Protective effect of nanochitosan-loaded *lepidium draba* extract on sperm parameters and oxidative stress markers in male rats infected with *staphylococcus aureus*

Zahra keshtmand[1*] ,Fateme Dolatkhah[1]

[1]Department of biology, CT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received Date:2026.02.06 Accepted Date:2026.09.06

Abstract

Bacterial infections, including *Staphylococcus aureus*, can impair testicular tissue and sperm quality by causing oxidative stress and inflammation. The aim of this study was to investigate the protective effects of nanochitosan-loaded - *Lepidium draba* extract on sperm parameters and oxidative stress indices in rats infected with *Staphylococcus aureus*. In this experimental study,28 adult male Wistar rats weighing 180-220 g were divided into four groups control, infected with *Staphylococcus aureus*(10^8CFU/ml) infected model+receiving nanochitosan (1 ml),and infected model+receiving nanochitosan carrying the plant *Lepidium draba* extract (200 mg/kg).Treatment was administered for 30 days via gavage. After the end of the period, the animals were anesthetized and epididymal and testicular tissue were extracted to examine sperm parameters (number, viability, sperm morphology) and testicular tissue oxidative stress indices(superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, total antioxidant capacity, and malondialdehhyde).The results showed that in the bacteria-infected group compared to the control group, a significant decrease was observed in sperm parameters (count, viability, normal morphology)and antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity), along with a significant increase in malondialdehyde levels ($p < 0.001$). In the group treated with chitosan nanoparticles loaded with *Lepidium draba* extract, a significant increase in sperm parameters and antioxidant levels, as well as a significant decrease in malondialdehyde levels, was observed compared to the infected group ($p < 0.05$). These findings indicate that nanochitosan carrying - *Lepidium draba* extract protects epididymal and testicular function by modulating oxidative stress and can possibly be used as a complementary treatment for infertility associated with bacterial infection.

Keywords: *Lepidium draba*, Nanochitosan,Oxidative stress, Sperm parameters, *Staphylococcus aureus*

* zkeshtmand2001@gmail.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

Protective effect of nanochitosan-loaded *lepidium draba* extract on sperm parameters and oxidative stress markers in male rats infected with *staphylococcus aureus*

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Bacterial infections, especially those caused by important pathogens such as *Staphylococcus aureus*, can have significant detrimental effects on male reproductive health. The main mechanism of this damage is the creation of inflammation and, in particular, the induction of oxidative stress in testicular tissue. Under conditions of oxidative stress, the balance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the body's antioxidant defense system is disrupted. Increased ROS damage the membranes, proteins, and DNA of germ cells (spermatozoa) and testicular Sertoli and Leydig cells. This damage leads to impaired spermatogenesis, reduced sperm quality and function, and ultimately infertility. On the other hand, common antibiotic treatments, although targeting the infection, do not necessarily repair the oxidative damage caused. Therefore, finding adjuvant solutions with strong antioxidant properties to protect testicular tissue during and after infection seems essential. Medicinal plants have always been of interest to researchers as rich sources of bioactive compounds with antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties is an endemic *Lepidium draba* extract plant of Iran that is used in traditional medicine to treat a variety of diseases. Various studies have proven the antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties of this plant extract. However, direct use of plant extracts may face limitations such as low stability, limited solubility and insufficient absorption. anotechnology can overcome these challenges by providing suitable carriers. Nanochitosan is a biocompatible and biodegradable natural polymer that, due to its positive charge and unique properties, has the ability to bind and efficiently transport pharmaceutical compounds and can increase their stability and bioavailability. Loading of *Lepidium draba* extract into chitosan nanoparticles can create a more targeted and effective drug delivery system. This study was designed and conducted to evaluate the protective effects of *Lepidium draba* extract plant extract loaded into chitosan nanoparticles (nanochitosan **-***Lepidium draba*) on sperm parameters and oxidative stress indices in the testes of male rat infected with *Staphylococcus aureus*. This experimental study evaluated the protective effects of nanochitosan-loaded *Lepidium draba* L. extract on sperm parameters and oxidative stress markers in male Wistar rats systemically infected with *S. aureus*.

Material and methods: In this experimental study, 28 adults male Wistar rats weighing 180-220 g were divided into four groups: control, infected with Staphylococcus aureus (10^8 CFU/ml), infected model +receiving nanochitosan (1 ml), and infected model + receiving nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract (200 mg/kg). Treatment was administered for 30 days via gavage. After the end of the period, the animals were anesthetized and epididymal and testicular tissue were extracted to examine sperm parameters (number, viability, sperm morphology) and testicular tissue oxidative stress indices (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity, and MDA). Data analysis in different groups was performed using SPSS software and one-way ANOVA, and $P<0.05$ was considered significant.

Result: The results showed that in the group infected with bacteria, compared to the control group, there was a significant decrease in sperm parameters (number, viability, sperm morphology) and antioxidant activity levels (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, total antioxidant capacity) and an increase in malondialdehyde levels ($p < 0.001$). In contrast, in the group treated with nanochitosan carrying - *Lepidium draba* extract, a significant increase in sperm parameters and antioxidant levels and a decrease in MDA were observed ($p < 0.05$).

Conclusion: Treatment with chitosan nanoparticles improved the indices to some extent, which is probably related to the inherent immunomodulatory and weak antioxidant properties of chitosan. However, the most effective improvement was observed in the group treated with nanochitosan carrying *Lepidium draba* extract. In this group, all sperm parameters (number, viability and morphology) showed a statistically significant improvement ($p < 0.05$) compared to the infected group. At the same time, the antioxidant enzyme activities of SOD, GPx and CAT as well as the TAC level in the testicular tissue increased significantly, and the MDA level decreased ($p < 0.05$). These results indicate that the effective combination of *Lepidium draba* extract with the chitosan nanocarrier system has been able to synergistically enhance antioxidant defense, inhibit oxidative stress, and thus protect testicular cells and the spermatogenesis process from damage caused by infection. It can be concluded that *Staphylococcus aureus* infection severely impairs sperm quality and quantity by intensifying oxidative stress and weakening the testicular antioxidant system. *Lepidium draba* plant extract loaded in chitosan nanoparticles, with its strong antioxidant and anti-inflammatory potential and taking advantage of the advantages of nanotechnology (increased stability and absorption), is able to modulate oxidative stress, restore endogenous antioxidant defense, and ultimately improve sperm parameters.Therefore, this nanoformulation can be considered as a complementary and promising therapeutic option alongside conventional antimicrobial treatments to maintain male reproductive health in the face of bacterial infections and prevent infertility caused by it. Further studies are

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

recommended to identify the exact active ingredients of the extract as well as to evaluate the molecular mechanisms of these protective effects.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

اثر محافظتی نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک بر پارامترهای اسپرم و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس*

زهرا کشتمند[1*] ، فاطمه دولت‌خواه[2]

[1]گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۵

چکیده

عفونت‌های باکتریایی، از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، می توانند با ایجاد استرس اکسیداتیو و التهاب، بافت بیضه و کیفیت اسپرم را مختل کنند.هدف این مطالعه بررسی اثرات محافظتی عصاره ازمک بارگذاری‌شده در نانوکیتوزان بر پارامترهای اسپرم و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستارآلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.در این مطالعه تجربی،۲۸ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۱۸۰ گرم در چهار گروه کنترل، آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* CFU (۱۰^۸/ ml)، مدل آلوده +دریافت‌کننده نانوکیتوزان(۱ ml) و مدل آلوده + دریافت‌کننده نانوکیتوزان حامل گیاه عصاره ازمک(۲۰۰ mg/kg) تقسیم شدند. درمان به مدت ۳۰ روز از طریق گاواژ تجویز شد. بعد از پایان دوره، حیوانات بیهوش شده و بافت اپیدیدیم و بیضه جهت بررسی پارامترهای اسپرم(تعداد، زنده‌مانی، مورفولوژی اسپرم) و شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت بیضه،(سوپراکسیددیسموتاز، گوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، ظرفیت کامل آنتی‌اکسیدانی و مالون دی آلدهید) استخراج شدند. نتایج نشان داد که در گروه آلوده به باکتری در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در پارامترهای اسپرم (تعداد، زنده‌مانی، مورفولوژی طبیعی) و سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی(سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، ظرفیت کامل آنتی‌اکسیدانی) همراه با افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدهید مشاهده گردید (p <۰/۰۰۱).در گروه تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک، افزایش معنی‌داری در پارامترهای اسپرم و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید نسبت به گروه آلوده مشاهده شد (p <۰/۰۵).این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک با تعدیل استرس اکسیداتیو، عملکرد اپیدیدیم و بیضه را محافظت کرده و احتمالامی تواند به‌عنوان یک درمان مکمل برای ناباروری مرتبط با عفونت باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ازمک، استرس اکسیداتیو، پارامترهای اسپرم، نانوکیتوزان

[1] Zahra.keshtmand@iau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

مقدمه

ناباوری مردان معضلی پیچیده با ابعاد پزشکی و روانی-اجتماعی گسترده است که سهم قابل‌توجهی در ناباروری زوجین دارد. برآوردها نشان می‌دهد حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد از موارد ناباروری، منشأ مردانه داشته و کیفیت و عملکرد اسپرم، نقش محوری در این زمینه ایفا می‌کند (۱). در میان عوامل متعدد مؤثر بر اسپرماتوژنز و سلامت اسپرم، عفونت‌های دستگاه تناسلی و سیستمیک به‌عنوان یکی از عوامل قابل‌توجه آسیب‌زای بالقوه شناخته می‌شوند (۲). استافیلوکوکوس اورئوس، به‌عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب شایع و با قابلیت ایجاد عفونت‌های متنوع، می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مستقیم (نفوذ به بافت) و غیرمستقیم (ترشح توکسین و ایجاد التهاب سیستمیک)، بر عملکرد بیضه تأثیر بگذارد (۳). مطالعات نشان داده‌اند که عفونت ناشی از این باکتری می‌تواند منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و برهم زدن تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی در محیط بیضه شود (۴). استرس اکسیداتیو ایجادشده، با آسیب به سلول‌های سرتولی و لیدیگ، مختل کردن فرآیند اسپرماتوژنز و همچنین تخریب غشای اسپرماتوزوئیدها و DNAآن‌ها، به کاهش معنی‌دار در شاخص‌های کلیدی اسپرم از جمله شمارش، تحرک پیشرونده، زنده‌مانی و مورفولوژی طبیعی می‌انجامد (۵).

درمان استاندارد فعلی در مواجهه با عفونت‌های باکتریایی مانند استافیلوکوک، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هاست. بااین‌حال، افزایش نگران‌کننده سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک (مانند MRSA)از یک‌سو و نگرانی‌های موجود در مورد اثرات جانبی احتمالی برخی داروهای ضد میکروبی بر اسپرماتوژنز و پارامترهای هورمونی از سوی دیگر، لزوم جست‌وجو برای راهکارهای درمانی جایگزین یا مکمل را دوچندان کرده است (۶). در این زمینه، رویکردهای مبتنی بر طب مکمل و استفاده از ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی، به دلیل پروفایل ایمنی بهتر و اثرات چندگانه، موردتوجه فراوان قرارگرفته‌اند (۷). ترکیبات طبیعی با مهار رادیکال‌های آزاد، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌توانند آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از عفونت را ترمیم کرده و کیفیت اسپرم را بهبود بخشند (۸).

گیاه ازمک (*Lepidium draba*) از تیره شب‌بوها، یکی از گیاهان بومی ایران است که در طب سنتی برای برخی اختلالات مورداستفاده قرارگرفته است. مطالعات فیتوشیمیایی وجود ترکیبات ارزشمندی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و مقادیر قابل‌توجهی ویتامین C را در این گیاه تأیید کرده‌اند که همگی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی قوی مرتبط هستند (۷). باوجوداین پتانسیل، استفاده درمانی از عصاره‌های گیاهی خام اغلب با چالش‌هایی مانند حلالیت ضعیف، پایداری کم در شرایط فیزیولوژیک، جذب ناکافی و تجزیه سریع مواجه است که دستیابی به غلظت مؤثر در بافت هدف را محدود می‌سازد(۸). در سال‌های اخیر، نانوتکنولوژی دارویی با معرفی سامانه‌های نوین رهایش دارو، راه‌حل‌های امیدوارکننده‌ای برای غلبه بر این محدودیت‌ها ارائه کرده است (۹). در این میان، نانوذرات کیتوزان به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد از جمله زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری بالا، سمیت بسیار کم، بار سطحی مثبت که امکان اتصال به بار منفی غشای سلولی را فراهم می‌آورد و قابلیت بارگذاری و رهایش کنترل‌شده و هدفمند ترکیبات فعال، به یکی از نانوحامل‌های پرکاربرد در حوزه دارورسانی تبدیل‌شده‌اند (۹،۱۰). بارگذاری عصاره گیاهی بر روی این نانوذرات می‌تواند ضمن افزایش پایداری و زیست‌فراهمی ترکیبات مؤثره، امکان تجمع هدفمند در بافت ملتهب یا آسیب‌دیده را نیز فراهم کند(۱۰).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

با توجه به مطالب فوق، اگرچه اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره ازمک و همچنین پتانسیل درمانی نانوکیتوزان در مدل‌های مختلف بیماری به‌طور جداگانه موردبررسی قرار گرفته‌اند، اما تاکنون مطالعه‌ای به ارزیابی اثر هم‌زمان نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک بر بهبود پارامترهای اسپرم و تعدیل شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت بیضه در یک مدل عفونت باکتریایی سیستمیک نپرداخته است. پر کردن این خلأ پژوهشی می‌تواند گامی مهم در جهت ارائه یک راهبرد درمانی ترکیبی و نوین برای حفاظت از عملکرد تولیدمثلی در شرایط التهابی و عفونی باشد. هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثر تجویز خوراکی نانوکیتوزان بارگذاری شده با عصاره هیدروالکلی گیاه ازمک بر برخی از پارامترهای اسپرم (شمارش، تحرک، زنده‌مانی و مورفولوژی) و نیز اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز) و مارکر پراکسیداسیون لیپیدی (مالون‌دی‌آلدهید) در بافت بیضه موش‌های صحرایی نر آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح مطالعه

این مطالعه تجربی بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و به مدت یک هفته در شرایط استاندارد حیوان خانه (دمای ۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵۰-۶۰٪ و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد) باهدف انطباق با محیط نگهداری شدند. کلیه پروتکل‌های کار با حیوانات مطابق با دستورالعمل‌های بین‌المللی رفاه حیوانات آزمایشگاهی‌و با کسب مجوز از کمیته اخلاق(کداخلاق IR.IAU.SRB.REC.1403.339)انجام گ رفت.

تهیه مواد بیوشیمیایی

باکتری *استافیوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. گیاه ازمک با شماره هرباریوم K001625776 از مرکز ذخایر ژنتیکی ایران تهیه شد. پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط ۳۰ کیلو دالتون و درجه استیل ۸۵٪ از شرکت سیگما-آلدریچ (آلمان) تهیه گردید. همچنین نمک تری پلی فسفات سدیم (TPP) از شرکت سیگما-آلدریچ (آلمان) تهیه شد.

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات به صورت تصادفی در چهار گروه هفت‌تایی تقسیم شدند:

گروه کنترل :تنها آب و مواد غذایی روزانه را به صورت گاواژ دریافت کردند.

گروه آلوده :با *استافیلوکوکوس اورئوس* سویه ATCC 25923به غلظت 10^8CFU/ml به صورت تک‌دوز و از طریق تزریق درون صفاقی آلوده شدند (۱۱).

گروه آلوده +نانوکیتوزان :گروه آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* که نانوکیتوزان (۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون) را به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند.

گروه تیمار :ابتدا مشابه گروه آلوده، با باکتری آلوده‌شده و سپس به مدت ۳۰ روز، نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را به صورت گاواژ دریافت کردند (۱۲).

تهیه عصاره گیاه ازمک

پس از جمع‌آوری گیاه ازمک (*Lepidium draba*) از منطقه مورد نظر و تایید توسط کارشناس گیاهی، در محیط

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

سایه و در دمای متعارف آزمایشگاه (دمای محیط) به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. پس از اطمینان از خشک شدن کامل، وزن خشک گیاه با استفاده از ترازوی دقیق دیجیتال اندازه‌گیری شد که معادل ۵۰ گرم بود. نمونه‌های خشک شده با استفاده از یک آسیاب مکانیکی صنعتی به پودری نرم تبدیل شدند تا سطح تماس آن‌ها با حلال در فرآیند استخراج به حداکثر برسد؛ وزن پودر حاصل از آسیاب حدود ۴۸ گرم به دست آمد. برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال، از روش کارآمد سوکسله و حلال اتانول-آب با نسبت ۷۰ به ۳۰ (حجمی/حجمی) استفاده شد و پودر حاصل به همراه ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال در بالن دستگاه سوکسله قرار داده شد. فرآیند استخراج به مدت ۶ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. حلال از عصاره خام با استفاده از دستگاه روتاری اواپوراتور، تحت شرایط خلأ و در دمای کنترل‌شده ۴۵ درجه سانتی‌گراد جدا گردید. در نهایت، عصاره غلیظ گیاهی به‌دست‌آمده به وزن ۶/۲ گرم در ویال‌های تیره رنگ ریخته شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد(۱۳).

سنتز نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک

روش سنتز (روش ژل شدن یونی)

نانوذرات کیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک با استفاده از روش ژل شدن یونی سنتز شدند .برای این منظور، ابتدا ۲ گرم پودر کیتوزان در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۱٪ (حجمی/حجمی) حل شد. این مخلوط به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و تحت هم زدن مداوم با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت تا یک محلول شفاف و یکنواخت از کیتوزان حاصل آید. در مرحله بعد، مقدار مشخصی از عصاره غلیظ گیاه ازمک (بر اساس نسبت وزنی بهینه ۱:۲ نسبت به کیتوزان) به محلول کیتوزان افزوده و اختلاط به مدت ۳۰ دقیقه دیگر ادامه یافت. برای آغاز فرآیند تشکیل نانوذرات، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تری‌پلی‌فسفات (TPP)با غلظت ۲٪ (وزنی/حجمی) به‌صورت قطره‌ای (با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه) و تحت هم زدن شدید (۱۰۰۰ دور در دقیقه) به مخلوط حاوی کیتوزان و عصاره اضافه گردید. واکنش به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و تحت هم زدن ادامه یافت تا فرآیند ژل شدن کامل شود. سپس، سوسپانسیون نانوذرات به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک با توان ۲۰۰ وات قرار داده شد تا از تجمع ذرات جلوگیری گردد. در ادامه، سوسپانسیون با استفاده از سانتریفیوژ (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، دور ۱۵۰۰۰g، به مدت ۳۰ دقیقه) تغلیظ شد. رسوب به‌دست‌آمده دو بار با آب دیونیزه شستشو داده شد. در نهایت، نانوذرات در محلول تره‌الوز ۵٪ (به‌عنوان پایدارکننده) ری‌سوسپانسه و به‌منظور نگهداری بلندمدت، تحت شرایط خلأ و در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت لیوفیلیزه گردیدند (۱۴).

آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

مورفولوژی و اندازه اولیه نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (مدل TEM-1400 Plus، ژاپن) بررسی شد. بدین منظور، یک قطره از سوسپانسیون بسیار رقیق‌شده نانوذرات بر روی شبکه مسی پوشش‌دار با کربن قرار داده و پس از خشک شدن در دمای اتاق، تصاویر در ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۲۰ کیلوولت و با بزرگنمایی ۵۰۰۰۰ ×ثبت گردید. اندازه متوسط ذرات و توزیع اندازه با آنالیز حداقل ۱۰۰ نانوذره از تصاویر TEM به‌دست آمد (۱۵).

تعیین اندازه هیدرودینامیکی و توزیع ذرات (DLS)

اندازه هیدرودینامیکی، توزیع اندازه و شاخص پراکندگی پلی‌دیسپرسیتی (PDI) نانوذرات در حالت سوسپانسیون آبی با استفاده از دستگاه (**Malvern Zetasizer Nano ZS** انگلستان) و تکنیک پراکندگی نور دینامیکی (DLS) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در آب دیونیزه تا غلظت مناسب رقیق‌شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آنالیز گردیدند. هر اندازه‌گیری در سه تکرار و با زاویه ۱۷۳ درجه انجام شد(۱۶).

بررسی ساختار شیمیایی (طیف‌سنجی FT-IR)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

برهمکنش‌های شیمیایی احتمالی بین کیتوزان و ترکیبات فعال عصاره ازمک با استفاده از طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه (مدلThermo Scientific Nicolet iS10 ، آمریکا) موردمطالعه قرار گرفت. پودر نانوذرات سنتز شده با برمید پتاسیم خالص با نسبت ۱:۱۰۰ مخلوط و تحت‌فشار ۱۰ تن به صورت قرص درآورده شد. طیف‌ها در محدوده ۵۰۰ تا ۴۰۰۰ سانتی‌متر معکوس با وضوح ۴ سانتی‌متر معکوس ثبت گردیدند. طیف‌های مربوط به نانوکیتوزان خالص، عصاره خالص ازمک و نانوکیتوزان حامل عصاره با یکدیگر مقایسه شد(۱۷).

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

بار سطحی و پتانسیل زتای نانوذرات به‌عنوان شاخصی از پایداری کلوئیدی آن‌ها، با استفاده از تکنیک الکتروفورز در همان دستگاه Malvern Zetasizer اندازه‌گیری شد. نمونه‌های سوسپانسیون در سل‌های اختصاصی پتانسیل زتا ریخته شده و در ولتاژ ۱۵۰ ولت آنالیز شدند. هر اندازه‌گیری در سه تکرار و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت(۱۸).

تهیه سویه باکتریایی و القای عفونت

سویه استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) بر روی محیط کشت خون‌آگار کشت داده شد و پس از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلونی‌های جداشده از نظر ویژگی‌های مورفولوژیک (شکل گرد، رنگ طلایی-کِرِم و همولیز بتا) و نتایج تست‌های بیوشیمیایی تأییدی (کاتالاز مثبت، کواگولاز لوله‌ای مثبت و تخمیر مانیتول در محیط مانیتول سالت آگار) به‌عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند. برای القای عفونت سیستمیک، سوسپانسیون باکتری در نرمال سالین استریل تهیه و مطابق با استاندارد مک‌فارلند بر اساس استاندارد مک فارلند تنظیم و به میزان ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی 10^8 CFU باکتری به هر موش به صورت درون‌صفاقی، در حجم ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری تزریق شد (۱۹).

ارزیابی پارامترهای اسپرم

در پایان دوره ۳۰ روزه تیمار، حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین-زایلازین (۱٪) بیهوش و سپس قربانی شدند. هر دو بیضه همراه با اپیدیدیم به‌طور کامل خارج گردید. اپیدیدیم دمی یکی از بیضه‌ها برای ارزیابی پارامترهای اسپرم جداشده و در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت هام-F10 حاوی ۱٪ آلبومین سرم گاوی (BSA) خرد شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور CO_2 دار (با شرایط ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵٪ دی‌اکسید کربن و رطوبت ۹۵٪) قرار داده شد تا اسپرم‌ها خارج شوند. سپس غلظت اسپرم با استفاده از لام هموسیتومتر و بر اساس شمارش در میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰× (به صورت میلیون اسپرم در میلی‌لیتر) محاسبه گردید. زنده‌مانی اسپرم با روش رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگرزین ارزیابی شد که بر اساس آن، اسپرم‌های زنده (غیررنگی) در برابر اسپرم‌های مرده (رنگی) شمارش شدند. برای بررسی مورفولوژی، گسترشی از سوسپانسیون اسپرم تهیه و با روش گیمسا رنگ‌آمیزی گردید. سپس حداقل ۲۰۰ اسپرم به صورت تصادفی در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰۰× موردبررسی قرار گرفت و اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی و نیز ناهنجاری‌های مربوط به سر، قطعه میانی و دم محاسبه شد (۲۰).

آماده‌سازی نمونه بافتی و سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی

پس از خارج‌سازی و توزین دقیق بافت بیضه، هر نمونه به‌سرعت در نیتروژن مایع منجمد و سپس با استفاده از هموژنایزر برودتی در حضور بافر فسفات سرد (۰.۱ مولار، pH = ۷/۴)حاوی یک کوکتل مهارکننده پروتئاز، همگن گردید. هموژنایز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۲۰۰۰ g × به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت شفاف حاصل، جداشده و بلافاصله برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی زیر مورداستفاده قرار گرفت یا در

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش نگهداری شد (۲۱).

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم SOD بر اساس روش مهار احیای نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در سیستم تولید رادیکال سوپراکسید (واکنش فوتوشیمیایی ریبوفلاوین-متونین (NBT) اندازه‌گیری شد. در این روش، ۵۰ میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH =۷.۸)، متیونین (۱۳ میلی‌مولار)، NBT(۷۵ میکرومولار)، EDTA(۰/۱میلی‌مولار) و ریبوفلاوین (۲ میکرومولار) مخلوط گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه تحت نور فلورسنت (دو لام ۲۰ وات) قرار گرفتند. جذب نوری در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۲۱).

ارزیابی فعالیت کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز با سنجش نرخ تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه به کووت حاوی ۹۸۰ میکرولیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH =۷) و ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2تازه تهیه‌شده (۳۰ میلی‌مولار) اضافه شد. کاهش جذب نوری به مدت ۱ دقیقه (در فواصل ۱۰ ثانیه‌ای) ثبت گردید (۲۲).

سنجش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)

فعالیت آنزیم GPx با روش متداول بر مبنای اکسیداسیون NADPHدر حضور گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون احیاشده (GSH) ارزیابی شد. در یک میکروپلیت ۹۶ خانه، ۵۰ میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه با ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH= ۷ .) GSH (۲ میلی‌مولار)، گلوتاتیون ردوکتاز (۱ واحد)، NADPH (۰/۲ میلی‌مولار) و ۵۰ میکرولیتر H_2O_2 (۰/۶ میلی‌مولار) به‌عنوان سوبسترا مخلوط گردید. کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه دنبال شد **(۲۳)**.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های بیضه با استفاده از روش احیای یون فریک (FRAP)ارزیابی گردید. استانداردهای مختلف غلظتی اسید آسکوربیک (۰-۱۰۰۰ میکرومولار) و ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر معرف تازه تهیه‌شده FRAP (شامل استات سدیم، TPTZو $FeCl_3.6H_2O$)در میکروپلیت ۹۶ خانه مخلوط شدند. پس از انکوباسیون به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی، جذب نوری در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید(۲۴).

سنجش مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، سطح MDA با روش واکنش با اسید تیوباربیتوریک (TBARS) اندازه‌گیری شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت نمونه با ۴۰۰ میکرولیتر اسید فسفوتونگستیک ۱۰٪ و ۸۰۰ میکرولیتر معرف TBA ۰.۶۷٪ در اسید تری‌کلرواستیک ۱۰٪ مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب جوش (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از سرد شدن سریع روی یخ و سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه)، جذب نوری محلول رویی (رنگ صورتی) در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد (۲۵).

تحلیل آماری

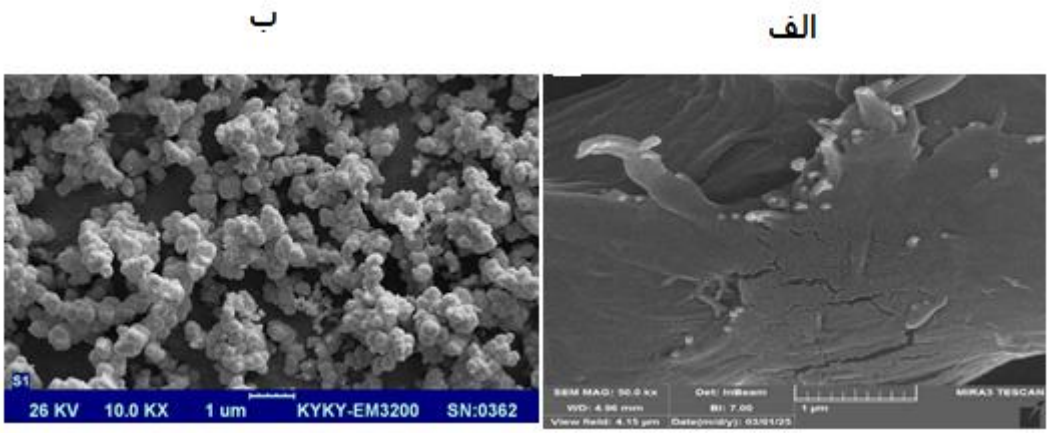
کلیه داده‌های حاصل به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین موردبررسی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌های بین چهار گروه آزمایشی از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های زوجی استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری P< ۰/۰۵ در نظر گرفته

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

شد. کلیه تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام پذیرفت.

نتایج

میکروسکوپ الکترونی SEM برای ارزیابی شکل و اندازه نانوذرات به‌خوبی بکار گرفته‌شده است. نتایج مربوط به میکروگراف های SEM در شکل‌های ۱ نشان داده‌شده است. مطابق با این اشکال می‌توان مشاهده کرد که نانو کیتوزانهای حاوی عصاره به صورت آگلومره و کروی شکل با اندازه میانگین ۲۰ نانومتر بودند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر (شکل ۱)، امکان تحلیل دقیق و چندمقیاسی از سایز و مورفولوژی سطح نمونه را فراهم می‌کنند. تصویر با بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر (شکل ۱) نمای کلی از توزیع و اندازه ذرات را نشان می‌دهد که عمدتاً در محدوده چند ده تا چند صد نانومتر قرار دارند و شکل کلی آن‌ها عموماً کروی یا نزدیک به کروی با پراکندگی نسبتاً یکنواخت، زبری سطح ذرات، وجود ذرات ریزتر چسبیده به سطوح و همچنین لبه‌های مشخص و گاه نامنظم را آشکار می‌سازد. وجود این ساختارهای ریز در مقیاس نانومتر می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر خواص سطحی و واکنش‌پذیری نمونه داشته باشد. این مشاهدات، هم برای توصیف کیفی ساختار و هم برای اندازه‌گیری‌های کمی مانند تخمین متوسط اندازه ذرات، پراکندگی سایز و درجه زبری سطح قابل استناد است.



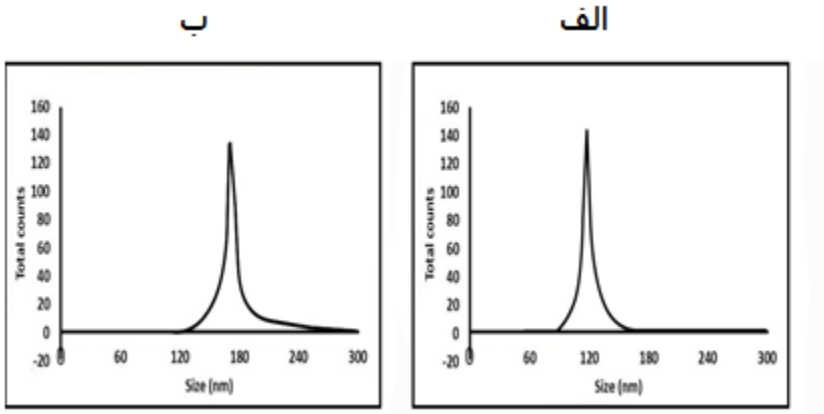
شکل ۱ میکروگراف SEM نانو کیتوزان (الف)و نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک (ب)

قطر هیدرودینامیکی نانوکیتوزان سنتز شده با استفاده از آنالیز DLS تعیین شد. نمودار DLS در شکل ۱ نشان داده‌شده است. تجزیه‌وتحلیل نتایج DLS نشان داد که اندازه نانوکیتوزان سنتز شده تقریباً ۱۷۰/۲ نانومتر است. بار سطحی نانوکیتوزان تشکیل‌شده با پتانسیل زتا نشان داده می‌شود. 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 داده‌اند که نانوکیتوزان نقره پتانسیل زتا منفی را نشان می‌دهند. با تحلیل پتانسیل زتا می‌توان نتیجه گرفت که بار الکتریکی روی سطح نانوکیتوزان می‌تواند نیروی دافعه قوی بین آن‌ها ایجاد کند که در نتیجه تجمع نانوذرات را کاهش می‌دهد. نمودار گستره‌ی اندازه‌ی ذرات و ریخت‌شناسی نمونه‌های نانو کیتوزان ونانوکیتوزان حامل عصاره ازمک به ترتیب در شکل ۲ الف و ب نشان داده‌شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، میانگین اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان بدون عصاره حدود ۱۷۰/۲ نانومتر و میانگین اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان حاوی عصاره حدود ۱۱۸/۱ نانومتر بود. اندازه‌ی نانوذرات

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

کیتوزان سنتز شده در این پژوهش با دیگر مطالعات انجام‌گرفته در این رابطه مطابقت دارد. همچنین، از مقایسه‌ی اندازه‌ی نانوذرات کیتوزان قبل از بارگذاری عصاره (۱۷۰/۲ نانومتر) و پس از بارگذاری عصاره (۱۱۸/۱ نانومتر)،می‌توان نتیجه گرفت که میانگین اندازه‌ی ذرات پس از بارگذاری عصاره اندکی افزایش‌یافته است

.

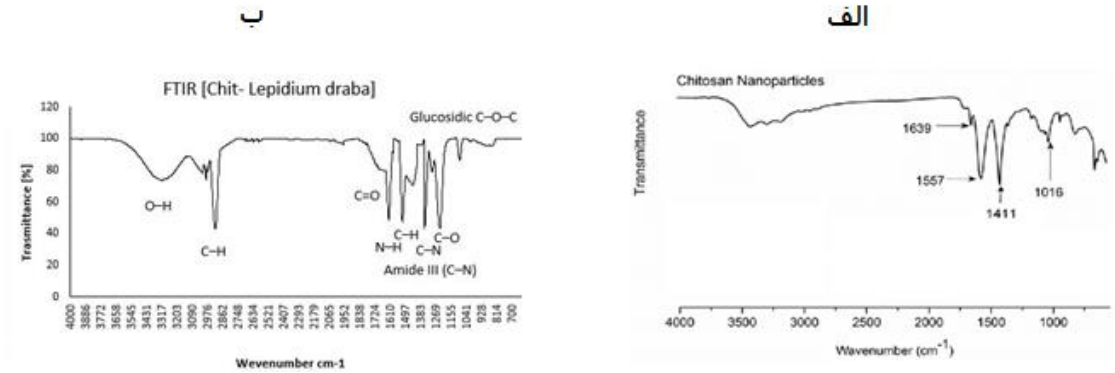


شکل ۲. نمودار گستری اندازه ذرات و ریخت‌شناسی نمونه‌ها: الف نانوذرات کیتوزان با متوسط اندازه ۱۱۸/۱نانومتر،ب: نانوکیتوزان حامل عصاره با متوسط اندازه ۱۷۰/۲نانومتر

طیف‌های FTIR ثبت‌شده برای نانو کیتوزان (شکل ۳الف)و کیتوزان حامل عصاره *Lepidium draba*(شکل ۳ب)، جزئیات ساختاری و برهمکنش‌های مولکولی بین اجزا را به‌وضوح آشکار می‌سازند. در طیف کیتوزان (شکل ۴الف)، پیک پهن و شدید در محدوده‌ی ۳۴۰۰ تا ۳۲۰۰ سانتیمتر$^{-1}$ که مشخصه‌ی کشش ارتعاشی O–H و N–H است، نشان‌دهنده‌ی حضور گروه‌های هیدروکسیل و آمین آزاد در ساختار پلیمر است. پیک تیز در ۱۶۰۹ سانتیمتر$^{-1}$ به کشش C=Oگروه آمید I (باقیمانده از استیلاسیون جزئی کیتین) نسبت داده می‌شود. پیک در ۱۵۵۷ سانتیمتر۱- مربوط به تغییر شکل خمشی N–H آمید II و پیک در ۱۴۱۱ سانتیمتر$^{-1}$ ناشی از تغییر شکل خمشی C–H است. همچنین، پیک واضح در ۱۰۱۶ سانتیمتر$^{-1}$ مربوط به کشش پیوند گلیکوزیدی C–Oدر اسکلت پلی‌ساکاریدی کیتوزان می‌باشد. در طیف نانوکیتوزان (شکل۳ الف)، تغییرات قابل‌توجهی مشاهده می‌شود که مؤید برهمکنش قوی بین کیتوزان و ترکیبات فعال عصاره است: تغییر در ناحیه ۳۴۰۰–۳۲۰۰ سانتیمتر$^{-1}$ کاهش نسبی شدت انتقال و تغییر شکل پیک پهن، نشان‌دهنده‌ی درگیر شدن گروه‌های هیدروکسیل و آمین کیتوزان در تشکیل پیوند هیدروژنی با گروه‌های عاملی)مانند O–H فنلی و (C=O موجود در ترکیبات عصاره است. جابجایی و تغییر شکل پیک‌های آمید :پیک مربوط به آمید I (C=O)به سمت عدد موج پایین‌تر (حدود ۱۶۰۰–۱۵۸۰ سانتیمتر$^{-1}$)جابجا شده و پیک آمید II نیز تغییر شکل می‌دهد. این تغییرات، مشارکت گروه کربونیل آمید در برهمکنش‌ها را تأیید می‌کند. تغییرات در ناحیه اثرانگشت (۱۵۰۰–۱۰۰۰سانتیمتر$^{-1}$)تغییر در شدت و موقعیت پیک‌های مربوط به کشش‌های (C–N آمید III در حدود ۱۳۲۰–۱۲۴۰ سانتیمتر$^{-1}$) و کشش‌های C–O–C گلیکوزیدی (در محدوده ۱۰۰۰–۱۲۰۰ سانتیمتر$^{-1}$) به‌وضوح دیده می‌شود. این امر نشان می‌دهد که نه تنها گروه‌های عاملی جانبی، بلکه تا حدی خود اسکلت پلی‌ساکاریدی نیز در برهمکنش با ترکیبات گیاهی درگیر شده است. این تغییرات طیفی دقیق و هدفمند، به‌صورت قوی تشکیل نانوکیتوزان، بارگذاری موفق عصاره

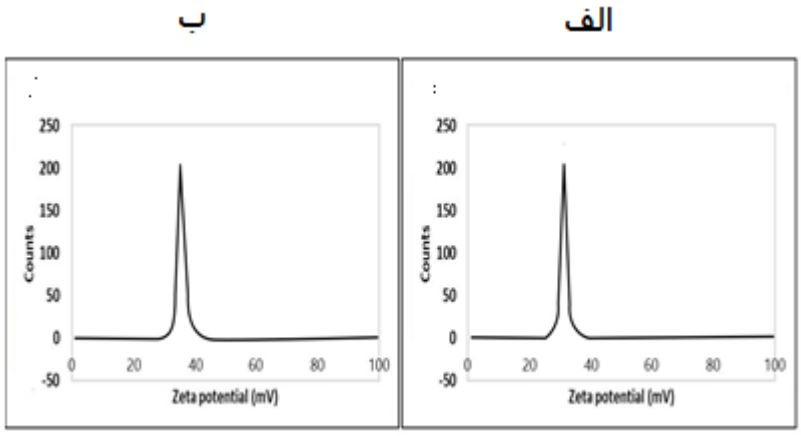
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

بر روی نانوذرات و ایجاد برهمکنش‌های فیزیکی-شیمیایی (عمدتاً پیوند هیدروژنی) بین حامل پلی‌ساکاریدی و مواد زیست‌فعال را اثبات می‌کند. این داده‌ها پایه‌ای محکم برای استدلال در مورد پایداری ساختاری، مکانیسم احتمالی رهایش و افزایش زیست‌فعالی سیستم نانوحامل در مقاله فراهم می‌آورند.



شکل ۳ تصویر FTIR نانوکیتوزان (الف) و نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک (ب)

برای بررسی پایداری نانوذرات کیتوزان در کلوئید، آزمون پتانسیل زتا انجام گرفت. نمودار توزیع بار سطحی نانوذرات کیتوزان در شکل ۴ الف نشان داده‌شده است. مقدار بار سطحی نانوذرات کیتوزان ۳۵/۳ میلی ولت به‌دست‌آمده است که پایداری به نسبت خوب ذرات کلوئیدی را نشان می‌دهد. بار سطحی بالای نانوذرات با افزایش نیروی دافعه‌ی 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 نتیجه‌ی آن در شکل ۴ ب نشان داده‌شده است. بار سطحی نانوذرات کیتوزان حامل عصاره نیز ۳۱/۴ میلی‌ولت گزارش‌شده است که نشان از پایداری ذرات کلوئیدی حامل عصاره دارد. همچنین، از مقایسه‌ی 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 باقی‌مانده است.



شکل ٤. نمودار پتانسیل زتای نمونه‌ها،الف: پتانسیل زتای نانوکیتوزان (۳۵/۳+)، ب: پتانسیل زتای نانوکیتوزان حامل عصاره (۳۱/٤+ میلی‌ولت)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس منجر به کاهش چشمگیر فراسنجه‌های اسپرم گردید. در گروه آلوده، تعداد اسپرم به میزان ۴۹/۳درصد (از ۵/۹۴به ۳/۰۱ میلیون بر میلی‌لیتر)، زنده‌مانی به میزان ۵۵.۹ درصد (از ۶۳/۳۱ به ۲۸/۰۱ درصد) و مورفولوژی طبیعی به میزان ۴۳/۸ درصد (از ۸۱/۹۶ به ۴۵/۸۱ درصد) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت که همگی در سطح معنی‌دار بودند($p < ۰/۰۰۱$) و نشان‌دهنده آسیب شدید عفونت باکتریایی بر فرآیند اسپرماتوژنز و یکپارچگی ساختاری اسپرم می‌باشد. در گروه تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک، بهبود قابل‌توجهی در تمامی فراسنجه‌های اسپرم مشاهده شد؛ به طوری که تعداد اسپرم به میزان ۵۸/۸ درصد نسبت به گروه آلوده افزایش یافت (از ۳/۰۱ به ۴/۷۸میلیون بر میلی‌لیتر) ($p < ۰/۰۵$)،همچنین زنده‌مانی اسپرم در این گروه ۷۱/۱ درصد بهبود یافت (از ۲۸/۰۱به ۴۷/۹۱درصد) و به ۲۴/۴درصد گروه کنترل نزدیک شد ($p < ۰/۰۵$)مورفولوژی طبیعی نیز با ۵۶.۸ درصد افزایش (از ۴۵/۸۱ به ۷۱/۸۱ درصد)، به ۱۲/۴ درصد اختلاف با گروه کنترل رسید ($p < ۰/۰۵$)گروه تیمار شده با نانوکیتوزان خالی نیز بهبود نسبی در پارامترهای اسپرم نشان داد که به ترتیب شامل افزایش ۳۴/۲درصدی تعداد اسپرم، ۴۵/۷درصدی زنده‌مانی و ۳۱/۳درصدی مورفولوژی طبیعی نسبت به گروه آلوده بود ($p < ۰/۰۵$) این یافته‌ها حاکی از اثر سینرژیستی نانوکیتوزان و ترکیبات فعال عصاره ازمک در بازگرداندن کیفیت اسپرم می‌باشد.

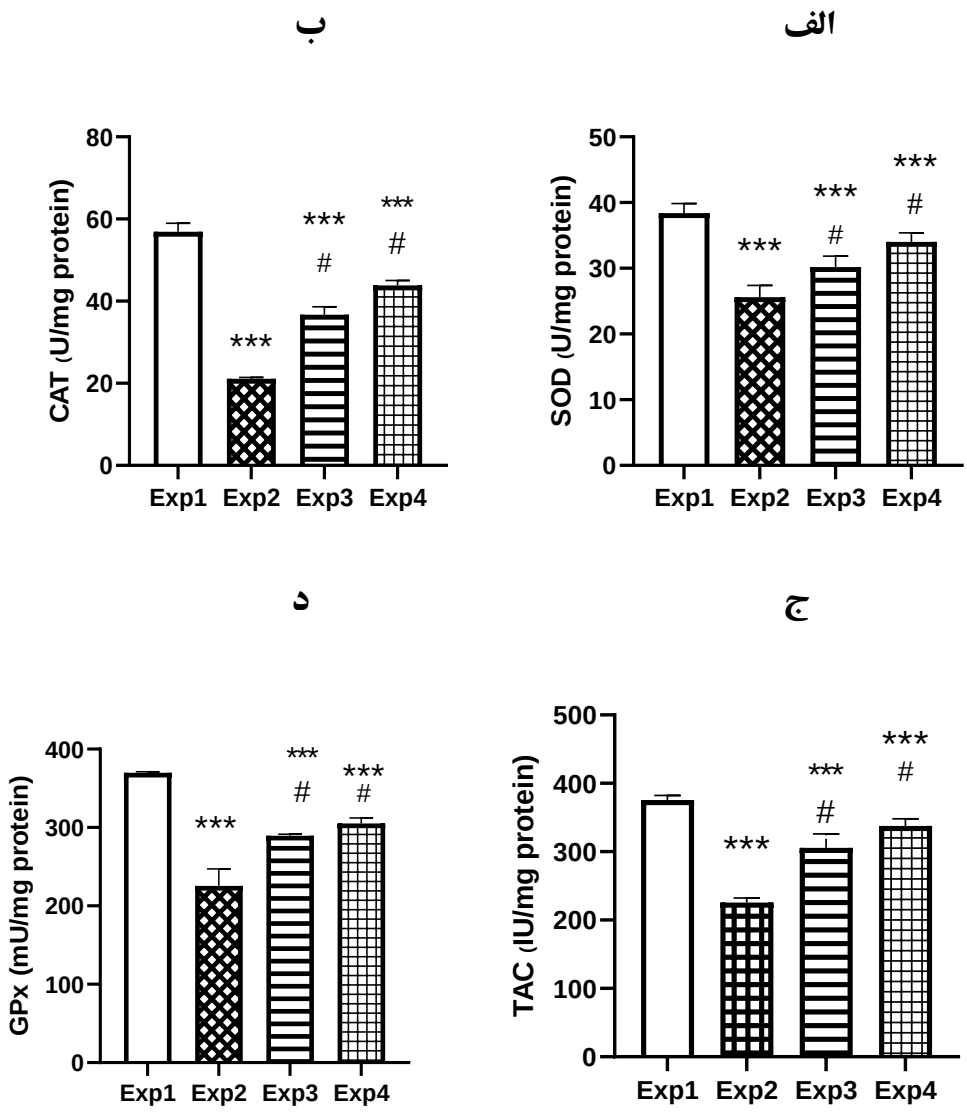
در بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو نیز نتایج مشابهی به دست آمد. *عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس* منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت بیضه گردید ($p < ۰/۰۰۱$)، به طوری که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گروه آلوده ، کاتالاز ، گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت کاهش یافت .در گروه تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک، افزایش معنی‌داری در سطح این آنزیم‌ها نسبت به گروه آلوده مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). نانوکیتوزان خالی نیز بهبود نسبی را در تمامی آنزیم‌ها نشان داد .در گروه تیمار شده با نانوکیتوزان حامل عصاره ازمک، سطح مالون‌دی‌آلدهید کاهش یافت .نانوکیتوزان خالی نیز کاهش مالون‌دی‌آلدهید را نسبت به گروه آلوده نشان داد ($p < ۰/۰۵$).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

جدول ۱. مقایسه فراسنجه‌های اسپرم در گروه‌های آزمایش

نتایج بر اساس میانگین ±انحراف معیار، *:مقایسه با گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$) و #:مقایسه با گروه آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ($p < ۰/۰۵$)**

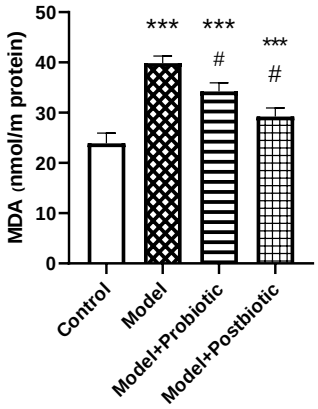
فراسنجه های اسپرم	تعداد اسپرم (میلی‌لیتر/$۱۰^{۶}$×)	قدرت زنده‌مانی (٪)	مورفولوژی طبیعی
کنترل	۵/۹۴±۰/۷۳	۶۳/۳۱±۴/۵	۸۱/۹۶±۸/۵
استافیلوکوکوس اورئوس ($۱۰^{۸}$cfu/ml)	***۳/۰۱±۰/۲۲	***۲۸/۰۱±۴/۱۱	***۴۵/۸۱±۳/۸۴
استافیلوکوکوس اورئوس + نانوکیتوزان (۱ میلی‌لیتر)	# ***b۴/۰۶±۰/۴۷	# ***۴۰/۸۸±۳/۶۴	# ***۶۰/۱۵±۳/۷۵
استافیلوکوکوس اورئوس + نانوکیتوزان حامل گیاه ازمک (۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم)	#***۴/۷۸±۰/۱۷	#***۴۷/۹۱±۵/۰۶	#***۷۱/۸۱±۴/۳۳



[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

نمودار ۱. مقایسه سطح سوپراکسید دیسموتاز (الف)، کاتالاز (ب)، گلوتاتیون پراکسیداز (ج) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (د) بافت بیضه در گروه‌های مختلف موش صحرایی Exp1 کنترل، Exp2: *استافیلوکوکوس اورئوس* (10^8cfu/ml)، Exp3: *استافیلوکوکوس اورئوس* + نانوکیتوزان (۱ میلی‌لیتر)، Exp4: *استافیلوکوکوس اورئوس* + نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک (۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم)

*****:مقایسه با گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$) ، #:مقایسه با گروه آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*($p < ۰/۰۵$)**



نمودار ۲. مقایسه سطح مالون دی آلدهید بافت بیضه در گروه‌های مختلف موش صحرایی.
Exp1 کنترل، Exp2: *استافیلوکوکوس اورئوس* (10^8cfu/ml)، Exp3: *استافیلوکوکوس اورئوس* + نانوکیتوزان (۱ میلی‌لیتر)، Exp4: *استافیلوکوکوس اورئوس* + نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک (۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم)

*****:مقایسه با گروه کنترل ($p < ۰/۰۰۱$) ،#:مقایسه با گروه آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*($p < ۰/۰۵$)**

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که آلودگی تجربی موش‌های صحرایی نر با *استافیلوکوکوس اورئوس* منجر به اختلال قابل‌توجه در برخی پارامترهای اسپرم موردبررسی شامل کاهش شمارش، زنده‌مانی، همراه با افزایش ناهنجاری‌های مورفولوژیک شد. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین در مورد تأثیر منفی عفونت‌های باکتریایی سیستمیک و موضعی بر عملکرد تولیدمثلی مردان همسو است. هم‌زمان، شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت بیضه نیز تحت تأثیر عفونت قرار گرفت؛ به‌طوری‌که سطوح فعالیت آنزیم‌های نتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز(SOD)، کاتالاز (CAT)(،گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC)به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان مالون‌دی‌آلدهید(MDA) ، به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش یافت.

دیوتا و همکاران در سال ۲۰۲۰ در بررسی خود با عنوان عفونت‌های استافیلوکوکی و ناباروری: مکانیسم‌ها و مدیریت، گزارش دادند که گونه‌های استافیلوکوکی

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

می‌توانند مستقیماً یا از طریق مسیرهای هماتوژن به بافت‌های تولیدمثلی حمله کنند. در سلول‌های بیضه، اپیدیدیم و همچنین در بخش‌های مختلف دستگاه تناسلی زنان، گیرنده‌های شناسایی پاتوژن، گیرنده‌های شبه تول (TLRs)، می‌توانند الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن را روی استافیلوکوک‌ها تشخیص دهند و از این طریق مسیرهای سیگنالینگ التهابی را فعال کنند. این واسطه‌های پیش التهابی، سایر سلول‌های ایمنی را برای نفوذ و آزادسازی عوامل التهابی بیشتر و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تحریک می‌کنند. همچنین عوامل سطحی استافیلوکوکی که با پروتئین‌های غشای اسپرم متصل می‌شوند، می‌توانند مستقیماً عملکرد اسپرم را مختل کنند. اگرچه استافیلوکوک‌ها، به‌عنوان یکی از خطرناک‌ترین گونه‌های باکتریایی، از عوامل اصلی ناباروری ناشی از عفونت در مردان و زنان هستند (۲۶). در پژوهش انجام‌شده توسط گاتزوی و همکاران در سال ۲۰۲۰ کاهش سطح کاتالاز و افزایش مالون دی آلدهید در بافت بیضه موش‌های صحرایی آلوده باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده شد که نتایج این پژوهش نیز همسو با این مطالعه می‌باشد (۲۷). گائو و همکاران در سال ۲۰۲۳ در بررسی خود نشان داده‌اند در گروه‌های آلوده به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش سطح کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز ، سوپراکسیددیسموتاز و افزایش مالون دی آلدهید به صورت معنادار را گزارش دادند (۲۸). اثرات ضد باکتریایی و ضدالتهابی جنیستئین در استئومیلیت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در موش صحرایی رانا و همکاران در سال ۲۰۲۲ در پژوهش خود اثر درمانی بره موم بر استرس اکسیداتیو ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در طحال موش‌های Balb/c، یک مطالعه بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک نشان دادند سطح گلوتاتیون احیاشده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز وگلوتاتیون اس-ترانسفراز)در طحال موش‌های آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش یافت (۲۹).

همچنین نتایج نشان داد که کیفیت اسپرم به‌طور متناسب با افزایش بار باکتریایی و وجود باکتری‌های بیماری‌زای شرطی، از جمله *انتروکوک فکالیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*، کاهش می‌یابد. آزمایش‌های حساسیت ضدمیکروبی، مقاومت قابل‌توجهی از سویه‌های باکتریایی انتخاب‌شده به صورت تصادفی را در برابر آمپی‌سیلین، ونکومایسین، توبرامایسین و تتراسایکلین نشان داد. علاوه بر این، افزایش مقدار باکتری در مایع منی با افزایش سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی، از جمله اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۶، فاکتور نکروز تومور آلفا و همچنین تولید بیش‌ازحد ROS و پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم همراه بود. نتایج ما نشان می‌دهد که کیفیت مایع منی ممکن است به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر مقدار و کیفیت باکتری قرار گیرد. به نظر می‌رسد که باکتریواسپرمی ممکن است با فرآیندهای التهابی، استرس اکسیداتیو، زوال ساختاری اسپرم و خطر بعدی برای ایجاد ناباروری، حتی در مردان با اسپرم طبیعی، مرتبط باشد (۳۰). نتایج بررسی ناباروری در زنان مبتلابه عفونت *استافیلوکوکوس اورئوس* و ارتباط آن با برخی از سوپرآنتی ژن‌های باکتری نشان داد. *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل عفونت واژینال می‌تواند سبب آسیب به مورفولوژی و تحرک اسپرم شود. درنتیجه،درمان واژینوز باکتریال جهت پیشگیری از ناباروری‌ها با علل ناشناخته در زوجین نابارور می‌تواندنقش مؤثری ایفا نماید (۳۱).

احمدیان محمودآبادی و همکاران در سال ۲۰۲۰ در بررسی اثر عفونت القایی *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بر پارامترهای اسپرم انسان نشان دادند که آلودگی با باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث کاهش معنادار مورفولوژی و حرکت و بقای اسپرم‌های گروه کنترل نسبت به گروه آزمون می‌شود (۳۲). این نتایج حاکی از آن است که عفونت باکتریایی با ایجاد یک حالت التهابی و تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) ، تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی ظریف محیط بیضه را بر هم زده و منجر به آسیب اکسیداتیو به سلول‌های زایشی و سوماتیک

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

این بافت می‌شود . استرس اکسیداتیو می‌تواند با حمله به لیپیدهای غشای اسپرماتوزوئیدها، پروتئین‌های ساختاری،آنزیمی و نیز DNA میتوکندریایی و هسته‌ای، اختلال در عملکرد اسپرم و حتی القای آپوپتوز سلول‌های زایا را به دنبال داشته باشد (۳۲). نکته امیدوارکننده و اصلی این مطالعه، اثرات محافظتی قابل‌توجه نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک بود. تجویز این نانو فرمولاسیون به موش‌های آلوده، نه‌تنها سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیضه را افزایش و میزان MDA را کاهش داد، بلکه به بهبود چشمگیر پارامترهای اسپرم منجر شد. وانگ و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه‌ای که توسط وانگ و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد، اثرات محافظتی عصاره برگ گیاه ازمک بر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سیکلوفسفامید بر بیضه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به مدت ۳۵ روز تحت تیمار با دوزهای مختلف عصاره ازمک (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره ازمک، به ویژه در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰، توانست به طور معنی‌داری پارامترهای اسپرم را بهبود بخشیده و سطوح هورمون‌های LH، FSHو تستوسترون را افزایش دهد. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های تیمار شده افزایش یافت و سطوح نیتریک اکساید و سایتوکاین‌های التهابی کاهش نشان داد (۱۲).

گیاه ازمک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی است و می‌تواند با کنترل مسیرهای آپوپتوز، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، به حفظ قدرت جنسی و باروری در بیماران تحت شیمی‌درمانی کمک کند. نتایج حاضر برای یافتن مکمل مناسب برای بهبود عملکرد جنسی بیماران تحت درمان با داروهای شیمی‌درمانی مفید است. فنگ و همکاران در سال ۲۰۲۲ در پژوهش خود با عنوان فعالیت محافظت کلیوی و محافظت کبدی عصاره‌های *گیاه ازمک* بر استرس اکسیداتیو ناشی از اکسی متولون در موش صحرایی ، این گیاه به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قابل‌توجه خود می‌تواند از آسیب‌های کلیوی و کبدی در برابر اکسی متولون محافظت کند. این ویژگی‌ها به وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نسبت داده می‌شود. این یافته‌ها برای طراحی عوامل درمانی جدید برای درمان و پیشگیری از آسیب‌های کبدی/کلیوی مفید خواهد بود (۳۳). التهاب و استرس اکسیداتیو دو فرآیند به‌هم‌پیوسته هستند. بسیاری از فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی ازمک،دارای خاصیت ضدالتهابی هستند. با کاهش التهاب سیستمی و موضعی در بیضه، تولید ROS توسط سلول‌های ایمنی نیز کاهش می‌یابد (۳۴).

گیاه اَزمَک با دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال قدرتمند از جمله فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و گلیکوزیدهای ایریدوئیدی، اثرات محافظتی قابل‌توجهی در برابر آسیب‌های تولیدمثلی ناشی از عفونت استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است. مکانیسم اصلی این حفاظت، از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا صورت می‌گیرد؛ به‌طوری‌که عصاره این گیاه فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش و هم‌زمان سطح مالون‌دی‌آلدهید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) را در بافت بیضه کاهش می‌دهد. این تعدیل استرس اکسیداتیو منجر به حفظ یکپارچگی غشای اسپرم، بهبود زنده‌مانی و تحرک اسپرم‌ها و همچنین کاهش ناهنجاری‌های مورفولوژیک در ساختار سر و دم اسپرم می‌شود. علاوه بر این، ترکیبات ضدالتهابی موجود در عصاره ازمک با مهار سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-αو IL-6 ، از التهاب ناشی از عفونت در بافت بیضه کاسته و از روند آپوپتوز سلول‌های زایا جلوگیری می‌نماید. در مجموع، عصاره گیاه ازمک با بهره‌گیری از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و محافظت‌کننده سلولی، به‌عنوان یک عامل طبیعی مؤثر در بهبود پارامترهای کمی و کیفی اسپرم در مواجهه با چالش‌های عفونی مانند استافیلوکوکوس اورئوس مطرح می‌باشد (۳۵). یافته‌ی جالب‌توجه دیگر، اثرات محدود نانوکیتوزان خالی بر برخی شاخص‌ها نسبت به گروه آلوده بود که خود گویای نقش حامل در ارائه‌ی خواص آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تر اما قابل‌اندازه‌گیری است. بااین‌حال،

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

اثرات قوی‌تر و جامع‌تر فرمولاسیون حامل عصاره، بر اهمیت هم‌افزایی (سینرژیسم) بین نانو حامل کیتوزان و ترکیبات فعال گیاهی تأکید دارد. به نظر می‌رسد کیتوزان نه‌تنها یک حامل غیرفعال، بلکه یک شریک فعال در تقویت فعالیت درمانی عصاره است. مهگوب و همکاران در سال ۲۰۲۳ در تحقیق خود با عنوان نقش بهبوددهنده نانوذرات کیتوزان در برابر سمیت تولیدمثلی ناشی از نانوذرات نقره در موش‌های صحرایی نر آلبینو گزارش دادند که این نتایج نشان داد که نانوذرات کیتوزان پتانسیل محافظتی در برابر سمیت تولیدمثلی ناشی از نانوذرات نقره داشته و از سویی نانوذرات نقره پوشش داده‌شده با نانوذرات کیتوزان اثر محافظتی قوی‌تری نسبت به نانوکیتوزان که به همراه نانوذرات نقره تجویز می‌شوند، دارند (۳۶). رامادهان و همکاران در سال ۲۰۲۴ در بررسی خود با عنوان نقش نانوکیتوزان بر تغییرات بافت‌شناسی ناشی از استات سرب را در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه موش صحرایی نشان دادند که نانوکیتوزان می‌تواند بر سمیت سرب در سیستم تولیدمثلی موش صحرایی در معرض استات سرب غلبه کند و شاخص‌های بهبود ساختار بافت‌شناسی لوله‌های منفی‌ساز و افزایش امتیاز اسپرماتوژنز را نشان دهد (۳۷). نانوذرات کیتوزان به‌عنوان یک زیست حامل نوین، با بهره‌گیری از خواص منحصربه‌فردی چون زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و ظرفیت بارگذاری بالا، پتانسیل قابل‌توجهی در حفاظت از سیستم تولیدمثل در برابر آسیب‌های ناشی از عفونت‌های باکتریایی از جمله استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده‌اند. مطالعات تجربی حاکی از آن است که مواجهه با این پاتوژن منجر به اختلال شدید در پارامترهای کیفی و کمی اسپرم از طریق مکانیسم‌های القای استرس اکسیداتیو، آسیب غشای سلولی و القای آپوپتوز می‌گردد. نانوکیتوزان با ایفای نقش یک آنتی‌اکسیدان قوی، نه‌تنها به‌طور مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی می‌کند، بلکه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز، وضعیت اکسیدانی-کاهنده سلول‌های زایا را بهبود می‌بخشد. این اقدامات منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشای اسپرم، افزایش زنده‌مانی و تحرک اسپرم‌ها و همچنین کاهش ناهنجاری‌های مورفولوژیک در سر، قطعه میانی و دم اسپرم می‌شود. علاوه بر این، نانوکیتوزان با مهار مسیرهای سیگنالینگ التهابی و آپوپتوتیک ناشی از عفونت، از کاهش تعداد اسپرم جلوگیری کرده و یکپارچگی بافت بیضه را حفظ می‌نماید؛ بنابراین، به‌کارگیری نانوکیتوزان می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد درمانی مکمل و مؤثر در مقابله با عوارض تولیدمثلی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس موردتوجه قرار گیرد.

بهبود پارامترهای اسپرم تنها از طریق محافظت مستقیم از اسپرماتوزوئیدها حاصل نمی‌شود. احتمالاً نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک با محافظت از سلول‌های سرتولی و لیدیگ در برابر آسیب اکسیداتیو، محیط ریز مناسب ضروری برای اسپرماتوژنز مؤثر و ترشح هورمون‌های ضروری را حفظ می‌کند (۳۸). نانوذرات کیتوزان به دلیل اندازه‌ی نانومتری و بار سطحی مثبت، قادر به عبور بهتر از سدهای بیولوژیک و اتصال انتخابی به سلول‌های دارای بار منفی هستند. این ویژگی می‌تواند منجر به تجمع بیشتر ترکیبات فعال عصاره در بافت هدف (بیضه) و رهایش آهسته‌تر و پایدارتر آن‌ها در طول زمان شود که غلظت مؤثر درمانی را برای مدت طولانی‌تری حفظ می‌کند (۳۹). این مزیت در مقایسه با تجویز عصاره‌ی خام که ممکن است به‌سرعت متابولیزه و دفع شود، بسیار حائز اهمیت است. هم کیتوزان و هم ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره‌ی ازمک (مانند کوئرستین و کامفرول) به‌عنوان دهنده‌ی الکترون یا هیدروژن عمل کرده و رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند. مهم‌تر آنکه، شواهد نشان می‌دهند برخی از این ترکیبات گیاهی می‌توانند مسیرهای سیگنالینگ سلولی مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی را فعال کنند؛ بنابراین، نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک ممکن است نه‌تنها به‌عنوان پاک‌کننده مستقیم ROS عمل کند، بلکه با تقویت سیستم دفاعی درون‌زای سلول‌های بیضه، آن‌ها را در برابر استرس اکسیداتیو بعدی مقاوم‌تر کند(۴۰). بنابراین، بهبود پارامترهای اسپرم در گروه تیمار را می‌توان به‌طور منطقی به کاهش استرس

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

اکسیداتیو در محیط بیضه نسبت داد. کاهش سطح ROS از یک‌سو، یکپارچگی غشای اسپرماتوزوئیدها و عملکرد میتوکندریایی آن‌ها را که برای تحرک ضروری است، حفظ می‌کند. از سوی دیگر، کاهش آسیب اکسیداتیو به DNA اسپرم می‌تواند بر زنده‌مانی و سلامت ژنتیکی نسل بعد تأثیر بگذارد. همچنین، احتمال دارد که این تیمار ترکیبی با کاهش التهاب موضعی و محافظت از سلول‌های سرتولی و لیدیگ، محیط ریز مناسب لازم برای اسپرماتوژنز مؤثر را احیا کرده باشد (۳۴). این فرضیه با مشاهدات ما مبنی برافزایش هم‌زمان شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود کیفیت اسپرم تقویت می‌شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که نانوکیتوزان حامل عصاره گیاه ازمک، از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و احتمالاً ضدالتهابی، قادر به کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از عفونت *استافیلوکوکوس اورئوس* در بافت بیضه است و این اثر با بهبود قابل‌توجه پارامترهای اسپرم همراه می‌باشد؛ بنابراین، این نانوفرمولاسیون گیاهی می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد درمانی کمکی و امیدوارکننده در جهت حفظ و بازیابی عملکرد تولیدمثلی در شرایط عفونی و التهابی موردتوجه قرار گیرد. انجام مطالعات بیشتر برای بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی، ارزیابی سمیت و تعیین دوز بهینه، گام بعدی ضروری در مسیر توسعه این رویکرد است.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاران مجتمع آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی و شرکت تک ژن تشکر می‌نمایند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

منابع

1. Cheng X, Ma J, Wang W, Cai X, Li B, Chen L, Yao B. Global, regional, and national burden and trend of infertility and its subtypes from 1990 to 2021, with projections to 2035. Journal of *Assisted Reproduction* and *Genetics* . 2025;42(10):3409-28.
2. Elmorsy E, El-Raghi AA, Hassan MA, Al-Ghafari AB, Al Doghaither HA, Mansour AA. The beneficial impact of astaxanthin-loaded chitosan nanoparticles on physiological responses, semen quality, testicular structure, and sperm ultrastructure in heat-stressed rabbit bucks. *Italian Journal of Animal Science*. 2025;24(1):1263-79.
3. Dutta S, Sengupta P, Izuka E, Menuba I, Jegasothy R, Nwagha U. Staphylococcal infections and infertility: mechanisms and management. *Molecular* and *Cellular Biochemistry*. 2020;474(1):57-72.
4. Al-Baroody HN, Rahim AI, Al-Ogla EA, Rahim TI. The role of bacterial infection in sperm parameters and DNA fragmentation in infertile men. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2025 19(2):96-106.
5. Jawanda IK, Soni T, Kumari S, Prabha V. Staphylococcus aureus-derived signature protein(s) in murine vaginal lavage fluid: investigating the underlying factors of infertility as a consequence of sperm-impairing bacterium. *Biomarker Insights* . 2025;20:11772719251340518.
6. Shash RY, Mohamed GA, Shebl SE, Shokr M, Soliman SA. The impact of bacteriospermia on semen parameters among infertile Egyptian men: a case–control study. *American* Journal of *Men's Health* . 2023;17(3):15579883231181861.
7. Jambour F, Hamedeyazdan S, Soraya H. Cardiotoxicity of hydroalcoholic extract of Lepidium draba in isoproterenol-induced heart failure in rats. Journal of Research in Pharmacy. 2024 Mar 1;28(2):482-493.
8. Hajizadeh M, Sarayan MS, Taleghani A, Shafaei E, Sahebkar A, Eghbali S, Nasirizadeh S. Evaluation of antimicrobial and antioxidant effects of silver nanoparticles synthesized with leaves of Lepidium draba L. Journal of *Radiation Research* and *Applied* Sciences. 2024;17(3):101004.
9. Nouacer I, Chekhoum YS, Nouacer A, Benalia M, Djedid M, Tounsi A. Advances in nano-chitosan adsorbents and mechanistic insights for dyes and heavy metals removal in wastewater: a systematic and bibliometric review. *Journal* of *Nanoparticle Research* . 2025;27(11):300.
10. Elumalai S, Madeshwaran SN, Somasundaram A, Ramasamy P. Silver nanochitosan: a sustainable approach for enhanced antimicrobial, antioxidant, and anticancer applications. 3 Biotech. 2025;15(10):345.
11. Seyedbagheri ZS, Keshtmand Z. Effect of postbiotic mixture (Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei and Lactobacillus brevis) on oxidative stress markers of brain tissue of rat infected with Staphylococcus aureus. Journal of Applied Microbiology in Food Industry. 2025;11(1):1-9.
12. 12.Wang Y, Bai L, Zhang J, Li H, Yang W, Li M. Lepidium draba L. leaves extract ameliorated cyclophosphamide-induced testicular toxicity by modulation of ROS-dependent Keap1/Nrf2/HO1, Bax/Bcl2/p53/caspase-3, and inflammatory signaling pathways. J Food Biochem. 2021;45(12):e13987.
13. You YL, Zheng S, Zhao CJ, Chang YF, Liu P, Zeng XL, Liu L. Hepatorenoprotective effects of Lepidium draba L. extracts against cyclophosphamide-induced oxidative injuries in rats via reducing apoptosis and inflammation. *Asian Pacific Journal* of *Tropical* Biomedicine . 2025;15(2):53-64.
14. Yousef MI, Abd HH, Helmy YM, Kamel MA. Synergistic effect of curcumin and chitosan nanoparticles on nano-hydroxyapatite-induced reproductive toxicity in rats. *Environmental Science* and *Pollution Research* . 2021;28(8):9362-9376.
15. Khoerunnisa F, Yolanda YD, Nurhayati M, Zahra F, Nasir M, Opaprakasit P, Choo MY, Ng EP. Ultrasonic synthesis of nanochitosan and its size effects on turbidity removal and

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

dealkalization in wastewater treatment. Inventions. 2021 20;6(4):98.
16. Purohit G, Rawat DS. Characterization techniques for chitosan and its based nanocomposites. In: Chitosan-Based Nanocomposite Materials: Fabrication, Characterization and Biomedical Applications. 2022 ; 79-101.
17. Abdelhamid AE, Ahmed EH, Awad HM, Ayoub MM. Synthesis and cytotoxic activities of selenium nanoparticles incorporated nano-chitosan. *Polymer* Bulletin. 2024 81(2):1421-1437.
18. Anju AB, Gopal KS, Panchami PS, Vijayaraghavan R. A simple and user-friendly protocol for chitosan nanoparticle synthesis. Discover Nano. 2025 22;20(1):211.
19. 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.
20. Salehi F, Zarei L, Mokhayeri Y, Rajabzadeh O. The effect of hydroalcoholic extract of Salvia miltiorrhiza on hormonal and cellular parameters of spermatogenesis in male rats after the consumption of ibuprofen. *Food Science* & *Nutrition* . 2025;13(8):e70705.
21. Bakhtiary Z, Eyvazi Y, Finelli R, Baskaran S, Sikka SC, Selvam MK. Nanoantioxidants and their potential use in the management of oxidative stress-associated male infertility. Frontiers in *Bioscience-Landmark* . 2025 27;30(11):39945.
22. Akanchise T, Angelov B, Angelova A. Nanomedicine-mediated recovery of antioxidant glutathione peroxidase activity after oxidative-stress cellular damage: insights for neurological long COVID. *Journal* of Medical *Virology*. 2024;96(5):e29680.
23. Sindi RA, Alfattah MA, Hassan MA, El-Haroun E, Noredlin AE, Abdelnour SA, Moussa M. Nanozyme conjugated chitosan nanoparticles improve buffalo bull sperm cryopreservation by enhancing antioxidant defense and mitochondrial function. Frontiers in *Veterinary Science*. 2025;12:1718467.
24. Feng J, Gao H, Yang L, Xie Y, El-Kenawy AE, El-Kott AF. Renoprotective and hepatoprotective activity of Lepidium draba L. extracts on oxymetholone-induced oxidative stress in rat. *Journal of Food Biochemistry* . 2022;46(9):e14250.
25. Shi HW, Yang BC, Ren YQ, Xue Y. Applications of antioxidant nanoparticles in immune-mediated inflammatory diseases. Antioxidants. 2025;14(9):1128.
26. Dutta S, Sengupta P, Izuka E, Menuba I, Jegasothy R, Nwagha U. Staphylococcal infections and infertility: mechanisms and management. *Molecular* and *Cellular Biochemistry* . 2020;474(1):57-72.
27. Gazwi HS, Mahmoud ME, Hamed MM. Antimicrobial activity of rosemary leaf extracts and efficacy of ethanol extract against testicular damage caused by 50-Hz electromagnetic field in albino rats. *Environmental Science* and *Pollution Research*. 2020;27(13):15798-157805.
28. 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.
29. Rana A, Kumar NR, Kaur J. 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*. 2022;13(3):346-355.
30. Tvrdá E, Lovíšek D, Gálová E, Schwarzová M, Kováčiková E, Kunová S, Žiarovská J, Kačániová M. Possible implications of bacteriospermia on the sperm quality, oxidative characteristics, and seminal cytokine network in normozoospermic men. *International Journal of Molecular* . 2022;23(15):8678.
31. Siasi E, Hajari R, Sohrabvand F. Study of infertility in female with Staphylococcus aureus infection and its relation with some bacteria superantigens. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2019;9(35):59-71.
32. Ahmadian Mahmoudabadi M, Ghorbanmehr N, Movahedin M, Elikaei A. Effects of Escherichia coli and Staphylococcus aureus inoculation on human sperm parameters. Navid No. 2020;23(73):1-13.
33. Feng J, Gao H, Yang L, Xie Y, El-Kenawy AE, El-Kott AF. Renoprotective and hepatoprotective activity of Lepidium draba L. extracts on oxymetholone-induced oxidative

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

stress in rat. *Journal of Food Biochemistry*. 2022;46(9):e14250.

34. Zhao R, Xu S, Jia C, Zhu S, Ma L, Chen Y, Chen D. Exploring the protective role of Heracleum persicum L. extract in testicular toxicity induced by mercuric chloride: insights into hormonal modulation and cell survival pathways. Toxicological Research. 2025;14(1):tfaf015.
35. Ren T, Xun L, Jia Y, Zhou H, Li B. Insights into the plastome evolution and phylogenetic relationships of Lepidium (Brassicaceae). *BMC Plant Biology*. 2025;25(1):1-5.
36. Mahgoob AA, Tousson E, Abd Eldaim MA, Ullah S, Al-Sehemi AG, Algarni H, El Sayed IE. Ameliorative role of chitosan nanoparticles against silver nanoparticle-induced reproductive toxicity in male albino rats. *Environmental Science* and *Pollution Research*. 2023;30(7):17374-17383.
37. Ramadhan MD, Marianti A, Anindita R. Nano-chitosan mitigates lead acetate-induced histological changes in rat testicular seminiferous tubules. Acta Scientiarum: Biological Sciences. 2024;46:e72114.
38. Shalaby FM, Alghamdi OA, El-Raghi AA, Hassan MA, Essawi WM, Elrefaie AO, Abd El Hady AE, Attia KA. Evaluation of free rosmarinic acid and rosmarinic acid-loaded chitosan nanoparticles in buffalo sperm cryopreservation: impacts on sperm quality, functionality, and fertility potential. Cryobiology. 2026;122:105548.
39. Elmorsy E, El-Raghi AA, Hassan MA, Al-Ghafari AB, Al Doghaither HA, Mansour AA. The beneficial impact of astaxanthin-loaded chitosan nanoparticles on physiological responses, semen quality, testicular structure, and sperm ultrastructure in heat-stressed rabbit bucks. *Italian Journal of Animal Science*. 2025;24(1):1263-1279.
40. Yousef MI, Abd HH, Helmy YM, Kamel MA. Synergistic effect of curcumin and chitosan nanoparticles on nano-hydroxyapatite-induced reproductive toxicity in rats. *Environmental Science* and *Pollution Research*. 2021;28(8):9362-9376.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]