

اثر تجویز داخل صفاقی نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan بر آسیب کبدی در موش صحرایی

محمد رضا حاجی نژاد^۱، عباس جمشیدیان^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کاربرد نانوکامپوزیت‌ها در پزشکی و صنعت در حال افزایش است. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی اثر نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan بر آسیب بافت کبد در موش صحرایی انجام شد.

روش‌ها: ۳۲ سر موش صحرایی نژاد Wistar به چهار گروه مساوی شامل یک گروه شاهد سالم و سه گروه تیمار شده تقسیم شدند. گروه‌های تیمار محلول حاوی ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر از نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan را برای ۲۸ روز به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. برای گروه شاهد، سرم فیزیولوژی تجویز شد. در پایان آزمایش، از قلب موش‌ها خون‌گیری شد و میزان آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به‌عنوان شاخصی از آسیب کبدی اندازه‌گیری شد. همچنین، نمونه‌های بافت کبد برای بررسی هیستوپاتولوژیک و نمونه‌های بافت مغز برای سنجش مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو اخذ شد.

یافته‌ها: افزایش معنی‌داری در میانگین تغییرات ALT در گروه‌های تیمار شده با ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan در مقایسه با گروه شاهد سالم مشاهده گردید ($P < 0.05$)، اما میزان AST در گروه‌های تیمار شده اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$). در بررسی‌های بافت‌شناسی در دز ۳۲۰ میلی‌مول از نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan، نکروز و اتساع سینوزوئید کبدی مشاهده شد. مالون دی‌آلدئید مغز در گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: تجویز نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan می‌تواند سطح برخی آنزیم‌های کبدی را افزایش دهد. این ترکیبات به احتمال زیاد سمی هستند و مصرف آن‌ها در پزشکی و صنعت باید محدود شود.

واژگان کلیدی: نانوکامپوزیت ZnO، موش صحرایی، کبد، پراکسیداسیون لیپیدی

ارجاع: حاجی نژاد محمد رضا، جمشیدیان عباس. اثر تجویز داخل صفاقی نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan بر آسیب کبدی در موش صحرایی.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۵۱۰): ۱۶۰۷-۱۶۰۲

کبد و مغز آسیب ایجاد کنند. آسیب کبدی، می‌تواند در نتیجه‌ی عدم تعادل بین ورود مواد سمی و ظرفیت سم‌زدایی کبد ایجاد شود (۴). بعضی نانوذرات دارای اثرات مفید مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی هستند (۵). سنجش آنزیم‌های کبدی سرم مانند آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) می‌تواند در تشخیص اثرات سمی احتمالی مفید باشد (۶).

نانوکامپوزیت دارای ابعادی بین ۱-۱۰۰ نانومتر هستند که از تلفیق مواد تولید می‌شوند. این ترکیبات، نسبت سطح به حجم بیشتر و مقاومت حرارتی بالایی دارند (۷). پلیمر طبیعی کیتین، دومین پلی ساکارید فراوان طبیعی بعد از سلولز است که برای ساخت

مقدمه

فن‌آوری نانو در سال‌های اخیر پیشرفت زیادی داشته و امروزه، تمامی زمینه‌های پزشکی، کشاورزی و صنعت را تحت تأثیر قرار داده است. نانوذرات روی و نانوکامپوزیت‌های روی در قطعات الکترونیکی، پتروشیمی، صنایع خودروسازی، صنایع ساختمانی، علوم کامپیوتری و ساخت پلیمرهایی با ساختار نوین مولکولی کاربرد دارند (۱).

نانوذرات اکسید روی (ZnO) از دیواره‌ی رگ‌های خونی عبور می‌کنند و می‌توانند غشای سلول یا درون سیتوپلاسم را تحت تأثیر قرار دهند (۲). نانوذرات، از راه‌های گوناگون زمینه‌ی آسیب کبدی را فراهم می‌کنند (۳). نانوذرات، می‌توانند از راه‌های مختلف در بافت‌هایی مانند

۱- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: عباس جمشیدیان

جداگانه در ظرف نمونه‌گیری حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت تا برای مراحل بعدی و تهیهی مقاطع بافتی آماده شد. پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین زیر میکروسکوپ نوری در دانشکده‌ی دامپزشکی زابل توسط آسیب‌شناس مورد بررسی قرار گرفت.

در پایان آزمایش و پس از آسان‌کشی (کشتن حیوانات با رعایت اصول اخلاقی)، مغز موش‌ها جدا و هموژنیزه شد و سپس، محلول هموژنیزه شده، سانتریفیوژ گردید. پس از پایان مرحله‌ی سانتریفیوژ، بخش بالایی با استفاده از پیبیت از بقیه‌ی محلول جدا شد. به منظور سنجش مالون دی‌آلدئید بافت مغز، از محلول شفاف بالایی استفاده شد. اندازه‌گیری سطح بافتی مالون دی‌آلدئید با استفاده از روش Ohkawa با اندکی تغییر انجام شد. بر اساس این روش، واکنش بین مالون دی‌آلدئید و 2-Thiobarbituric acid (TBA) سبب ایجاد واکنش رنگی می‌شود که با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UNICO UV/VIS-2100 Spectrophotometer, United Products and Instruments, USA) تعیین می‌گردد (۱۲).

پس از انجام تجزیه و تحلیل آماری، تمام نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. همچنین، برای مقایسه‌ی گروه‌ها با یکدیگر در هر یک از دوره‌های زمانی آزمون One-way ANOVA و آزمون Tukey انجام گرفت. جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده گردید.

یافته‌ها

توزیع داخلی صفاقی نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan با دز ۸۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر سطح آنزیم‌های ALT و AST را افزایش داد، اما این افزایش، از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱) ($P > 0/05$). تزریق داخلی صفاقی دزهای بالاتر ۳۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر سبب افزایش سطح ALT سرم در مقایسه با گروه شاهد گردید؛ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد وجود داشت (جدول ۱) ($P < 0/05$). بین دو گروه تحت تیمار با ۳۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر از نظر میزان ALT سرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱) ($P > 0/05$).

کیتوسان استفاده می‌شود. نانوکامپوزیت‌های کیتوسان کاربرد فراوانی در داروسازی، مهندسی بافت و لوازم پزشکی دارند (۸). پژوهش‌های پیشین نشان داده است که نانوذرات به پروتئین‌ها و لیپیدهای غشا حمله می‌کنند و موجب تجزیه‌ی پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه، سبب القای استرس اکسیداتیو می‌شوند. چربی‌های غشا، بیشترین آسیب را از استرس اکسیداتیو می‌بینند. پراکسیداسیون لیپیدها، مهم‌ترین اثر رادیکال‌های آزاد است. مالون دی‌آلدئید مولکولی به شدت سمی و یکی از رایج‌ترین شاخص‌های سنجش پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو است (۹).

نتایج پژوهش‌های انجام شده در زمینه‌ی اثرات زیست‌شناختی نانوذرات ZnO، بسیار متناقض بوده و مکانیسم‌های آن هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۱۰). هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر سمی احتمالی نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan در مدل موش صحرایی بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی تجربی حاضر، بر روی ۳۲ سر موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۲۲۰-۲۱۰ گرم انجام شد. موش‌ها در قفس نگهداری از جنس پلاستیک و در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه زابل قرار گرفتند. حیوانات به آب و غذای مخصوص موش (شرکت جوانه‌ی خراسان) دسترسی داشتند. گروه‌ها شامل یک گروه شاهد سالم که روزانه ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی دریافت کردند و سه گروه تحت تیمار با نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan با دزهای ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر بودند. محلول‌ها به مدت ۲۸ روز به موش‌ها تزریق شدند. دز محلول‌ها بر اساس بررسی‌های اولیه انتخاب شد (۱۱).

سپس، موش‌ها با استفاده از دی‌اتیل اتر بیهوش شدند و خون‌گیری به روش مستقیم از قلب انجام گرفت و جهت جدا سازی سرم، نمونه‌های خون به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتیفریوژ شد. میزان ALT و AST با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Selectra pro M) و بر اساس دستورالعمل کیت‌های آنزیمی پارس آزمون سنجش شد. پس از مرحله‌ی خون‌گیری، نمونه‌های کبد هر گروه آزمایش به صورت

جدول ۱. مالون دی‌آلدئید بافت مغز و آنزیم‌های کبدی ALT و AST در گروه‌های تحت تیمار و گروه شاهد.

گروه	مالون دی‌آلدئید بافت مغز (mmol/ml)	ALT (U/l)	AST (U/l)
شاهد	۱۹۰/۷ \pm ۶۰/۹	۸۸/۲ \pm ۱۲/۰	۱۲۳/۲ \pm ۱۲/۰
تیمار با ZnO/Chitosan (mmol/ml)			
۸۰	۱۸۹/۵ \pm ۶۲/۳	۱۲۰/۱ \pm ۳۰/۰	۱۳۵/۰ \pm ۱۰/۰
۱۶۰	۲۱۳/۱ \pm ۷۴/۴	^a ۱۸۷/۰ \pm ۵۰/۰	۹۷/۰ \pm ۱۳/۰
۳۲۰	۱۹۹/۸ \pm ۷۲/۱	^a ۱۹۵/۰ \pm ۲۸/۰	۱۱۵/۰ \pm ۱۸/۰

ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase

^a اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($P < 0/05$).

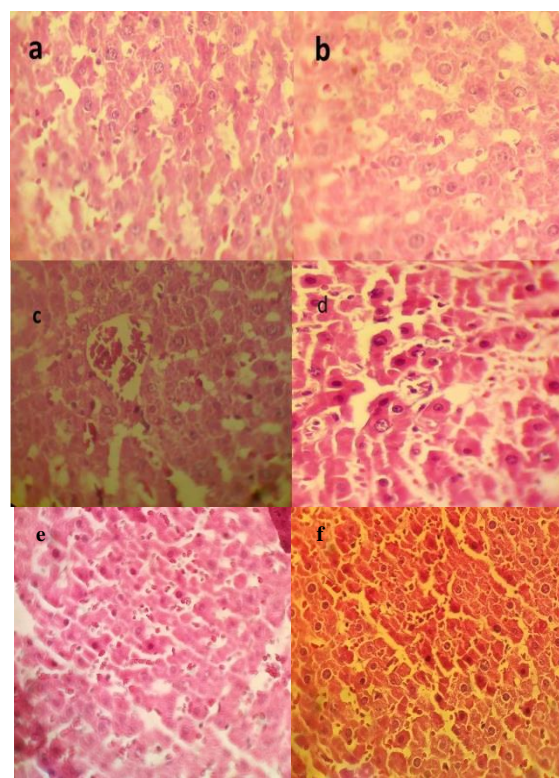
در صورتی که سطح آنزیم‌های کبدی در موش‌هایی که دز کم نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan را دریافت کرده بودند، تغییر معنی‌داری نداشت. با وجود این که میانگین سطح آنزیم AST سرم در گروه‌های دریافت‌کننده نانوکامپوزیت با دز ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر کمتر از گروه شاهد بود، اما از نظر آماری این تفاوت معنی‌دار نبود. در مورد نانوذرات به دلیل پیچیدگی ساختار و ناشناخته بودن مکانیسم‌های عمل، ممکن است که نتایج آزمون‌های زیست‌شناختی با نتایج مورد انتظار محقق تفاوت داشته باشد. محدوده‌ی طبیعی مرجع سطح سرمی AST در نژاد Wistar بین ۱۵-۱۶۰ واحد بین‌المللی/لیتر می‌باشد که سطح آنزیم AST در هر چهار گروه در محدوده‌ی طبیعی مرجع بود.

آنزیم‌های کبدی شامل ALT و AST، نشانگر آسیب و نکروز هپاتوسیت‌ها می‌باشند. سطح این آنزیم‌ها پس از آسیب هپاتوسیت‌ها، نکروز مرتبط با مصرف بیش از حد داروها، سموم شیمیایی، ایسکمی و هپاتیت به شدت بالا می‌رود. ALT یکی از کاربردی‌ترین نشانگرهای اختصاصی آسیب کبدی است و سطح سرمی آن در بیماری حاد کبدی که با نکروز و اختلال عملکرد سلول‌های کبدی همراه است، افزایش می‌یابد (۱۳). با توجه به کاربرد گسترده نانوذرات در علم پزشکی و صنایع غذایی، نیاز است تحقیقات بیشتر و گسترده‌تری برای بررسی ویژگی‌های زیست‌شناختی نانوذرات انجام گیرد. پژوهش‌های جدید در مورد اثر نانوذرات بر سلول‌های سرطانی نشان داده است که این ترکیبات، می‌توانند پس از جذب از راه دستگاه گردش خون به کبد منتقل شوند. تعدادی از نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند از سد خونی-مغزی عبور کنند و با ورود به بافت مغز، سبب آسیب عصبی شوند. در بین روش‌های مختلف، روش تزریق داخل صفاقی بیشترین قابلیت دسترسی زیستی را دارا می‌باشد. به همین دلیل، در مطالعه‌ی حاضر از این روش استفاده شد (۱۴).

در بررسی حاضر، سطح مالون دی‌آلدئید بافت مغز در گروه‌های تحت تیمار با نانوکامپوزیت تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت که نشان می‌دهد نانوکامپوزیت ZnO/Chitosan قادر به عبور از سد خونی-مغزی و ورود به بافت مغز نمی‌باشد.

در بررسی‌های قبلی، مشخص شد که غلظت‌های پایین نانوذرات ZnO-Chitosan باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species یا ROS) و افزایش ترشح انسولین می‌شود (۱۵). در پژوهش حاضر، اثر تزریق درون صفاقی نانوکامپوزیت روی/کیتوسان مورد بررسی قرار گرفت. تزریق داخل صفاقی زیست‌فراهمی بیشتری نسبت به سایر روش‌های تجویز نانوذرات دارد. در مطالعات قبلی، نانوذرات اکسید روی میزان مالون دی‌آلدئید و تحرک اسپرم‌ها را به طور معنی‌داری افزایش داد (۱۶).

میانگین سطح آنزیم AST سرم در گروه‌های دریافت‌کننده نانوکامپوزیت با دزهای ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر کمتر از گروه شاهد بود، اما در بررسی آماری، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده نانوکامپوزیت و گروه شاهد سالم مشاهده نشد (جدول ۱) ($P > 0/05$). سطح مالون دی‌آلدئید بافت مغز، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی نداشت (جدول ۱) ($P > 0/05$). در بررسی مقاطع بافت کبد، تفاوتی بین گروه‌های تحت تیمار با دز ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر نانوکامپوزیت و گروه شاهد وجود نداشت، اما در دز ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر نانوکامپوزیت ZnO/Chitosan نکروز و اتساع سینوزوئید کبدی مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱. مقطع بافتی گروه شاهد a: ۸۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر، b: ۱۶۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر، c, d, e و f: ۳۲۰ میلی‌مول/میلی‌لیتر با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (H&E)، $\times 40$

بحث

کاربرد نانوکامپوزیت‌ها در صنایع غذایی رو به گسترش است؛ با این حال، داده‌های کمی در مورد اثرات بیولوژیک این ترکیبات وجود دارد. در بررسی حاضر، سطح سرمی ALT در گروه‌های تیمار شده با نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan در دزهای بالا بیشتر بود که نشان دهنده‌ی سمیت نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan در دز بالا می‌باشد.

کردند (۲۰). در مطالعات پیشین، مشخص شد نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند از طریق تزریق داخل صفاقی، جذب بالایی داشته باشند و اثرات زیست‌شناختی خود را اعمال کنند (۲۱-۲۲). استفاده‌ی بهینه از نانوذرات مهندسی‌شده در مقیاس وسیع مستلزم مطالعات بیشتری در این زمینه خواهد بود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی، اثرات این ترکیبات در موش‌های دچار آسیب کبدی القایی نیز بررسی شود. نتیجه‌گیری نهایی این است که احتمال می‌رود نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan، اثرات سمی بر بافت کبد داشته باشد.

تشکر و قدردانی

شبه‌نامه‌ی این مطالعه بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و سند مربوط به کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی به شماره‌ی BP-QP-106-01 تصویب گردید. هزینه‌ی اجرای این مطالعه، از محل گرنت پژوهشی معاونت پژوهشی دانشگاه زابل به شماره‌ی UOZ-GR-9618-15 تأمین شد. از همکاری آقای محمود صالحی‌مقدم سپاسگزاری می‌گردد.

Pavan Kumar و همکاران، اثر آنتی‌اکسیدانی نانوذرات ZnO سنتز شده به روش سبز با استفاده از ذرات بتا واگاریس را بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد نانوذرات ZnO در محیط *In vitro* دارای اثر آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۷). این نتایج نشان داد که نانوذرات ZnO فاقد اثر سمی هستند. در مطالعه‌ی حاضر، تجویز نانوکامپوزیت ZnO در دزهای پایین هیچ گونه اثر سمی نداشت که با یافته‌های مطالعه‌ی Pavan Kumar و همکاران هم‌خوانی داشت، اما نتایج آنزیم‌های کبدی در دزهای بالاتر، نشان دهنده‌ی اثرات سمی نانوکامپوزیت ZnO بود. می‌توان این گونه استنباط کرد که اثرات نانوکامپوزیت روی وابسته به دز می‌باشد.



در مطالعه‌ی مشابهی، نانوذره‌ی ZnO و نانوکامپوزیت ZnO-Chitosan نه تنها تأثیرات سمی بر بدن نداشتند؛ بلکه باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی نیز شده است (۱۸)، اما در یک مطالعه‌ی دیگر، افزایش میزان استرس اکسیداتیو در مواجهه با نانوذره‌ی اکسید روی به اثبات رسیده است (۱۹). Wang و همکاران، سمیت نانوذرات ZnO را از طریق مجرای گوارشی در موش تأیید

References

1. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci* 2013; 18(2): 144-57.
2. Doboszewska U, Szweczyk B, Sowa-Kucma M, Noworyta-Sokolowska K, Misztak P, Golebiowska J, et al. Alterations of bio-elements, oxidative, and inflammatory status in the zinc deficiency model in rats. *Neurotox Res* 2016; 29(1): 143-54.
3. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015; 97: 55-74.
4. Song B, Zhang Y, Liu J, Feng X, Zhou T, Shao L. Is neurotoxicity of metallic nanoparticles the cascades of oxidative stress? *Nanoscale Res Lett* 2016; 11(1): 291.
5. Vilela D, Gonzalez MaC, Escarpa A. Nanoparticles as analytical tools for in-vitro antioxidant-capacity assessment and beyond. *Trends Analyt Chem* 2015; 64: 1-16.
6. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015; 97: 55-74.
7. Thakur VK, Kessler MR. Self-healing polymer nanocomposite materials: A review. *Polymer* 2015; 69: 369-83.
8. Khoubnasabjafari M, Ansarin K, Jouyban A. Critical review of malondialdehyde analysis in biological samples. *Curr Pharm Anal* 2016; 12: 4.
9. Shukla SK, Mishra AK, Arotiba OA, Mamba BB. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. *Int J Biol Macromol* 2013; 59: 46-58.
10. Espitia PJP, Soares NdFF, Coimbra JSldR, de Andrade NIJ, Cruz RS, Medeiros EAA. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food Bioprocess Tech* 2012; 5(5): 1447-64.
11. Soofi Zamiri F, Hajinezhad M, Samzadeh-Kermani A, Jahantigh M, Ahmadvpour S. Comparison the effects of ZnO nanoparticles and ZnO nanocomposites on Lipid peroxidation in rats. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2017; 9(2): 263-70. [In Persian].
12. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-8.
13. Roberson M, Rangari V, Jeelani S, Samuel T, Yates C. Synthesis and characterization silver, zinc oxide and hybrid silver/zinc oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *Nano Life* 2014; 4(1): 1440003.
14. Shoaie-Hagh P, Rahimifard M, Navaei-Nigjeh M, Baeeri M, Gholami M, Mohammadirad A, et al. Zinc oxide nanoparticles reduce apoptosis and oxidative stress values in isolated rat pancreatic islets. *Biol Trace Elem Res* 2014; 162(1-3): 262-9.
15. Dkhil MA, Al-Quraishy S, Wahab R. Anticoccidial and antioxidant activities of zinc oxide nanoparticles on *Eimeria papillata*-induced infection in the jejunum. *Int J Nanomedicine* 2015; 10: 1961-8.
16. Afifi M, Almaghrabi OA, Kadasa NM. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 153573.
17. Pavan Kumar MA, Suresh D, Nagabhushana H, Sharma SC. Beta vulgaris aided green synthesis of ZnO nanoparticles and their luminescence, photocatalytic and antioxidant properties. *Eur Phys J Plus* 2015; 130(6): 109.
18. Fazilati M. Investigation toxicity properties of zinc

- oxide nanoparticles on liver enzymes in male rat. *Euro J Exp Bio* 2013; 3(1): 97-103.
19. Jacobsen NR, Stoeger T, van den Brule S, Saber AT, Beyerle A, Vietti G, et al. Acute and subacute pulmonary toxicity and mortality in mice after intratracheal instillation of ZnO nanoparticles in three laboratories. *Food Chem Toxicol* 2015; 85: 84-95.
20. Wang J, Lee JS, Kim D, Zhu L. Exploration of zinc oxide nanoparticles as a multitarget and multifunctional anticancer nanomedicine. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017; 9(46): 39971-84.
21. Rahdar A, Taboada P, Aliahmad M, Hajinezhad MR, Sadeghfar F. Iron oxide nanoparticles: Synthesis, physical characterization, and intraperitoneal biochemical studies in *Rattus norvegicus*. *J Mol Struc* 2018; 1173: 240-5.
22. Rahdar A, Aliahmad M, Hajinezhad MR, Samani M. Xanthan gum-stabilized nano-ceria: Green chemistry based synthesis, characterization, study of biochemical alterations induced by intraperitoneal doses of nanoparticles in rat. *J Mol Struc* 2018; 1173: 166-72.

The Effects of Intraperitoneal Injection of ZnO-Chitosan Nanocomposite on Liver Injury in Rats

Mohammad Reza Hajinezhad¹, Abbas Jamshidian²

Original Article

Abstract

Background: The use of nanocomposites is increasing nowadays. The present study aimed to evaluate the effects of intraperitoneal injection of zinc oxide (ZnO)-chitosan nanocomposites on serum liver enzymes and liver injury in male rats.

Methods: 32 male Wistar rats were equally divided into four groups of one control and three treatment groups. The treatment groups received intraperitoneal injections of ZnO-chitosan nanocomposites (80, 160, and 320 mmol/ml) for four weeks. Control rats were treated with normal saline. At the end of the experiment, the serum samples were taken from the heart, and serum liver enzymes of alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) were determined. After euthanasia, liver and brain samples were taken to determine brain malondialdehyde (MDA) level, and liver histological investigation.

Findings: There was a significant increase in serum ALT levels following intraperitoneal injection of ZnO-chitosan nanocomposite at 160 and 320 mmol/ml compared with the control group ($P < 0.05$). Serum AST levels did not change compared with the control group ($P > 0.05$). In histological analysis, the group received 320 mmol/ml nanocomposites showed sinusoidal distention and necrosis. There were no significant changes in brain MDA between the experimental groups.

Conclusion: The administration of ZnO-chitosan nanocomposite can increase liver enzyme levels. These compounds could be toxic, and their use should be limited in industry and medicine.

Keywords: Zinc oxide, Nanocomposites, Rats, Liver, Lipid peroxidation

Citation: Hajinezhad MR, Jamshidian A. **The Effects of Intraperitoneal Injection of ZnO/Chitosan Nanocomposite on Liver Injury in Rats.** J Isfahan Med Sch 2019; 36(510): 1602-7.

1- Associate Professor, Department of Basic Science, School of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

2- Assistant Professor, Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

Corresponding Author: Abbas Jamshidian, Email: jamshidianab@uoz.ac.ir