

## بررسی اثر اکسید روی بر فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی در موش صحرایی نر

صادق زارعی<sup>۱</sup>، هیمن مرادی<sup>۲\*</sup>، سهیلا اسدی<sup>۳</sup>، رقیه عباسعلی پورکبیر<sup>۴</sup>، نسرين ضیامجیدی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران  
<sup>۲</sup> دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
<sup>۳</sup> دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
<sup>۴</sup> استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
 \* نویسنده مسئول: هیمن مرادی، دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ایمیل: hemen.moradi@yahoo.com

DOI: 10.21859/psj-15035

### چکیده

**مقدمه:** عنصر روی بخشی از سیستم آنتی اکسیدانی بدن است، لذا کمبود آن سبب اختلال در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن و افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد. هدف از این مطالعه تعیین تأثیر اکسید روی بر وضعیت آنتی اکسیدانی در رت بود.

**روش کار:** در این مطالعه ۲۵ رت ویستار از جنس نر بصورت تصادفی به ۵ دسته ۵ تایی تقسیم شدند. سپس به مدت ده روز، ۴ گروه از رت‌ها در معرض دوزهای مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسید روی (ZnO) به صورت تزریق داخل صفاقی قرار گرفتند و یک گروه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. پس از طی این دوره میزان ۲ میلی‌لیتر خون از قلب حیوان گرفته و فاکتورهای اکسیدانی و آنتی اکسیدانی شامل گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC)، وضعیت اکسیدانی کل (TOS) و پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) سنجش گردید.

**یافته‌ها:** فعالیت آنزیم SOD در گروه‌های مصرف کننده اکسید روی (ZnO) با دوزهای متفاوت افزایش قابل توجه آماری نشان داد ( $P < 0/05$ ). فعالیت آنزیم GPX در گروه‌های مصرف کننده اکسید روی تغییر معناداری نسبت به گروه کنترل نشان نداد. تغییرات پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) در گروه‌های مصرف کننده دوزهای متفاوت اکسید روی بطور چشمگیری معنادار شدند. میزان کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) و میزان افزایش وضعیت اکسیدانی تام (TOS) در گروه‌های مختلف مصرف کننده اکسید روی بطور قابل توجه معنادار شدند ( $P < 0/01$ ).  
**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد، غلظت‌های اکسید روی استفاده شده در این مطالعه منجر به افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و وضعیت اکسیدانی تام و کاهش غیرقابل توجه فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه کنترل می‌شود که می‌توانند نشانگر القای استرس اکسیداتیو باشند.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۳

### واژگان کلیدی:

شاخص‌های استرس اکسیداتیو  
اکسید روی

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

### مقدمه

ظهر است) بستگی دارد [۸]. اکسید روی رایج‌ترین ترکیب روی می‌باشد زیرا بالاترین غلظت عنصر روی را در خود دارد و از طرف دیگر جذب آن در بدن بالا بوده و توسط دستگاه گوارش نیز بهتر تحمل می‌شود [۹]. اکسید روی به علت خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر بفردی که دارد دارای عملکرد چند گانه می‌باشد. از جمله خواص فیزیکی و شیمیایی آن عبارت است از پایداری شیمیایی بالا، ضریب اتصال بالای الکتروشیمیایی، جذب طیف وسیعی از اشعه‌ها و پایداری نوری بالا. امروزه اکسید روی به عنوان حسگر، مبدل، لاستیک، مولد انرژی، در صنعت سرامیک، در پزشکی، داروسازی، کشاورزی، رنگ آمیزی و در

روی یک عنصر ضروری کاتالیتیک، ساختاری و تنظیمی است که نقش مهمی را در هموستاز، پاسخ‌های ایمنی، استرس اکسیداتیو و پیری ایفا می‌کند [۵-۱]. روی پس از آهن فراوان‌ترین فلز موجود در بدن است و اگر آهن متصل به هموگلوبین در نظر گرفته نشود، در اینصورت روی فراوان‌ترین فلز موجود در بدن است [۵-۷]. این عنصر در تمام بافت‌های بدن حضور دارد، ۸۵٪ روی بدن در عضلات و استخوان‌ها، ۱۱٪ آن در پوست و کبد و مابقی آن در پروتستات و چشم‌هاست. مقدار روی کل پلاسما ۹ گرم روی به ازاء هر ۱۰۰ میلی‌لیتر پلاسماست و این میزان به سن، جنس، بارداری و ساعت روز (میزان روی در صبح بیشتر از

متناقض و استفاده روزافزون تعیین اثرات آن امری ضروری به نظر می‌رسد.

### روش کار

تهیه محلول اکسید روی؛ میزان ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان پودر اکسید روی (تهیه شده از شرکت MERCK آلمان) بصورت روزانه با توجه به تعداد رت‌ها و وزن آن‌ها در هر گروه، به ازای هر رت در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط کرده و پس از تشکیل سوسپانسیون در یخچال تا زمان تزریق داخل صفاقی نگهداری شدند. حیوانات مورد مطالعه؛ تعداد ۲۵ رت خریداری شده از مرکز پرورش حیوانات انستیتو پاستور تهران در قفس‌های بزرگ به صورت ۵ حیوان در یک قفس بزرگ با بستر خاک اره جا داده شدند و بطور آزادانه به غذای پلیت استاندارد و آب آشامیدنی دسترسی داشتند و تحت شرایط رطوبت (۵٪)، نور (سیکل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای  $2 \pm 30$  درجه سانتیگراد قرار داده شدند. کلیه ملاحظات اخلاقی در مورد کار با حیوانات طبق دستورالعمل معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان صورت گرفت. قبل از شروع مطالعه حیوانات حداقل به مدت یک هفته جهت سازش با محیط و نیز رسیدن به وزن مطالعه در محل حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی همدان نگهداری شدند. سایر امور مربوط به مطالعه تا مرحله نمونه‌گیری از حیوانات نیز در آزمایشگاه جراحی حیوانات این مرکز با رعایت کلیه موارد اخلاقی صورت گرفت. تیمار نمودن حیوانات؛ حیوانات پس از یک هفته سازش و تطابق با شرایط جدید و نیز رسیدن به وزن مطالعه، جهت شروع مطالعه به طور تصادفی به ۵ دسته ۵ تایی یک گروه کنترل و چهار گروه تجربی تقسیم شدند. سپس به مدت ۱۰ روز دوزهای مختلف میزان ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بصورت داخل صفاقی به رت‌ها تزریق شد [۱۷].

[۱۸] و یک گروه نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که ماده شیمیایی اکسید روی به صورت محلول کلوئیدی در آب تزریق شد. تهیه نمونه از حیوانات؛ در پایان مطالعه از ورید اجوف تحتانی رت‌ها خون‌گیری صورت گرفته بدین ترتیب که پس از بیهوشی با تزریق  $50 \text{ mg/kg}$  کتامین، با باز نمودن شکم، بعد از کنار زدن احشا به ورید اجوف تحتانی دسترسی پیدا کرده و با استفاده از سرنگ ۱۰ میلی لیتر خون‌گیری صورت گرفت. سپس آن را در لوله عاری از ضد انعقاد ریخته و سرم آن را در دورج ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جدا نموده و سرم‌ها را در دمای منفی  $20^\circ\text{C}$  فریز نمودیم تا در سریع وقت تست‌های بیوشیمیایی مورد نظر روی سرم رت‌ها صورت گیرد.

روش آزمایش؛ اندازه‌گیری تعیین فعالیت آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز (GPX: Glutathione Peroxidase) براساس روش

سیستم‌های اکولوژیک کار برد دارد [۱۰]. در پزشکی و بهداشت ترکیب اکسید روی با نام زینک اکساید در پودر بچه، پمادهای پوستی، کرم ضد آفتاب، شامپو ضدشوره و موارد دیگر استفاده می‌شود. پماد زینک اکساید در درمان ضایعات پوستی حاصل از عفونت مانند سوختگی، اگزما، سوختگی پای نوزادان، خراشیدگی و گزش حشرات استفاده می‌شود. اکسید روی به عنوان ضد التهاب خفیف پوستی و همچنین در ترکیب کالامین به عنوان ضد خارش کاربرد دارد. اکسید روی دارای خواص مرطوب کننده، آنتی بیوتیکی و دئودورانت است. به دلیل آثار منعکس کننده اشعه UV در ترکیب کرم‌های ضد آفتاب نیز استفاده می‌شود. اکسید روی به دلیل جذب اشعه ماوراء بنفش در صنایع آرایشی مصرف فراوانی دارد و از پوست در مقابل آفتاب سوختگی و اشعه ماوراء بنفش محافظت می‌نماید. همچنین در تولید دئودورانت‌ها و صابون‌ها کاربرد دارد. این ترکیب در حذف بوی بد بدن و جلوگیری از رویش باکتری‌ها کمک می‌کند و بخوبی موجب تسکین هر گونه حساسیت پوستی می‌شود [۱۱]. عنصر روی بخشی از سیستم آنتی اکسیدانی بدن است، لذا کمبود آن سبب اختلال در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن و افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد [۳]. روی یک عنصر ضروری کاتالیتیک، ساختاری و تنظیمی است که نقش مهمی را در هموستاز، پاسخ‌های ایمنی، استرس اکسیداتیو و پیری ایفا می‌کند [۴-۸]. املاح روی سمی می‌باشد و تحمل بدن نسبت به افزایش آن به نوع رژیم غذایی و سایر موادی که در روند جذب و مصرف روی دخالت دارند، بستگی دارد [۱۲]. مهم‌ترین پارامتری که فعالیت اکسید روی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، سایز ذرات و مورفولوژی آن می‌باشد. استفاده از نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با سایز میکرو اتصالات عرضی بیشتری ایجاد می‌نماید. استفاده از ذرات نانو باعث می‌شود مقدار استفاده از اکسید روی تا ۴۰ درصد کاهش یابد و این در استفاده‌های اکولوژیک اهمیت فراوانی دارد. زیرا اکسید روی در نمونه‌های آبی به عنوان ماده توکسیک طبقه‌بندی می‌شود [۱۳]. در سال‌های اخیر پیشرفت نانو تکنولوژی در زمینه‌های الکترونیک، وسایل نوری، صنعت، تشخیص بیماری، تحویل دارو، بیوسنسورها، عکسبرداری و تولید محصولاتمانند ضد آفتاب‌ها، فرش بافی، وسایل آرایشی و لوازم ورزشی موجب شده است که نانو اکسید روی جایگزین روی شود [۱۴-۱۶].

علیرغم افزایش استفاده از اکسید روی برای اهداف صنعتی، اطلاعات راجع به پتانسیل خصوصیات سمی آن متناقض است. اگرچه در تعدادی از مطالعات اثر غیر سمی بودن ذرات اکسید روی تأیید شده اما عده‌ای از محققین نتیجه عکس آن را مشاهده کرده و اعلام کردند که عوارض جانبی در بعضی از سلول‌های انسان ایجاد می‌کند. بنابراین به دلیل گزارشات

## یافته‌ها

تأثیر نانوذرات اکسید روی بر پارامترهای اکسیدانی و آنتی اکسیدانی در **جدول ۱** نشان داده شده است. غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت از ترکیب اکسید روی باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به گروه کنترل شده است. هرچند که افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش غلظت اکسید روی همراه است ولی این تغییر از نظر آماری قابل توجه نیست. همینطور غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت از ترکیب اکسید روی باعث افزایش قابل توجه در فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز نسبت به گروه کنترل شده است، از غلظت ۱۵۰ میلی گرم به بعد فعالیت این آنزیم بصورت غیر معنی دار کاهش پیدا کرده است. بر اساس اطلاعاتی که در **جدول ۱** مندرج است، مصرف اکسید روی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم اکسید روی باعث افزایش قابل توجه در میزان مالون دی آلدئید به عنوان پراکسیداسیون لیپیدی نسبت به گروه کنترل و غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت گردید، درحالی که مصرف اکسید روی در غلظت ۵۰ میلی گرم باعث افزایش ناچیزی در میزان مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل شد که این میزان هم معنی دار نبود. همچنین وضعیت اکسیدانی توتال در اثر مسمومیت با اکسید روی همچنین نشان داده شده است. در حالی که مصرف اکسید روی در غلظت ۲۰۰ میلی گرم باعث افزایش قابل توجه در میزان اکسیدان کل نسبت به گروه کنترل، گروه ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر وزن بدن رت گردید، در سایر گروه‌های مصرف کننده اکسید روی تغییر افزایشی قابل توجه در میزان اکسیدان کل مشاهده نگردید. به هر حال مسمومیت با اکسید روی تا غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت باعث افزایش وابسته به غلظت در وضعیت اکسیدانی کل گردید. بر طبق داده‌های بدست آمده ظرفیت آنتی اکسیدانی کل همراه با افزایش غلظت اکسید روی در تمام گروه‌ها کاهش پیدا کرده است. با این حال گروه مصرف کننده اکسید روی در غلظت ۲۰۰ میلی گرم کاهش قابل توجه در میزان آنتی اکسیدان کل نسبت به گروه کنترل و گروه ۵۰ میلی گرم اکسید روی نشان داد. همچنین گروه تیمار شده با غلظت ۱۵۰ میلی گرم اکسید روی باعث کاهش قابل توجه ظرفیت آنتی اکسیدان فقط نسبت به گروه کنترل شده است.

در **جدول ۲** وضعیت دو آنزیم‌های کبدی AST و ALT در اثر تیمار رت‌ها با اکسید روی نشان داده شده است تغییرات آنزیم‌های کبدی ALT و AST در گروه‌های مصرف کننده دوزهای متفاوت اکسید روی بطور چشمگیری معنادار شدند.

Paglia D.E and Valentine W.N (۱۹۶۷) انجام گردید. در این روش گلوکوتایون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوکوتایون و احیاء هیدروپراکسید را کاتالیز می‌نماید. گلوکوتایون اکسید شده در حضور گلوکوتایون پراکسیداز و فوراً احیا شده و NADPH نیز اکسید می‌گردد و به فرم  $\text{NADP}^+$  تبدیل می‌شود [۱۹]. جذب نور در طول موج ۳۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico S2100 (USA) تعیین گردید.

$$\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2\text{H}_2\text{O}$$

$$\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADP}^+ + 2\text{GSH}$$

اندازه گیری تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD: Super Oxide Dismutase) بر اساس روش Marklund S. (۱۹۷۴) انجام گردید [۲۰]. نقش سوپراکسید دیسموتاز افزایش سرعت تجزیه آنیون سوپراکسید به هیدروژن پراکسید و مولکول اکسیژن است.

$$\text{SOD} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{Cu} + \text{SOD} + \text{O}_2$$

$$\text{SOD} + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{SOD} + \text{H}_2\text{O}_2$$

کاهش دانسیته نوری (OD) که به عنوان فعالیت آنزیم بیان می‌شود توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico S2100 (USA) تعیین گردید. اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC: Total Antioxidant Capacity) با روش دستی FRAP صورت گرفت. در این روش ترکیبات آنتی اکسیدان با احیای یون مس باعث ایجاد رنگ می‌شوند که میزان غلظت با کمک اسپکتروفتومتر مدل JENWAY 6105 در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری گردید [۲۱]. اندازه گیری سطح سرمی پراکسیداسیونی لیپیدی (LPO) به روش فلوریمتری انجام گردید. اساس این روش واکنش تیو باربیوتوریک اسید (TBA) با لیپیدهای پراکسیده می‌باشد. این اسید ملکول‌های لیپیدی پر اکسیده را در MDA می‌شکند و سپس MDA با TBA واکنش می‌دهد که تولید ماده‌ای می‌کند که با روش اسپکتروفتومتری فلورسنت قابل اندازه گیری است. با فلوریمتر در طول موج تحریکی ۵۱۵ نانومتر و طول موج نشری ۵۵۳ نانومتر شدت فلورسانس اندازه گیری می‌شود [۲۲]. ظرفیت اکسیدانی تام (TOS: Total Oxidant Status) نمونه‌های سرم به وسیله اکسید شدن آهن فرس به فریک در نمونه‌های دارای اسیدیتة متوسط و اندازه‌گیری فریک به وسیله گزیلوز اورنج مشخص می‌گردد [۲۳]. وضعیت اکسیداتیو و آنتی اکسیدانی TAC و TOS از طریق روش رنگ‌سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VI مدل JENWAY 6105 انجام شد. اندازه گیری آنزیم‌های کبدی یعنی آلانین آمینو ترانسفراز یا ALT و آسپارات آمینوترانسفراز یا AST توسط کیت ایرانی پارس آزمون انجام گرفت.

جدول ۱: بررسی تأثیر اکسید روی (ZnO) بر پارامترهای اکسیدانی و آنتی اکسیدانی در رت‌های نر ویستار (N = ۵)

P value	ZnO200	ZnO150	ZnO100	ZnO50	Cont	
< ۰/۰۵	a* ۵۴/۹۶ ± ۶/۰۱	۴۹/۶۰ ± ۱۴/۴۵	۳۵/۷۳ ± ۴/۶۶	۴۲/۲۴ ± ۱۹/۵۴	۲۵/۲۹ ± ۹/۵۴	<b>SOD</b>
= ۰/۵۶	۱/۶۸ ± ۰/۱۱	۱/۷۵ ± ۱/۲۳	۰/۸۲ ± ۰/۲۳	۱/۹۰ ± ۰/۶۷	۱/۷۶ ± ۰/۹۱	<b>GPx</b>
< ۰/۰۱	a*,b* ۰/۷۷ ± ۰/۰۱۷	a* ۰/۸۹ ± ۰/۰۳۵	۰/۹۸ ± ۰/۰۲۶	۱/۱۹ ± ۰/۰۴۰	۱/۲۴ ± ۰/۰۳۶	<b>TAC</b>
< ۰/۰۰۱	a#,b# ۱/۴۳ ± ۰/۱۷	a#,b# ۱/۲۲ ± ۰/۰۷	a#,b# ۰/۹۹ ± ۰/۱۰	۰/۴۴ ± ۰/۰۵۱	۰/۳۴ ± ۰/۰۲۱	<b>LPO</b>
< ۰/۰۱	aΔ,bΔ,c* ۳/۷۸ ± ۰/۵۴	۲/۸۷ ± ۰/۸	۲/۳۳ ± ۰/۱۷	۲/۰۲ ± ۰/۱۹	۱/۴۴ ± ۱/۸۰	<b>TOS</b>

Cont: گروه کنترل. ZnO50: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO100.۵۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO150.۱۰۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO200.۱۵۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ۲۰۰ mg/kg. <sup>a</sup> مقایسه با گروه کنترل (Cont)، <sup>b</sup> مقایسه با گروه دریافت کننده ZnO50، <sup>c</sup> مقایسه با گروه دریافت کننده ZnO100. \* (P < ۰/۰۵) (P < ۰/۰۱) # (P < ۰/۰۰۱)

جدول ۲: بررسی تأثیر اکسید روی (ZnO) بر آنزیم‌های کبدی در رت‌های نر ویستار (N = ۵)

P value	Zno200	Zno150	Zno100	Zno50	Cont	
< ۰/۰۰۱	a#,b# ۱۱۷/۰۰ ± ۲/۰۰	a#,b# ۱۱۶/۴۰ ± ۵/۱۷	a#,b# ۱۰۸/۷۵ ± ۶/۳۴	a# ۸۷/۵۷ ± ۵/۲۵	۶۴/۲۵ ± ۲/۲۱	<b>AST</b>
= ۰/۰۰۱	aΔ,b* ۲۱/۶۶ ± ۲/۵۱	aΔ,b* ۱۱۷/۰۰ ± ۲/۵۴	a* ۱۰۶/۷۵ ± ۲/۹۹	۸۹/۵۰ ± ۳/۷۰	۷۷/۰۰ ± ۲/۲۷	<b>ALT</b>

Cont: گروه کنترل. ZnO50: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO100.۵۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO150.۱۰۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ZnO200.۱۵۰ mg/kg: گروه رت‌های دریافت کننده اکسید روی با دوز ۲۰۰ mg/kg. <sup>a</sup> مقایسه با گروه کنترل (Cont)، <sup>b</sup> مقایسه با گروه دریافت کننده ZnO50، <sup>c</sup> مقایسه با گروه دریافت کننده ZnO100. \* (P < ۰/۰۵) (P < ۰/۰۱) # (P < ۰/۰۰۱)

## بحث

مولکول‌ها از جمله DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود [۲۶]. در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم SOD در گروه‌های مصرف کننده ZnO با دوزهای متفاوت افزایش قابل توجه آماری داشت. فعالیت آنزیم GPx هم در گروه‌های مصرف کننده اکسید روی بطور متفاوتی تغییرات غیرمعنادار افزایشی یا کاهش‌ی نسبت به گروه کنترل نشان داد. تغییرات پارامتر اکسیداسیون لیپیدی (MDA) در گروه‌های مصرف کننده دوزهای متفاوت اکسید روی بطور چشمگیری معنادار شدند. میزان کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) و میزان افزایش وضعیت اکسیدانی تام (TOS) در گروه‌های مختلف مصرف کننده اکسید روی بطور چشمگیری معنادار می‌باشد. در تحقیق حاضر پتانسیل اکسید روی در ایجاد استرس اکسیداتیو با تعیین پراکسیداسیون لیپیدی، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، وضعیت اکسیدانی کل، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز در رت‌های بالغ جنس نر نژاد ویستار مطالعه گردید. افزایش قابل توجه در میزان مالون دی آلدئید در سرم همه گروه‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید روی نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که تمام غلظت‌های استفاده شده اکسید روی در این مطالعه باعث افزایش آنزیم‌های داخل سلولی کبدی که در متابولیسم اسید آمینه‌ها دخیل هستند، گردید که این می‌تواند خود بیانگر تأثیر توکسیکی اکسید روی بر کبد باشد. در سال ۲۰۱۱ Ashutosh Kumar و همکارانش با بررسی اثرات ZnO و TiO2 در باکتری اشریشیا کولی به این نتیجه رسیدند که این ذرات توسط باکتری به

بیش از ۵۰ آنزیم شناسایی شده‌اند که برای انجام فعالیت و عملکرد طبیعی خود نیاز به عنصر روی دارند. عنصر روی یک ماده معدنی ضروری و مورد نیاز بدن و دومین عنصر کمیاب بدن بعد از آهن است. از آنجا که بدن نمی‌تواند مقادیر زیادی از این ماده را ذخیره کند، لذا مصرف روزانه آن در جیره غذایی ضروری می‌باشد و می‌بایست بطور روزانه در جیره غذایی انسان و نیز حیوانات استفاده گردد [۲۴]. عنصر روی بخشی از سیستم آنتی اکسیدانی بدن است لذا کمبود آن سبب اختلال در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن و افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد [۲۵]. استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (شامل آنیون سوپراکسید، رادیکال آزاد هیدروکسیل، هیدروژن پراکسید و ...) از یک طرف و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از طرفی دیگر ایجاد می‌گردد. در سیستم‌های بیولوژیکی هوازی، برای مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های دفاعی طراحی شده است تا اثرات زیان بار این عوامل مهاجم را خنثی نموده یا به حداقل برسانند. برخی از اجزای سیستم دفاعی شامل آنزیم‌ها (مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و ...) هستند که در داخل بدن سنتز می‌شوند، ولی برخی دیگر از اجزای این سیستم مانند ویتامین E، بتا کاروتن و ... باید از طریق رژیم غذایی تأمین شوند. استرس اکسیداتیو باعث ایجاد اثرات مخرب روی ماکرو

از سایز نانومتر می‌باشد، هرچند که این نتیجه نیاز به مطالعه و تحقیق بیشتر دارد.

### نتیجه گیری

اگر چه استفاده از ذرات اکسید روی در سایزهای مختلف متعدد است ولی اطلاعات مربوط به اثرات نامطلوب آن در انسان کافی نیست و نیاز به مطالعه بیشتر دارد. نتایج این مطالعه نشان داد، غلظت‌های اکسید روی استفاده شده در این مطالعه منجر به افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش غیرقابل توجه فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز نسبت به گروه کنترل می‌شود که می‌تواند نشانگر القای استرس اکسیداتیو باشند. همچنین مصرف اکسید روی باعث افزایش آنزیم‌های کبدی AST و ALT می‌شود که خود نشانه آسیب کبدی است. هر چند تحقیقات بیشتر مورد نیاز است تا تأثیر این نانوذرات بر سلامتی انسان بطور کامل مشخص گردد و استفاده از آن‌ها در موارد صنعتی مثل لوازم آرایشی و کرم‌های ضدآفتاب قابل توجه گردد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر حمایت مالی این مطالعه در قالب طرح شماره ۹۲۰۶۲۶۱۸۴۵ تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان در رشته بیوشیمی بالینی است.

### تضاد منافع

این مطالعه برای نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی نداشته است.

درون سلول وارد می‌شوند و استرس اکسیداتیو قابل توجهی را القا می‌کنند که منجر به آسیب DNA و مرگ سلول می‌شوند [۲۷]. در یک مطالعه تأثیر سایز را در ایجاد توکسیسیته بدین صورت گزارش نمودند که سایز کوچک و بزرگ اکسید روی همانند ترکیبات نرمال این ماده از نظر سیستم طبقه بندی جهانی برای مواد شیمیایی (GHS) غیرتوکسیک هستند اما بر طبق بررسی‌های پاتولوژیکی و سنجش اندیکاتورهای بیولوژیکی بافت‌های هدف اکسید روی (سایز کوچک و بزرگ) عبارتند از کبد، قلب، طحال پانکراس و استخوان‌ها. در این مطالعه نتیجه گرفته شده که اثرات توکسیکی سایز کوچک و بزرگ اکسید روی تفاوت کمی دارند با این حال اثرات پاتولوژیکی سایز بزرگ اکسید روی وابسته به دوز هست در حالیکه در سایز کوچک این اثرات وابسته به دوز نیست. همچنین نتیجه گرفتند که آسیب کبدی حاصل از سایز بزرگ اکسید روی بیشتر از سایز کوچک آن می‌باشد [۲۸]. از طرف دیگر Chen و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که نانوذرات اثرات توکسیکی خطرناکی بر کلیه، کبد و طحال موش‌های مورد آزمایش ایجاد نمودند در حالیکه ذرات در سایز میکرو اثرات خفیف‌تر و ضعیف‌تری داشتند [۱۵]. این نتایج با گزارش Sharma و همکاران در ۲۰۱۱ قابل مقایسه است [۲۴] که تخریب DNA در سلول‌های اپیدرمال انسانی که احتمالاً در اثر القای استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد شده بود را نشان می‌دهد. سایز کوچک نانوذرات این امکان را ایجاد می‌نماید که این ذرات با DNA بطور مستقیم واکنش دهند [۲۹]. مقایسه نتایج این مطالعه و گزارش قبلی ما که در ارتباط با اثرات توکسیکی نانوذرات اکسید روی بود [۳۰]، نشان داد که اثرات توکسیسیته اکسید روی در غلظت‌های استفاده شده در سایز میکرو بیشتر

### References

- Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr.* 2000;130(5S Suppl):1344S-9S. PMID: 10801941
- Martinka M, Vaculík M, Lux A. Plant Cell Responses to Cadmium and Zinc. *Appl Plant Cell Biol.* 2014;22:209-46. DOI: 10.1007/978-3-642-41787-0\_7
- Jurowski K, Szewczyk B, Nowak G, Piekoszewski W. Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. *J Biol Inorg Chem.* 2014;19(7):1069-79. DOI: 10.1007/s00775-014-1139-0 PMID: 24748223
- Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol.* 2012;86(4):521-34. DOI: 10.1007/s00204-011-0775-1 PMID: 22071549
- Vasak M, Hasler DW. Metallothioneins: new functional and structural insights. *Curr Opin Chem Biol.* 2000;4(2):177-83. PMID: 10742189
- Tubek S. Role of zinc in regulation of arterial blood pressure and in the etiopathogenesis of arterial hypertension. *Biol Trace Elem Res.* 2007;117(1-3):39-51. DOI: 10.1007/BF02698082 PMID: 17873391
- Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother.* 2003;57(9):399-411. PMID: 14652165
- Calesnick B, Dinan AM. Zinc deficiency and zinc toxicity. *Am Fam Physician.* 1988;37(4):267-70. PMID: 3358349
- Hotz C, DeHaene J, Woodhouse LR, Villalpando S, Rivera JA, King JC. Zinc absorption from zinc oxide, zinc sulfate, zinc oxide + EDTA, or sodium-zinc EDTA does not differ when added as fortificants to maize tortillas. *J Nutr.* 2005;135(5):1102-5. PMID: 15867288
- Chari M, Matoussi A. Electrical conduction and dielectric studies of ZnO pellets. *Physica B: Condensed Matter.* 2012;407(17):3441-7. DOI: 10.1016/j.physb.2012.04.056
- Agren MS. Percutaneous absorption of zinc from zinc oxide applied topically to intact skin in man. *Dermatologica.* 1990;180(1):36-9. PMID: 2307275
- Sharifi-Yazdi M. [Determination of Zinc serum in the workers of Sarcheshme Copper Complex]. *J Kerman Univ Med Sci.* 1994;1(3):137-42.
- Przybyszewska M, Zaborski M. The effect of zinc oxide nanoparticle morphology on activity in crosslinking of carboxylated nitrile elastomer. *Express Polym Lett.* 2009;3(9):542-52. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2009.68
- De Berardis B, Civitelli G, Condello M, Lista P, Pozzi R, Arancia G, et al. Exposure to ZnO nanoparticles induces oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010;246(3):116-27. DOI: 10.1016/j.taap.2010.04.012 PMID: 20434478

15. Hackenberg S, Scherzed A, Technau A, Kessler M, Froelich K, Ginzkey C, et al. Cytotoxic, genotoxic and pro-inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells in vitro. *Toxicol In Vitro*. 2011;25(3):657-63. DOI: [10.1016/j.tiv.2011.01.003](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.01.003) PMID: [21232592](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21232592/)
16. Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, et al. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett*. 2006;163(2):109-20. DOI: [10.1016/j.toxlet.2005.10.003](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.10.003) PMID: [16289865](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16289865/)
17. Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicol Lett*. 2009;185(3):211-8. PMID: [19382294](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19382294/)
18. Ahamed M, Akhtar MJ, Raja M, Ahmad I, Siddiqui MK, AlSalhi MS, et al. ZnO nanorod-induced apoptosis in human alveolar adenocarcinoma cells via p53, survivin and bax/bcl-2 pathways: role of oxidative stress. *Nanomedicine*. 2011;7(6):904-13. DOI: [10.1016/j.nano.2011.04.011](https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.04.011) PMID: [21664489](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21664489/)
19. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158-69. PMID: [6066618](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6066618/)
20. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*. 1974;47(3):469-74. PMID: [4215654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4215654/)
21. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1999;299:15-27. PMID: [9916193](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9916193/)
22. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med*. 1976;15(2):212-6. PMID: [962904](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/962904/)
23. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1103-11. DOI: [10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008) PMID: [16214125](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16214125/)
24. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev*. 1993;73(1):79-118. PMID: [8419966](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8419966/)
25. Ho E, Ames BN. Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(26):16770-5. DOI: [10.1073/pnas.222679399](https://doi.org/10.1073/pnas.222679399) PMID: [12481036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12481036/)
26. Chandra K, Salman AS, Mohd A, Sweetey R, Ali KN. Protection against FCA induced oxidative stress induced DNA damage as a model of arthritis and In vitro anti-arthritis potential of costus speciosus rhizome extract. *Int J Pharmaceut Res*. 2015;7(2):383-9.
27. Kumar A, Pandey AK, Singh SS, Shanker R, Dhawan A. Engineered ZnO and TiO(2) nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of Escherichia coli. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(10):1872-81. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.025](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.025) PMID: [21920432](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21920432/)
28. Wang B, Feng W, Wang M, Wang T, Gu Y, Zhu M, et al. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nanopart Res*. 2007;10(2):263-76. DOI: [10.1007/s11051-007-9245-3](https://doi.org/10.1007/s11051-007-9245-3)
29. Sharma V, Singh SK, Anderson D, Tobin DJ, Dhawan A. Zinc oxide nanoparticle induced genotoxicity in primary human epidermal keratinocytes. *J Nanosci Nanotechnol*. 2011;11(5):3782-8. PMID: [21780369](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21780369/)
30. Abbasalipourkabir R, Moradi H, Zarei S, Asadi S, Salehzadeh A, Ghafourikhosroshahi A, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles on adult male Wistar rats. *Food Chem Toxicol*. 2015;84:154-60. DOI: [10.1016/j.fct.2015.08.019](https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.08.019) PMID: [26316185](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26316185/)

## Investigating the Effect of Zinc Oxide on Enzymatic Antioxidant Activity in Male Rats

Sadegh Zarei <sup>1</sup>, Hemen Moradi <sup>2,\*</sup>, Soheila Asadi <sup>3</sup>, Roghayeh Abbasalipourkair <sup>4</sup>, Nasrin Ziamajidi <sup>4</sup>

<sup>1</sup> PhD Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>2</sup> PhD Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> PhD Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>4</sup> Assistant Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

\* **Corresponding author:** Hemen Moradi, PhD Student, Department of Biochemistry, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: [hemen.moradi@yahoo.com](mailto:hemen.moradi@yahoo.com)

DOI: [10.21859/psj-15035](https://doi.org/10.21859/psj-15035)

Received: 31 Jul 2016

Accepted: 13 Jun 2017

**Keywords:**

Stress Oxidative Indexes

Zinc Oxide

© 2017 Hamadan University of Medical Sciences

**Abstract**

**Introduction:** Zinc is part of the antioxidant system; so, zinc deficiency impairs the body's antioxidant defense system and leads to increased oxidative stress. The objective of this study was to investigate the effect of zinc oxide on antioxidant level in rats.

**Methods:** Twenty-five male Wistar rats of 5-8 weeks old were divided into five groups of five animals each. Next, during the following 10 days, four groups (1 to 4) of the rats were exposed to different doses of 50, 100, 150 and 200 mg/kg of zinc oxide (ZnO) through intraperitoneal injection; group 5 was considered as the control group. After this stage, 2 mL blood was collected from the jugular vein of the rats and oxidant and antioxidant parameters containing glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (TAC) and lipid peroxidation (LPO) were assayed.

**Results:** The activity of SOD increased significantly in the groups treated with different doses of ZnO ( $P < 0.05$ ). The groups treated with ZnO showed insignificant variations in GPX activity compared to the control group. Significant increased lipid peroxidation index (LPO) was shown in groups treated with different doses of ZnO. Reduction in the total antioxidant capacity (TAC) and significantly increased total antioxidant status (TOS) were obtained in all groups receiving ZnO.

**Conclusions:** The results of this study showed that the used concentrations of ZnO significantly increased SOD and TOS and insignificantly reduced GPX compared to the control group, which can be a marker of oxidative stress induction.

**How to Cite this Article:**

Zarei S, Moradi H, Asadi S, Abbasalipourkair R, Ziamajidi N. Investigating the Effect of Zinc Oxide on Enzymatic Antioxidant Activity in Male Rats. *Pajouhan Scie J.* 2017; 15(3):29-35. DOI: [10.21859/psj-15035](https://doi.org/10.21859/psj-15035)