهای جذب شده از جمله کلرید آلومینیوم می باشد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاران مجتمع آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی تشکر می نمایند

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

1. Zghari O, Azirar S, Lamtai M, El Hessni A, Ouichou A, Mesfioui A. Intrahippocampal dose-dependent effects of aluminum injection on affective and cognitive response in male Wistar rat: potential role of oxidative stress. *Egypt J Basic Appl Sci.* 2023;10(1):460–75. doi: 10.1080/2314808X.2023.2229623.
2. Geravand S, Karami M, Sahraei H, Rahimi F. Protective effects of L-arginine on Alzheimer's disease: Modulating hippocampal nitric oxide levels and memory deficits in aluminum chloride-induced rat model. *Eur J Pharmacol.* 2023;958:176030. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.176030.
3. Shahabuddin F, Naseem S, Alam T, Khan AA, Khan F. Chronic aluminium chloride exposure induces redox imbalance, metabolic distress, DNA damage, and histopathologic alterations in Wistar rat liver. *Toxicol Ind Health.* 2024;40(11):581–95. doi: 10.1177/07482337241269784.
4. Kaya S, Yalçın T, Boydak M, Dönmez HH. Protective effect of N-acetylcysteine against aluminum-induced kidney tissue damage in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2023;201(4):1806–15.
5. Elganzoury SS, Abdelfattah MS, Habotta OA, et al. Neuro-amelioration of Ficus lyrata extract conjugated with selenium nanoparticles against aluminium toxicity in rat brain: relevance to neurotransmitters, oxidative, inflammatory, and apoptotic events. *Environ Sci Pollut Res.* 2023;30(24):65822–34. doi: 10.1007/s11356-023-27057-3.
6. Mert H, Kerem Ö, Mıs L, Yıldırım S, Mert N. Effects of protocatechuic acid against cisplatin-induced neurotoxicity in rat brains: an experimental study. *Int J Neurosci.* 2024;134(7):725–34. doi: 10.1080/00207454.2022.2147430.
7. Kadhim A, Ben Slima A, Alneamah G, Makni M. Assessment of histopathological alterations and oxidative stress in the liver and kidney of male rats following exposure to aluminum chloride. *J Toxicol.* 2024;2024:3997463. doi: 10.1155/2024/3997463.
8. Ebhodaghe CI, Enogieru AB. Aluminium chloride-induced cerebral toxicity in Wistar rats: anticholinesterase and antioxidant effects of ascorbic acid. *JOPAT.* 2024;23(2):1548–56. doi: 10.4314/jopat.v23i2.12.
9. Ben Bacha A, Norah AO, Al-Osaimi M, et al. The therapeutic and protective effects of bee pollen against prenatal methylmercury induced neurotoxicity in rat pups. *Metab Brain Dis.* 2020;35:215–24. doi: 10.1007/s11011-019-00496-z.
10. Hu Y, Chen S, Yan W, et al. Rape bee pollen alleviates renal tissue damage in diabetic rats via anti-inflammation, anti-oxidation, and modulating gut microbiota. *eFood.* 2023;4(4):e101. doi: 10.1002/efd2.101.
11. Boshra AE, Hassan NM, Ibrahim S, Elsayed S. A comparative study of Egyptian bee pollen and propolis extracts: impacts on metabolic profile, liver, and kidney functions in diabetic rats induced by streptozotocin. *VMJG.* 2024;70(1):106–30. doi: 10.21608/VMJG.2024.319718.1039.
12. Farid A, Mohamed A, Ahmed A, Mehanny F, Safwat G. Preparation of bee venom-loaded chitosan nanoparticles for treatment of streptozotocin-induced diabetes in male Sprague Dawley rats. *BJBAS.* 2024;13:97. doi: 10.1186/s43088-024-00557-y.
13. Alshehri KM, Abdella EM. Development of ternary nanoformulation comprising bee pollen-thymol oil extracts and chitosan nanoparticles for anti-inflammatory and anticancer applications. *Int J Biol Macromol.* 2023;242:124584. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124584.
14. Samak DH, Abd-Ellatieff HA, Khalil RH, Saleh NA, Saleh HM. Mitigation of cadmium toxicity in African catfish using biological nano chitosan: insights into biochemical, genotoxic, and histopathological effects. *BMC Vet Res.* 2025;21:278. doi: 10.1186/s12917-025-04673-4.
15. Kira AY, Elmorsy EA, Hamad RS, et al. Nicardipine-chitosan nanoparticles alleviate thioacetamide-induced acute liver injury by targeting NFKB/NLRP3/IL-1 β signaling in rats: Unraveling new roles beyond calcium channel blocking. *Int Immunopharmacol.* 2024;141:113000. doi: 10.1016/j.intimp.2024.113000.
16. Hindawy RF, Manawy SM, Nafea OE, Abdelhameed AA, Hendawi FF. Moringa oleifera leaves ethanolic extract counteracts cortical neurodegeneration induced by aluminum chloride in rats. *Toxicol Res.* 2024;13(2):tfae028. doi: 10.1093/toxres/tfae028.
17. El-Amawy AA, Zaahkouk SA, AbdelRasheed HG, Elarabi BE. The protective efficacy of propolis against multi heavy metals-induced oxidative stress and hepato-renal damage in males of albino rats. *Egypt J Chem.* 2023;66(3):289–300. doi: 10.21608/EJCHEM.2022.132369.5843.
18. Ghudhaib KK, Khaleel FM. Evaluation of SOD and MDA levels with the cytotoxicity of some plant extracts toward human rhabdomyosarcoma

cell lines. *Baghdad Sci J.* 2025;22(3). doi: 10.21123/bsj.2024.10992.

19. Fouda K, Mohamed RS. Alginate beads with encapsulated date palm pollen extract: development, characterization and their potential role in hepatoprotection and fertility-stimulating hormones improvement in bisphenol A-treated rats. *Polymers.* 2025;17(7):912. doi: 10.3390/polym17070912.

20. Okasha H, Dahroug H, Gouda AE, Shemis MA. A novel antibacterial approach of Cecropin-B peptide loaded on chitosan nanoparticles against MDR *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Amino Acids.* 2023;55:1965–80. doi: 10.1007/s00726-023-03356-4.

21. Benamer Oudih S, Tahtat D, Nacer Khodja A, Mahlous M, Hammache Y, Guittoum AE, Kebbouche Gana S. Chitosan nanoparticles with controlled size and zeta potential. *Polym Eng Sci.* 2023;63(3):1011–21. doi: 10.1002/pen.26261.

22. Adel Mohamed Mahmoud N, Salah E, Abd Elrhman E, Elkomy A. Propolis alleviated cisplatin-induced hepatorenal oxidative stress and apoptosis. *BVMJ.* 2024;46(1):12–9. doi: 10.21608/BVMJ.2024.250114.1755.

23. Mirkov I, Stojković D, Aleksandrov AP, et al. Plant extracts and isolated compounds reduce parameters of oxidative stress induced by heavy metals: an up-to-date review on animal studies. *Curr Pharm Des.* 2020;26(16):1799–815. doi: 10.2174/1381612826666200407163408.

24. Ceramella J, De Maio AC, Basile G, et al. Phytochemicals involved in mitigating silent toxicity induced by heavy metals. *Foods.* 2024;13(7):978. doi: 10.3390/foods13070978.

25. Pathak A, Singh S, Sharma S. Unveiling the hepatoprotective and lipid-boosting power of *Cichorium intybus* extract in countering lead and nickel-induced toxicity. *JVPT.* 2023;22(1):77–83. doi: 10.1016/j.fct.2024.114595.

26. Renu K, Mukherjee AG, Gopalakrishnan AV, et al. Protective effects of macromolecular polyphenols, metals (zinc, selenium, and copper)-polyphenol complexes, and different organs with an emphasis on arsenic poisoning: a review. *Int J Biol Macromol.* 2023;253:126715. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126715.

27. Mohammadbaghban E, Taravati A, Najafzadehvarzi H, Khaleghzadeh-Ahangar H, Tohidi F. Oral administration of encapsulated catechin in chitosan-alginate nanoparticles improves cognitive function and neurodegeneration in an aluminum chloride-induced rat model of Alzheimer's disease.

Physiol Rep. 2024;12(13):e16095. doi: 10.14814/phy2.16095.

28. El-Demerdash FM, Ahmed MM, Kang W, Mohamed TM, Radwan AM. Hepatoprotective effect of silymarin-chitosan nanocomposite against aluminum-induced oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Tissue Cell.* 2024;91:102591. doi: 10.1016/j.tice.2024.102591.

29. Othman MS, Fareid MA, Abdel Hameed RS, Abdel Moneim AE. The protective effects of melatonin on aluminum-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:7375136. doi: 10.1155/2020/7375136.

30. Zbiabani Z, Keshtmand Z. The effect of nanochitosan carrying bee pollen extract on the level of antioxidants and lipid peroxidation in the liver tissue of mice infected with *Staphylococcus aureus*. *Dev Biol.* 2025;17(1):1–13.

31. Sistani Karampour N, Bagheri MJ, Khorsandi LS, Dehghan Mohammadi Z, Salehcheh M, Honarmand H. Investigating the safety of bee pollen on performance, oxidative stress, and histopathological changes in the liver, kidney, and pancreas of rats. *CMJA.* 2022;11(4):330–45.

32. Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Liman BC, Altinordulu S, Sarica ZS. Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2009;72(3):931–7. doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.06.008.

33. Eraslan G, Kanbur M, Silici S. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: the ameliorative effect of bee pollen. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(1):86–91. doi: 10.1016/j.fct.2008.10.013.

34. Sarić A, Balog T, Sobocanec S, et al. Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cistus incanus* L. rich bee pollen. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(3):547–54. doi: 10.1016/j.fct.2008.12.007.

35. Kacemi R, Campos MG. Translational proofs on bee pollen as a source of biopharmaceuticals for neurodegeneration and cancer research: a scoping review and prospective reflections. *Molecules.* 2024;29:5893. doi: 10.3390/molecules29245893.

36. Abedi H, Shahpiri A. Functional characterization of a manganese superoxide dismutase from *Avicennia marina*: insights into its role in salt, hydrogen peroxide, and heavy metal tolerance. *Sci Rep.* 2024;14:406. doi: 10.1038/s41598-023-50851-5.

bsj.2024.10992.

37. Sani A, Darma AI, Abdullahi IL, Musa BU, Imam FA. Heavy metals mixture affects the blood and antioxidant defense system of mice. *J Hazard*

Mater Adv. 2023;11:100340. doi: 10.1016/j.hazadv.2023.100340.

38. Anjum SI, Ullah A, Gohar F, et al. Bee pollen as a food and feed supplement and a therapeutic remedy: recent trends in nanotechnology. Front Nutr. 2024;11:1371672. doi: 10.3389/fnut.2024.1371672.

39. Rupanar SV, Satpute R, Gadhave P, Kakade

N. Bee pollen beyond nutrition: an integrated review of its chemical, pharmacological, and biological properties. JDRAS. 2024;9(4):211-21. doi: 10.1177/22785315241257338.