BRIEF REPORT

A Comparative Histopathological Investigation of the Effects of ZnO/ Chitosan Nanocomposites and ZnO Nanoparticles on Thioacetamide-induced Nephrophaty in Rats

Mohammad Reza Hajinezhad[1],
Abbas Jamshidian[2],
Alireza Samzadeh kermani[3]

[1] Associate Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Pthobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
[3] Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran

(Received November 10, 2018 Accepted July 17, 2019)

Abstract

Background and purpose: This study compared the effects of intraperitoneal injections of ZnO/chitosan nanocomposite and ZnO nanoparticles on histopathology of kidney in thioacetamide-intoxicated rats.

Materials and methods: Twenty-eight male rats were randomly allocated into a healthy control group (negative control), positive control group (thioacetamide-intoxicated rats), thioacetamide-intoxicated + ZnO nanoparticles, and thioacetamide- iontoxicated + ZnO/chitosan nanocomposite. Nephropathy was induced by intraperitoneal injection of thioacetamide (50 mg/kg IP) three times (24h interval). The treatment groups were treated with ZnO nanocomposites (5mg/kg) and ZnO nanoparticles (5mg/kg) intraperitoneally for four weeks. Then, serum BUN and creatinine levels were measured. Afterwards, the rats were euthanized and kidney samples were separated for histological examinations.

Results: There were significant increases in serum BUN and creatinine levels in thioacetamide-intoxicated rats compared to those in the control group ($P<0.05$). Compared to the control group, ZnO nanoparticles –treated group was found with significantly higher serum BUN and creatinine levels ($P<0.05$). There was no significant difference between the rats treated with ZnO/chitosan nanocomposites and the positive control group in BUN and creatinine levels ($P>0.05$). In histological analysis, tubular necrosis and glomerular fibrosis were observed in treatment groups.

Conclusion: This study showed that ZnO nanoparticles can increase nephrotoxicity induced by thioacetamide, but, ZnO/chitosan nanocomposite had no effect on thioacetamide induced nephrotoxicity.

Keywords: liver, ZnO/chitosan nanoparticles, ZnO nanocomposites, kidney, rat

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29(176): 189-194 (Persian).

* **Corresponding Author: Mohammad Reza Hajinezhad**- Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran (E-mail: hajinezhad@uoz.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۶ شهریور سال ۱۳۹۸ (۱۹۴-۱۸۹)

بررسی مقایسه ای هیستوپاتولوژیک اثر نانو کامپوزیت ZnO/chitosan و نانو ذرات ZnO بر نفروپاتی ناشی از تیواستامید در موش صحرایی

محمد رضا حاجی نژاد[۱]
عباس جمشیدیان[۲]
علیرضا سام زاده کرمانی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: در این مطالعه اثر تجویز داخل صفاقی نانو ذرات روی اکسید (ZnO) و نانو کامپوزیت ZnO/chitosan بر هیستوپاتولوژی بافت کلیه موش‌های صحرایی مسموم شده با تیواستامید مقایسه شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر به گروه های کنترل منفی (موش های سالم)، کنترل مثبت (مسموم شده با تیواستامید)، مسموم شده با تیواستامید و تیمار با نانو ذرات 5mg/kg ZnO و مسموم شده با تیواستامید و تیمار با نانو کامپوزیت 5mg/kg ZnO/chitosan تقسیم شدند. تجویز نانوذرات به مدت چهار هفته انجام شد. نفروپاتی با سه تزریق تیواستامید (۵۰mg/kg ip) در فواصل ۲۴ ساعت القا شد. در پایان میزان BUN وکراتینین سرم سنجش شد. سپس رت‌ها آسان کشی شده و نمونه های کلیه برای بررسی هیستوپاتولوژیک تهیه شد.

یافته‌ها: در موش‌های مسموم شده با تیو استامید افزایش معنی داری درBUN وکراتینین سرم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P <۰/۰۵$). BUN وکراتینین در گروه دریافت کننده تیو استامید و تحت تیمار با نانو ذرات ZnO نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد ($P <۰/۰۵$). در موش های گروه دریافت کننده تیو استامید و تحت تیمار با نانو کامپوزیت ZnO/chitosan سطح سرمی BUN وکراتینین تفاوت معنی داری با گروه کنترل مثبت نداشت. در بررسی های بافت شناسی در گروه کنترل مثبت و گروه های تحت تیمار، نکروز و فیبروز گلومرولی مشاهده شد.

استنتاج: نتایج این بررسی نشان داد که نانوذراتZnO سمیت کلیوی ناشی از تیواستامید را تشدید می‌کنند اما نانوکامپوزیت ZnO/chitosan اثری بر سمیت کلیوی ناشی از تیواستامید نداشت.

واژه های کلیدی: موش صحرایی، نانو کامپوزیت ZnO/Chitosan ،کلیه، نانو ذرات ZnO

مقدمه

فناوری نانو تمام جنبه‌های صنعت و کشاورزی تا پزشکی و بهداشت را تحت تاثیر قرار داده است(۱). در علم نانو فعالیت شیمیایی مواد تحت تاثیر کاهش اندازه آن‌ها قرار گرفته و تغییر می‌کند. تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی ماده سبب تغییر اثرات بیولوژیک یک ماده می‌شود(۲). نانو ذره روی اکسید (ZnO)، در صنایع

مولف مسئول: محمدرضا حاجی نژاد–زابل: دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی
۱. دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. استادیار، گروه علوم پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه زابل، زابل، ایران
E-mail: hajinezhad@uoz.ac.ir
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۸/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۹/۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۸/۳/۲۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

الکترونیک ساخت نمایشگرهای پلاسما و تجهیزات پزشکی کاربرد دارد(۳). نانوذرات اکسید روی به دلیل اندازه کوچک می‌توانند در مقادیر بسیار کم از اندوتلیوم مویرگ‌های خونی جذب گردش خون شوند. نانوکامپوزیت روی اکسید نسبت به نانوذرات بزرگ‌تر هستند و جذب آن‌ها از اندوتلیوم مویرگ‌ها دشوارتر است اما از سوی دیگر به دلیل حلالیت بالاتر توزیع آن‌ها در مایعات بدن بیش‌تر است(۴). کاربرد نانوکامپوزیت روی در صنعت در حال افزایش است، هم‌چنین در ساخت وسایل ارتوپدی و تجهیزات مهندسی پزشکی استفاده می‌شوند(۵). با این حال مطالعات کمی در مورد اثر سمیت کلیوی نانوکامپوزیت‌های روی انجام شده و دوز سمی این ترکیبات به خوبی شناخته نشده است اما در برخی از مطالعات اثر آنتی‌اکسیدانی این نانوذرات به اثبات رسیده است. نتایج سایر بررسی‌ها نشان دهنده اثر سمیت کبدی و کلیوی این ترکیبات است(۶). از سوی دیگر تاکنون مطالعه جامعی در مورد اثر تجویز طولانی مدت نانوذرات روی و نانوکامپوزیت روی بر آسیب بافت کلیه انجام نشده است. در مطالعه حاضر اثر تجویز طولانی مدت این ترکیبات بر بافت کلیه موش بررسی شد.

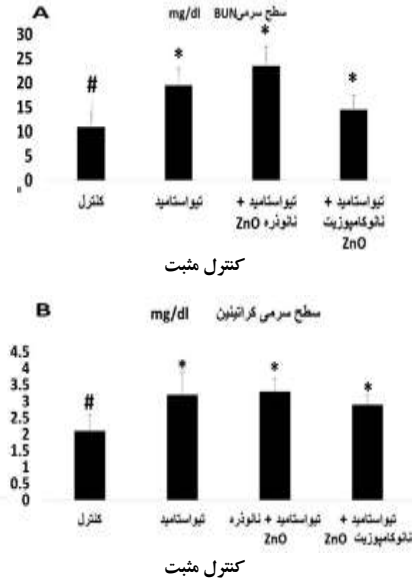
مواد و روش‌ها

نانوذرات در گروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه زابل به روش رسوب گیری شیمیایی سنتز شدند. برای سنتز نانوترکیب ZnO/Chitosan ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی کیتوزان با انحلال کیتوزان جامد در محلول ۱/۰ درصد وزنی استیک اسید با pH حدود ۳/۵۳ تحت هم زدن مداوم به مدت ۴۵ دقیقه تهیه شد. سپس مقدار یک گرم نانوذره ZnO به محلول اضافه شد تا سوسپانسیون یکنواختی به دست آید. متوسط اندازه نانوذرات تهیه شده در این فرایند در حدود ۲۵۰ نانومتر بود. موش‌های صحرایی نر به ۴ گروه هفت‌تایی تقسیم شدند، سه گروه از موش‌ها سه تزریق داخل صفاقی تیواستامید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به فاصله ۲۴ ساعت دریافت کردند(۷). به موش‌های شاهد سالم نیم میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تزریق شد. یک گروه از موش‌های مسموم شده با تیو استامید سرم فیزیولوژی دریافت کردندو دو گروه دیگر از موش‌های مسموم شده با تیو استامید به ترتیب با نانو ذرات 5mg/kg ZnO و نانو کامپوزیت ZnO/chitosanتیمار شدند. دوز محلول‌ها براساس مطالعات قبلی و بررسی مقدماتی انتخاب شد(۸). در پایان از موش‌ها نمونه‌گیری شد و سرم خون جداسازی شد. BUN و کراتینین نمونه‌های سرم با دستگاه اتوآنالایزر (Selectra pro M) سنجش شد. نمونه‌های کلیه در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شدند(۹). برای مقایسه گروه‌های آزمایشی با همدیگر از آزمون آنووای یکطرفه و آزمون تکمیلی posthoc توکی (Tukey) استفاده شد. سطح معنی‌داری گروه‌های آزمایشی ($P <$ ۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته ها و بحث

موش‌های صحرایی مسموم شده با تیو استامید، BUN بالاتری نسبت به‌گروه کنترل داشتند($P <$ ۰/۰۵). هم‌چنین سطح کراتینین در این گروه از گروه شاهد سالم بیش تر بود ($P <$ ۰/۰۵). BUN و کراتینین سرم موش‌های مسموم شده با تیو استامید و تحت تیمار با نانو ذرات ZnO نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار داشت ($P <$ ۰/۰۵). در موش‌های گروه دریافت کننده تیو استامید و تحت تیمار با نانو کامپوزیت ZnO/chitosan ، سطح سرمی BUN وکراتینین تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت (مسموم شده با تیواستامید بدون درمان) نداشت. سطح سرمی BUN در گروه تیمار شده با نانوذره ZnO از گروه تیمار شده با نانوکامپوزیت ZnO/chitosan کم‌تر بود اما در بررسی آماری مشخص شد که این تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد ($p >$ ۰/۰۵) میزان کراتینین سرم در گروه تیمار شده با نانوذره ZnO تفاوت معنی‌داری با گروه تیمار شده با نانوکامپوزیت ZnO/chitosan نداشت ($P >$ ۰/۰۵).

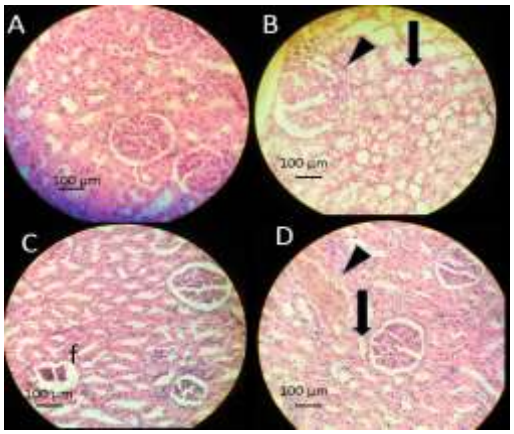
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]



نمودار شماره۱: سطح سرمی BUN و کراتینین در گروه های تحت تیمار و گروه شاهد سالم.

*: اختلاف معنی دار با گروه شاهد سالم (P<۰/۰۵). #: اختلاف معنی دار با گروه کنترل مثبت (مسموم شده با تیو استامید) (P <۰/۰۵).

در بررسی هیستوپاتولوژیک در گروه کنترل، توبول‌های کلیوی، گلومرول‌ها و بافت بینابینی طبیعی بود و هیچگونه آثاری از ضایعه دیده نشد (تصویر شماره A ۱). در گروه مسموم شده با تیواستامید، علایم آسیب کلیوی مانند پرخونی، اتساع توبول‌های کلیوی و تهاجم سلول‌های آماسی مشاهده شد و مشخص بود که نشان‌دهنده تخریب بافت کلیوی از جمله لوله‌های کلیوی و بافت بینابینی می‌باشد (تصویر شمارهB ۱). در گروه مسموم شده با تیواستامید و تحت تیمار با نانو کامپوزیت ZnO فیبروز گلومرولی (گلومرولواسکلروز)، اتساع فضای داخلی توبول‌های کلیوی و اتساع فضای کپسول بومن مشاهده شد (تصویر شمارهC ۱). در گروه مسموم شده با تیواستامید و تحت تیمار با نانو ذرات ZnO فیبروز گلومرولی، اتساع فضای داخلی توبول‌های کلیوی، اتساع فضای کپسول بومن و پرخونی مشاهده شد که این یافته ها نشان دهنده آسیب شدید کلیوی است و با نتایج مارکرهای بیوشیمیایی کارکرد کلیه مطابقت داشت (تصویر شمارهD۱).



تصویر شماره۱: A: مقطع بافت کلیه گروه کنترل.رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (بزرگنمایی ۴۰) (مقیاس=µm 100). **B:** مقطع بافت کلیه موش صحرایی مسموم شده با تیواستامید نفوذ سلول های آماسی (نوک فلش) و پرخونی (فلش). رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. (بزرگنمایی ۴۰) (مقیاس=µm 100). **C:** مسموم شده با تیواستامید و تحت تیمار با *نانوکامپوزیت* Chitosan/ ZnO ،فیبروز گلومرولی (f). رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (بزرگنمایی ۴۰). **D:** (مقیاس=µm 100)، مسموم شده با تیواستامید و تحت تیمار با ZnO. اتساع توبول های کلیوی (فلش) و پرخونی (نوک فلش) (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰) (مقیاس=µm 100).

در مطالعه حاضر تجویز همزمان نانو ذرات ZnO و تیواستامید، سطح BUN و کراتینین را کاهش نداد و سطح سرمی BUN و کراتینین در گروه‌های تیمار شده با نانو کامپوزیتZnO/chitosan تفاوت معنی‌داری با گروه مسموم شده با تیواستامید نداشت. نتایج بررسی هیستوپاتولوژی نشان داد که آسیب بافت کلیه در گروه‌هایی که نانوذرات ZnO و نانوکامپوزیت ZnO/chitosan را همزمان با تیواستامید دریافت کرده بودند از گروه کنترل مثبت بیش تر بود. تیواستامید توسط سیتوکروم P450 (CYP) به تیواستامید سولفوکسید (TASO) و سپس به تیواستامید سولفودی اکسید (TASO2) تبدیل می‌شود که یک ماده به شدت اکسید کننده است و با اکسیداسیون پروتئین‌ها و چربی‌های غشا سبب نکروز سلول‌های کلیه می‌شود(۱۰). نانوذرات ZnO با کاهش سطح مالون دی آلدهید از آسیب اکسیداتیو در سلول جلوگیری می‌کنند. هم‌چنین این

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

نانوذرات با کاهش سطح سرمی اینترلوکین ۱بتا (IL-1β) و فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α) از التهاب جلوگیری می‌کند(۱۱).

در بررسی حاضر تجویز نانوذرات روی نتوانست از آسیب بافتی ناشی از تیو استامید جلوگیری کند. در مورد اثرات بیولوژیک نانوذرات روی در بین محققان اختلاف نظر وجود دارد. به نظر می‌رسد روش سنتز و روش تجویز نانوذرات روی می‌تواند زیست فراهمی و در نتیجه اثرات بیولوژیک نانوذرات را تغییر دهد. در بررسی‌های قبلی تجویر استنشاقی نانوذرات ZnO سبب افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی در ریه شد. علاوه بر این نتایج بررسی‌های in vitro نشان داده است که نانوذرات ZnO سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب سلولی می‌شوند در حالی که تجویز داخل صفاقی این ترکیبات به موش‌های صحرایی اثر سمی در بافت کلیه ایجاد نکرد(۱۳،۱۲).

نانوکامپوزیت روی به دلیل حلالیت بالاتر و ساختار شیمیایی اثرات بیولوژیک متفاوتی نسبت به نانوذرات روی دارد. این ترکیبات اثرات ضد التهاب قوی دارند و مطالعات قبلی نشان داده است که فرایند ترمیم زخم را تسریع می‌کنند(۱۴). در بررسی‌های پیشین استفاده از نانوکامپوزیت روی سبب بهبود عملکرد حرکتی در موش‌های صحرایی دچار آسیب عصب سیاتیک شد(۱۵). در مورد اثر تجویز داخل صفاقی نانوکامپوزیت‌ها اطلاعات کمی وجود دارد. در یک مطالعه سطح پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌هایی که نانوکامپوزیت روی را دریافت کرده بودند نسبت به موش‌های تحت تیمار با نانو ذره روی کم‌تر بود(۱۶). روش مناسب تجویز دسترسی زیستی را افزایش می‌دهد. در مطالعات قبلی نانوذراتی که به صورت داخل صفاقی تجویز می‌شوند اثرات بیولوژیک قوی‌تر داشتند(۱۸،۱۷).

سپاسگزاری

این مطالعه تجربی براساس قوانین بین المللی در زمینه کار با حیوانات آزمایشگاهی (NIH publication No 85-23) و قوانین مربوط با پژوهش های علوم پزشکی شماره سند BP-QP-106-01 انجام شد. هزینه این مطالعه ار محل اعتبار پژوهانه (شماره۹۶/۲۲۸/پ ۱۰) دانشگاه زابل تامین شد.

References

1. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles-a review. Trop J Pharm Res 2006; 5(1): 561-573.
2. 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 Struct 2018; 1173: 240-245.
3. Kittelson DB. Engines and nanoparticles: a review. J Aerosol Sci 1998; 29(5-6): 575-588.
4. Zhang L, Gu FX, Chan JM, Wang AZ, Langer RS, Farokhzad OC. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. Clin. Pharmacol Ther 2008; 83(5): 761-769.
5. Nogi M, Yano H. Transparent nanocomposites based on cellulose produced by bacteria offer potential innovation in the electronics device industry. Adv Mater 2008; 20(10): 1849-1852.
6. Sanchez C, Julián B, Belleville P, Popall M. Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites. J Mater Chem 2005; 15(35-36): 3559-3592.
7. Mohammad Pour Zehab M, Shariati-Sharifi F, Jamshidian A, Hajinezhad M R. The effect of Syrian mesquite (Prosopis farcta) seed extract on thioacetamide-induced oxidative stress in rats. Feyz 2018; 22(1): 25-30 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

8. Kiranmai G, Reddy AR. Antioxidant status in MgO nanoparticle-exposed rats. Toxicol Ind Health 2013; 29(10): 897-903.
9. Hamzeh M, Amiri FT, Beklar SY, Hosseinimehr SJ. Nephroprotective effect of cerium oxide nanoparticles on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity via anti-apoptotic and antioxidant properties in BALB/c mice. Marmara Pharm J 2018; 22(2): 180-189.
10. Keshk WA, Zahran SM. Mechanistic role of cAMP and hepatocyte growth factor signaling in thioacetamide-induced nephrotoxicity: Unraveling the role of platelet rich plasma. Biomed Pharmacother 2019; 109: 1078-1084.
11. LI, Jinquan, Wang B, Cai C,Yang X, Chai Z, et al. ZnO nanoparticles act as supportive therapy in DSS-induced ulcerative colitis in mice by maintaining gut homeostasis and activating Nrf2 signaling. Sci Rep 2017, 7: 43126.
12. Warheit DB, Sayes CM, Reed KL. Nanoscale and fine zinc oxide particles: can in vitro assays accurately forecast lung hazards following inhalation exposures? Environ Sci Technol 2009; 43(20): 7939-7945.
13. Vanderbreil Rob J, Dejong Wim H. A review of mammalian toxicity of ZnO nanoparticles. Nanotechnol Sci Appl 2012, 5: 61-71.
14. Díez-Pascual AM, Díez-Vicente AL. Wound healing bionanocomposites based on castor oil polymeric films reinforced with chitosan-modified ZnO nanoparticles. Biomacromolecules 2015; 16(9): 2631-2644.
15. Iman M, Araghi M, Panahi Y, Mohammadi R. Effects of Chitosan-Zinc Oxide Nanocomposite Conduit on Transected Sciatic Nerve: An Animal Model Study. Bull Emerg Trauma 2017; 5(4): 240-248.
16. Soofi Zamiri F, Hajinezhad M, Samzadeh-Kermani A, Jahantigh M, Ahmadpour S. Comparison the effects of ZnO nanoparticles and ZnOnanocomposites on Lipid Peroxidation in Rats. JNKUMS 2017; 9(2): 263-270 (Persian).
17. 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 Struct 2018; 1173: 166-172.
18. Taimoory SM, Rahdar A, Aliahmad M, Sadeghfar F, Hajinezhad MR, Jahantigh M, et al. Computational, experimental details, and biological raw data accompanying the publication: "The synthesis and characterization of a nanomagnetite with potent antibacterial activity and low mammalian toxicity". Data in Brief 2018; 21: 2518-2521.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]