

بررسی میزان تجمع و اثرات بافتی ناشی از تزریق نانو ذرات آهن مغناطیسی تولید شده به روش بیولوژیک در بافت کلیه موشهای صحرایی در پاسخ به میدان الکترومغناطیس با روشهای هیستوپاتولوژیک و ICP

بهروز یحیایی^{۱*}، محمد صالح صباغ^۲ 

۱- استادیار، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

۲- استادیار، گروه پزشکی، مرکز تحقیقات نانوذرات بیولوژیک در پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

۳- فارغ التحصیل پزشکی، گروه پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

یافته / دوره ۲۳ / شماره ۱ / ویژه نامه ۱۴۰۰

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۳/۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۸/۲۵

مقدمه: در مطالعه حاضر، خواص سمیت نانوذرات مغناطیسی در بافت کلیه و رفتار آنها در بدن موشهای صحرایی در حضور و عدم حضور میدان الکترومغناطیس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نانو ذرات آهن مغناطیس با استفاده از قارچ *Fusarium oxysporum* و کلرید آهن، تولید شد. با استفاده از اسپکتروفوتومتری، TEM و پراش اشعه ایکس تایید شد. سپس سمیت سلولی نانوذرات به وسیله روش MTT در کشت سلولی سلولی فیبروبلاست غیر سرطانی مورد بررسی قرار گرفت. نهایتاً میزان IC50 نانوذرات مذکور در کشت سلول تعیین و نانوذرات با دوز غیر سمی به درون بدن موش صحرایی تزریق شدند. موش های صحرایی به ۴ گروه شاهد، گروه دریافت کننده نانو ذرات بدون حضور میدان الکترومغناطیس، گروه دریافت کننده نانو ذرات با حضور میدان الکترومغناطیس، گروه بدون دریافت نانوذرات و با حضور میدان الکترومغناطیس تقسیم شدند.

یافته‌ها: نانوذرات آهن مغناطیسی توسط قارچ *Fusarium oxysporum* قابل تولید بود. نانوذرات دارای سایز حدود ۳۵ نانومتر بودند و در کشت سلول سمیت وابسته به دوز اعمال نمودند نانوذرات بیولوژیک فاقد سمیت شدیدی در بافت کلیه بوده و تنها در حضور میدان الکترومغناطیس اندکی تغییرات بافت همبندی و خونی و نیز تغییرات در گلومرول های کلیه مشاهده شد هرچند که در گروه فاقد میدان الکترومغناطیس نیز تغییرات خفیفی در گلومرول ها مشاهده شد که میتوان به طبیعت خود نانوذرات نسبت داد.

بحث و نتیجه گیری: نانوذرات آهن بیولوژیک فاقد سمیت در بدن بوده و در تحقیقات درون تنی با هدف دارورسانی برای درمان سرطان ها و سایر بیماریها میتوان از آنها بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی: میدان الکترومغناطیس، قارچ *Fusarium oxysporum*، موش صحرایی، بافت کلیه، نانوذرات آهن مغناطیسی.

*آدرس مکاتبه: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه پزشکی.

پست الکترونیک: behroozyahyaei@yahoo.com

مقدمه

در دهه حاضر، نانو تکنولوژی به زمینه‌ی مهمی جهت انجام پژوهش‌های تکوینی و درمانی تبدیل شده است، از اینرو دانشمندان زیادی را بر آن داشته تا از ویژگی‌های منحصر به فرد نانو مواد برای پژوهش‌های مختلف بهره گیرند (۱). نانو تکنولوژی در حوزه‌های متنوعی از قبیل سلامت، بهداشت، غذا و تغذیه، سلامت محیطی و کشاورزی استفاده می‌شود. فناوری نانو واژه‌ای است کلی که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود. نانو تکنولوژی فناوری ریزسازی مواد می‌باشد. این مواد در اندازه‌های نانو دارای خواص بسیار متفاوت از خواص همان مواد به صورت معمولی یا توده هستند، بنابراین امید زیادی برای حل مشکلات اساسی تشخیص و درمان بیماری‌ها به وجود آمده است. منظور از مقیاس نانو، ابعادی در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانو متر می‌باشد (اندازه‌ی یک نانو، یک میلیاردم یک‌متر می‌باشد) (۲). نانوذرات آهن، یکی از مواد کاربردی در نانو تکنولوژی است. مطالعات حاکی از اثرات ضعیف سمی این نانوذرات در بدن می‌باشند و نشان داده شده است که اصلی‌ترین ارگان‌هایی که این نانوذرات در آن‌ها انباشته می‌شوند طحال، کبد و کلیه‌ها می‌باشد (۳). گسترش فناوری نانو در سطح جهانی و استفاده روز افزون از تولیدات حاصل از این فناوری، با توجه به کاربردهای فراوان نانو مواد در کاهش عفونت میکروبی پوست و زخم‌های سوختگی، همچنین برای جلوگیری از تجمع باکتری بر سطح ابزار مختلف مثل پروتزهای مورد استفاده قرار گرفتند (۴).

تحلیل گران بر این باورند که فناوری نانو، فناوری زیستی و فناوری اطلاعات سه قلمرو علمی هستند که انقلاب سوم صنعتی را شکل می‌دهند. نانو تکنولوژی می‌تواند به عنوان ادامه دانش کنونی به ابعاد نانو یا طرح ریزی دانش کنونی بر پایه‌هایی جدیدتر و امروزی تر باشد (۵). همه خواص و ویژگی‌هایی که در نانوذرات ایجاد می‌شود را می‌توان با دو عامل افزایش سطح نسبت به حجم و گسسته شدن ترازهای انرژی

توجیه کرد. در ادامه به برخی از آنها به صورت خلاصه اشاره می‌شود (۶).

اغلب نانوذرات که به طور تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند، به شکل پودر خشک و یا به صورت بخش مایع می‌باشند. البته نانوذرات ترکیب شده (آمیخته شده در یک محلول آلی یا آبی که به شکل سوسپانسیون یا خمیری شکل است نیز مورد توجه می‌باشد. این ذرات در شکل‌ها و مورفولوژی‌های گوناگونی یافت می‌شوند، ساختارهایی از کروی گرفته تا فلسی، ورقه‌ای، شاخه‌ای، لوله‌ای و میله‌ای (۷).

روش‌های مختلفی مانند کاهش حلال، واکنش‌های شیمیایی و فتوشیمیایی در میسل معکوس، تجزیه‌ی حرارتی با کمک گرفتن از پرتوها، روش‌های الکتروشیمیایی، سونوشیمیایی، پردازش با امواج میکرو و به تازگی مسیر تولید زیستی از روش‌هایی هستند که برای تولید نانو مواد مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما متأسفانه در اکثر روش‌هایی که منجر به تولید نانو ذرات می‌شود استفاده از مواد خطرناک یک اجبار است. از معایب دیگر این روش‌ها می‌توان به تولید کم مواد، هدر دادن انرژی زیاد و تخلیص مشکل و بی‌فایده اشاره کرد (۸). تولید زیستی و غیر سمی نانوذرات فلزی توسط میکروارگانیسم‌های زنده مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و گیاهان باعث استفاده وسیعی از نانوذرات در صنعت شده است زیرا سمیت کمتری ایجاد می‌کنند، انرژی کمتری برای تولید آن مصرف می‌شود و بنابراین هزینه تولید آن نیز کاهش می‌یابد (۹). برخی از نانوذرات مانند نقره و طلا دارای خواص ضد میکروب و یا آنتی باکتریال هستند بدین معنی که میکروب‌ها نمی‌توانند روی آن‌ها رشد کنند. برخی دیگر از نانوذرات مانند اکسید روی و یا اکسید تیتانیوم خواص فوتوکاتالیسی دارند (۱۰).

نانوذرات آهن مغناطیسی دارای کاربردهای متعددی در پزشکی و محیط زیست می‌باشند. یکی از کاربردهای آن‌ها دارورسانی هدفمند می‌باشد. در بسیاری از موارد به دلیل سمیت و اثرات جانبی نامطلوب داروها دوز مصرف داروهای

در کبد، کلیه و طحال موش ها پس از قرار گیری از طریق دستگاه تناسلی پرداخته و نشان دادند که نانوذرات وارد شده از طریق واژینال سبب ترشح IgA می شوند و میزان سلول های BM8 را در بافت ژنیتال کاهش می دهند. علاوه بر این نانوذرات مذکور بر روی لنفوسیت های طحال و هیپاتوسیت ها نیز اثر منفی داشته اند (۱۶).

بر اساس مقدمات مذکور بیان می شود که در مطالعه حاضر هدف تعیین و بررسی تجمع به روش ICP و اثرات بافتی به روش هیستوپاتولوژیک ناشی از تزریق نانوذرات آهن مغناطیسی تولید شده به روش بیولوژیک در پاسخ به وجود یا عدم وجود میدان الکترومغناطیسی در بافت کلیه، خواهد بود.

مواد و روش ها

تهیه محیط کشت سابوراد دکستروز برات

به این منظور ۳۰ گرم از پودر خشک سابوراد دکستروز برات در ۱۰۰۰ ml آب مقطر حل و جوشانیده شد تا کاملاً یکدست شد. سپس در اتوکلاو در شرایط $121/5^{\circ}\text{C}$ و با فشار ۱،۰۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. پس از خنک شدن، محیط کشت در فالكون های استریل تقسیم شد و پس از آن فالكون ها در یخچال در دمای 4°C نگهداری شدند (۱۷).

کشت قارچ

قارچ مورد استفاده در این آزمایش از مرکز پژوهشی فناوری و فرآورده های میکروبی دانشگاه تهران خریداری شد. به کمک لوپ استریل مقداری از میسیلیوم های قارچ رشد داده شده در پلیت در کنار شعله برداشته و در محیط سابوراد دکستروز برات تهیه شده تلقیح شد. سپس فالكون ها در گرمخانه با دمای 30°C به مدت یک هفته قرار داده شدند. تهیه کشت قارچ به منظور تولید نانو ذرات انجام گرفت (۱۷).

تولید نانوذرات آهن مغناطیسی

مایع رویی کشت در معرض میزان هم حجم از غلظت ۰/۱ مولار از نمک $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ قرار گرفت و نانوذرات با انکوبه شدن محیط کشت در شیکر انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه سانتیگراد تولید شد (۱۸، ۱۹).

شیمی درمانی به صورت محدود می باشد. از طرفی باید داروها به میزان مناسبی به سمت بافت های سرطانی هدایت شوند (۱۱).

Bruners و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی توانایی از بین بردن تومورهای بدخیم کلیه با استفاده از نانوذرات آهن مغناطیسی و ایجاد حرارت تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی در مدل خرگوش پرداختند و با استفاده از هدایت CT تومورهای بدخیم کلیه را به دلیل کاهش پرفیوژن و ایجاد نکروز در مکان حضور نانوذرات درمان نمودند (۱۲).

Wang و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بررسی توانایی نانوذرات آهن مغناطیسی به عنوان سیستم مورد استفاده در انتقال ژن در سلول های پورکین کلیه پرداختند و نشان دادند که نانوذرات مذکور به خوبی وارد سلول های کلیه شده و DNA متصل یافته را به هسته سلول منتقل نموده است (۱۳).

Prospero و همکاران در سال ۲۰۲۰ به بررسی عملکرد داروی دوکسوروبیسین در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی و در بافت کلیه آسیب دیده و نیز سالم موش صحرایی پرداختند. آن ها نشان دادند که نانوذرات آهن مغناطیسی سبب کاهش اثرات سمی دوکسوروبیسین در بافت کلیه آسیب دیده شده است که احتمالاً به دلیل پیوستن به دوکسوروبیسین و کاهش اثرات سمی آن در کلیه بوده است (۱۴).

Fernández و همکاران در سال ۲۰۰۷ به بررسی نانوذرات آهن مغناطیسی به عنوان ابزاری در انتقال داروهای شیمی درمانی در حضور میدان الکترومغناطیسی پرداخته و نشان دادند که پس از اتصال نانوذرات آهن مغناطیسی به داروی دوکسوروبیسین و تزریق آن در محل حضور بافت سرطانی و یا ورود آن ها از طریق لاپراسکوپیی در محل، می توان با استفاده از مگنت تجمع نانوذرات را در بافت از جمله کلیه افزایش داد که نتیجتاً درمان موثر را در پی دارد (۱۵).

Awaad و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی تغییرات ایمنولوژیک و هیستولوژیکی تولید شده توسط نانوذرات آهن

تایید تولید نانوذرات

اسپکتروفوتومتر نور مرئی

در مرحله بعدی جذب نوری به وسیله اسپکتروفوتومتر از ۳۰۰ nm تا ۷۰۰ بررسی شد. بالاترین میزان جذب جهت تولید نانوذرات آهن در ۲۶۵-۲۱۶ nm مورد انتظار بود (برای هر نوع فلز، جذب نوری متفاوت است). ایجاد تغییر رنگ نشانگر تشکیل نانوذرات آهن در محلول بود. این تغییر رنگ به دلیل تحریک SRP در سطح نانوذرات می باشد. باقی ماندن میزان جذب نور در طول موج مذکور با گذر زمان، نشان دهنده پراکندگی نانوذرات در محیط و پایداری آن ها و عدم ایجاد تجمع در محلول است (۱۹).

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

بمنظور تایید تولید نانوذرات آهن تولید شده و اندازه گیری سایز ذرات آن، نمونه های به دست آمده توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب طبق دستورالعمل تکنسین مربوطه، نمونه ها بر روی گریدهای مسی مخصوص میکروسکوپ فیکس شده و پوشش داده شدند و سپس از آن ها توسط میکروسکوپ در ولتاژ ۱۲۰ کیلو وات عکس برداری شد (۱۸).

پراش اشعه ایکس

جهت تشبیت تولید نانوذرات فلزی، ترکیب شیمیایی نانوذرات تولید شده به وسیله دستگاه XRD چک شده، برای این منظور نمونه ها در فاز مایع بودند به همین دلیل نمونه ابتدا توسط دستگاه freeze-dryer به صورت پودر خشک (freeze-dried) در آمد و سپس جهت آنالیز با XRD مورد استفاده قرار گرفت. آنالیزها در 40Kv/20Ma انجام شد. در این حالت حضور نانوذرات آهن به صورت عنصری تأیید شد (۱۸).

شستشوی نانوذرات آهن

ابتدا محیط کشت از نانوذرات به دست آمده پاکسازی شد، بدین ترتیب که به مدت ۶ دقیقه محلول در ۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد و سپس با فسفات بافر سالین (PBS) استریل چندین مرتبه شستشو داده شد (۲۰).

انجام تست MTT

رده سلولی مورد استفاده سلول های رده سلولی فیروبلست غیر سرطانی می باشد. ابتدا سلول ها در غلظت خاص (۴×۱۰۴) به همراه ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت DMEM و ۵٪ از سرم جنین گاو وارد پلیت های ۹۶ خانه می شوند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در انکوباتور کشت سلولی و رسیدن به میزان ۸۰٪ از تجمع در معرض غلظت های مختلف از نانوذرات آهن تولیدی، که به ترتیب به صورت نصف کاهش می یابند از محلول نانوذرات آهن قرار می گیرند. کنترل مثبت چاهک های فاقد نانوذرات آهن خواهند بود. پلیت ها در انکوباتور CO₂ ۵٪ که وابسته به درصد بیکربنات سدیم درون محیط کشت است مدت ۲۴ ساعت قرار داده شده و سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول ۵mg/ml از رنگ MTT به آن ها اضافه شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت نگهداری می شوند. بعد از جداسازی محلول، رنگ به وسیله سمپلر، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از DMSO به چاهک ها اضافه شده و جذب نوری آن ها در ۵۵۰nm به وسیله دستگاه ELISA reader بررسی می شود. تا بدین ترتیب حداقل غلظت از نانوذرات آهن که دارای سمیت سلولی باشد، مشخص شود.

تزریق نانوذرات در موش صحرایی

۲۴ سر موش صحرایی با میانگین سن ۸-۱۲ هفته و میانگین وزن مشابه، خریداری گردید و به مدت یک هفته شرایط قرنطینه و تطابق اعمال گردید. سپس موش های صحرایی وزن و به طور تصادفی گروه بندی شدند. موش ها تا زمان تزریق به صورت هفتگی وزن کشی می شدند. گروه بندی حیوانات به این صورت است:

موش های صحرایی ماده سالم دریافت کننده نانو ذرات با دوز غیر سمی بدون حضور میدان الکترومغناطیس (N=6)
موش های صحرایی ماده سالم بدون دریافت نانو ذرات و بدون حضور میدان الکترومغناطیس (گروه کنترل) (N=6)
موش های صحرایی ماده سالم دریافت کننده نانو ذرات با دوز غیر سمی با حضور میدان الکترومغناطیس (N=6)

انجام شد و پس از شفاف سازی با گزیلول، نمونه های تهیه شده با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار داده و فتومیکروگرافهای لازم تهیه و بررسی گردید.

آنالیز ICP-MS

برای آنالیز ICP-MS ابتدا نمونه های بافتی به دست آمده طی ۱۰ دقیقه اول پس از جراحی در درون ویال های حاوی اتانول ۱۰۰ درجه قرار گرفتند و به آزمایشگاه ارسال شدند. سپس بافت مورد بررسی در درون پتری دیش های استریل به ابعاد کوچک قطعه قطعه شده و درون ویال های جدید قرار داده شدند. ویال ها درون آن با درجه حرارت °C ۷۰ به مدت ۳ روز قرار گرفتند و پس از ثابت ماندن وزن نمونه که نشان دهنده خشک شدن آن است، با افزودن اسید نیتریک به میزان ۲ میلی لیتر و ۱ میلی لیتر پراکسید هیدروژن در ویال ها نمونه ها درون میکروویو قرار داده شدند و هضم گردیدند. سپس به وسیله ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق شدند و تحت بررسی توسط دستگاه ICP-MS قرار گرفتند. میزان نانوذرات آهن در درون بافت بررسی شد و محلول نانوذرات آهن تولیدی نیز به عنوان شاهد بررسی شد. از غلظت های شناخته شده استاندارد آهن به عنوان شاهد جهت تهیه گراف استاندارد استفاده شد.

یافته ها

تولید نانوذرات آهن مغناطیسی

پس از پایان زمان انکوباسیون نمونه چارج کشت داده شده، در محیط میسلیمومیایی تولید شد و به صورت توده ای مشاهده گردید.

تایید تولید نانوذرات

اسپکتروفوتومتر نور مرئی

در مرحله بعدی جذب نوری به وسیله اسپکتروفوتومتر از nm ۳۰۰ تا ۷۰۰ بررسی شد و بالاترین میزان جذب در حدود nm ۲۷۵ بود که باقی ماندن میزان جذب نور در طول موج مذکور با گذر زمان، نشان دهنده پراکندگی نانوذرات در محیط و پایداری آن ها و عدم ایجاد تجمع در محلول بود (شکل ۱). علاوه بر این رنگ محلول سوپرناتانت قارچ از زرد به

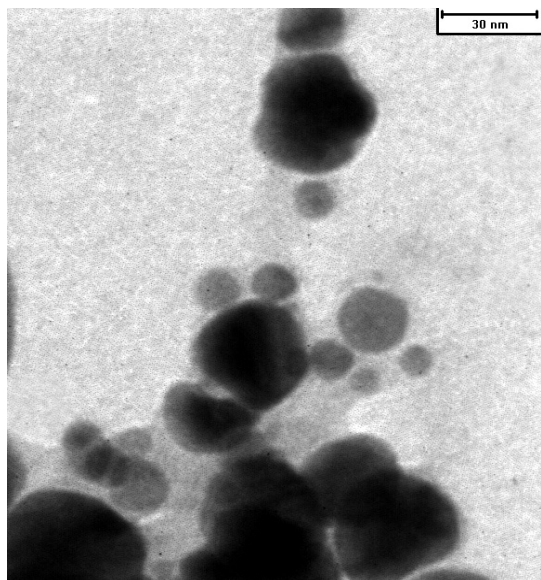
موش های صحرایی ماده سالم بدون دریافت نانو ذرات و با حضور میدان الکترومغناطیس (گروه کنترل) (N=6) بعد از گروه بندی موش های صحرایی و اطمینان از استریلیزاسیون محلول نانو ذرات به روش تیندالیزاسیون، بر اساس مداخله ها تزریق نانوذرات آهن به صورت درون صفاقی انجام شد. بر اساس میزان و چاهک IC50 نانوذرات آهن مغناطیسی که در کدامین چاهک باشد دوز تزریقی انتخاب می شود. در موش صحرایی که حدود ۲۵۰ گرم وزن دارد و حدود ۱۰ درصد وزن بدنش خون می باشد، دوز غیر سمی به میزان ۳-۴ ml قابل تزریق است.

جهت ایجاد میدان الکترومغناطیس در روی پوست موش صحرایی در مکان حضور کلیه از آهنربای نئودیمیوم با شکل مربعی و ابعاد ۵×۵ میلیمتر استفاده شد که بر روی پوست موش صحرایی و با استفاده از چسب کاغذی فیکس شد. دوره آزمایشی ۷ روز بود، بطوریکه ۷ روز پس از تزریق نانوذرات آهن مغناطیسی حیوانات قربانی و از کلیه آنها نمونه برداری بعمل آمد.

مطالعات میکروسکوپی

نمونه های جدا شده از تمامی موش های صحرایی، بلافاصله درون ظروف حاوی محلول فرمالین ۱۰٪ جهت ثبوت بافت قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت محلول فرمالین عوض شد (۲۱، ۲۲). جهت تهیه مقاطع بافت شناسی به آزمایشگاه بافت شناسی ارسال گردید. در آزمایشگاه بافت شناسی عملیات آبیگری بر روی نمونه ها صورت پذیرفت. برای این منظور، مرحله ای آبیگری با الکل های صعودی، از الکل ۷۰ تا الکل ۱۰۰ درجه انجام شد و مرحله شفاف سازی توسط محلول گزیلول انجام گرفت. جهت رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) در ابتدا پس از شستشوی نمونه ها در آب مقطر، رنگ هماتوکسیلین به مدت ۳-۵ دقیقه بر روی نمونه منتقل گردید سپس نمونه ها با آب شستشو داده شدند و جهت از بین بردن رنگ اضافه در اسید-الکل قرار گرفتند. مجدداً نمونه با آب شستشو و با رنگ ائوزین به مدت ۱-۵ دقیقه رنگ آمیزی صورت گرفت. سپس آبیگری از نمونه ها با الکل های صعودی

الکترونی عبوری (TEM)، مورد بررسی قرار گرفتند. همانگونه که تصاویر موجود در شکل ۵ نشان می دهد نانو ذرات آهن تولیدی دارای اشکال گرد و چند وجهی با میانگین ابعاد ۳۵-۲۵ nm بوده اند (شکل ۲).



شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی به دست آمده از نانو ذرات آهن مغناطیسی. نانو ذرات آهن تولیدی دارای اشکال گرد و چند وجهی با میانگین ابعاد ۳۵-۲۵ nm بوده اند.

پراش اشعه ایکس

آنالیزها در 40Kv/20Ma انجام شد. در تست فوق پیک های ناحیه حدود ۵۴، ۵۰، ۴۱، ۳۵، ۳۳، θ° و ۶۳ مربوط به نانو ذرات آهن بودند.

تست MTT

رده سلولی مورد استفاده سلول های فیبروبلاست غیر سرطانی انسانی (HDF1BOM) بود. طبق نتایج نانو ذرات آهن مغناطیسی دارای سمیت اندکی بوده به طوریکه IC50 آن در چاهک شماره ۳ است که غلظت نانو ذرات مذکور در این چاهک به میزان ۰/۰۶۲۵ تقلیل یافته اند.

تفسیر بافت شناسی فتومیکروگراف های بدست آمده از بافت کلیه

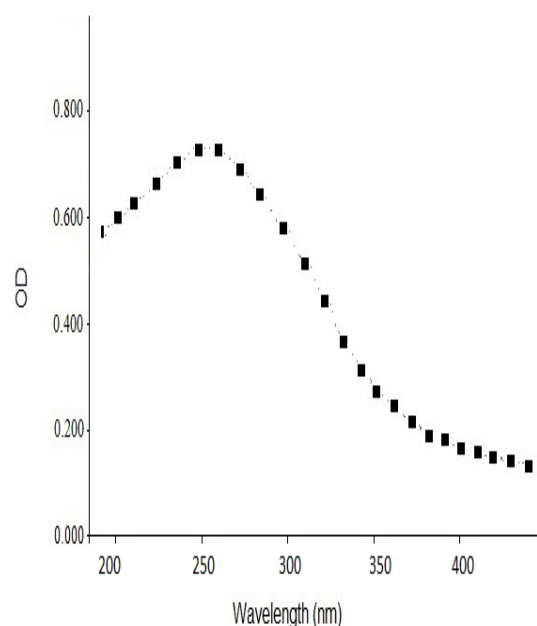
گروه کنترل

در مقاطع تهیه شده از گروه کنترل در بافت کلیه مشخصات مربوط به نواحی قشری و مرکزی طبیعی و سالم گزارش می گردد. در ناحیه قشری تمامی گلوبول های

قهوه ای تیره تغییر نمود که تاییدی در تولید نانو ذرات می باشد. شکل ۱ تغییر رنگ مذکور و شکل ۲ نمودار اسپکتروفوتومتری نانو ذرات تولیدی را نشان می دهند.



شکل ۱. تغییر رنگ محلول پس از تولید نانو ذرات آهن مغناطیسی. سمت راست شاهد و چپ نانو ذرات تولیدی است.

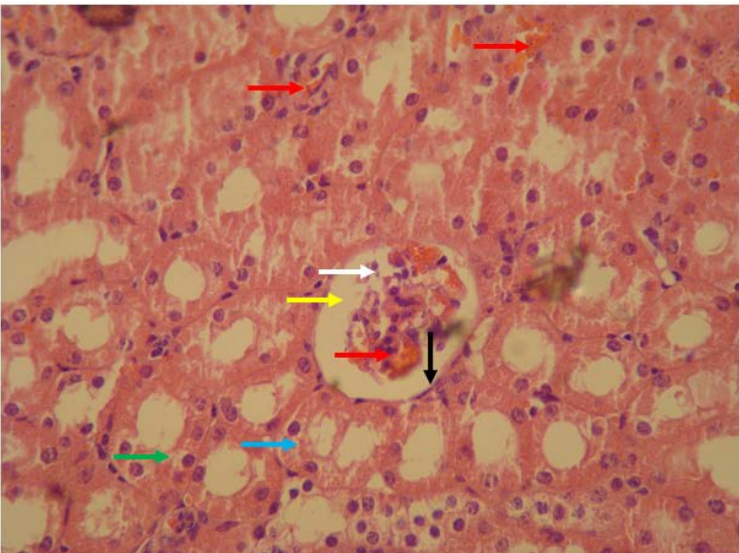


شکل ۲. نمودار اسپکتروفوتومتر به دست آمده از نانو ذرات آهن مغناطیسی. همانگونه که مشاهده می شود پیک جذبی در طول موج حدود ۲۷۵ nm قابل مشاهده است.

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

بمنظور تایید تولید نانو ذرات آهن تولید شده و اندازه گیری سایز ذرات آن، نمونه های به دست آمده توسط میکروسکوپ

کلیوی(فلش سبز و آبی) با اندازه و فضای لومن و مشخصات بافتی طبیعی همانند گروه کنترل گزارش می شوند. در برخی از نواحی بافتی و داخل گلومرول اندکی تجمع سلول های خونی مشاهده می گردد(فلش قرمز)(شکل ۵).

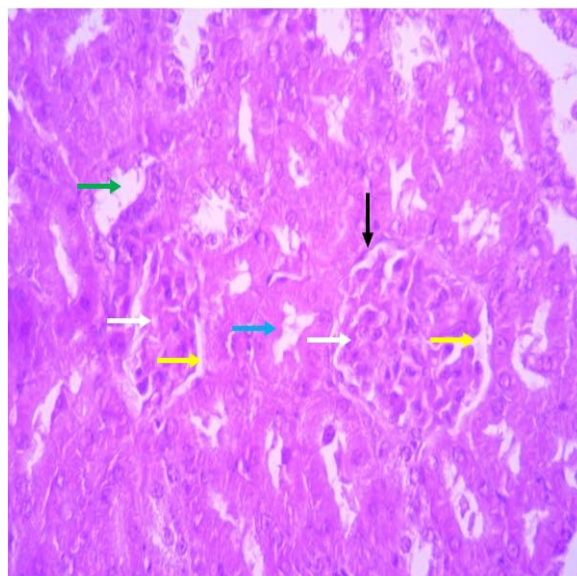


شکل ۵. فتومیکروگراف تهیه شده از کلیه موش صحرایی گروه میدان الکترومغناطیس. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۴۰۰×)

گروه دوز غیر سمی نانوذرات با حضور میدان الکترومغناطیس

در مقاطع تهیه شده از گروه دوز غیر سمی نانوذرات با حضور میدان الکترومغناطیس در بافت کلیه در برخی نواحی همانند گروه قبل میزان جمع شدگی در خود گلومرول ها(فلش سفید) و افزایش فضای ادراری(فلش زرد) مشاهده می گردد. همچنین در داخل فضای گلومرول میزانی از تجمع سلول های خونی دیده می شود(فلش قرمز). کپسول بومن(فلش سیاه) کاملا سالم بوده و سلول های سازنده آن نرمال گزارش می شوند. در لوله های کلیوی مشکل خاصی دیده نمی شود بطوریکه لوله های پیچیده پروگزیمال(فلش آبی) و لوله های پیچیده دیستال(فلش سبز) کاملا مشابه نمونه های گروه کنترل هستند(شکل ۶).

قابل مشاهده(فلش سفید)، دارای اندازه و تعداد طبیعی همراه با نظم و مشخصات سلولی سالم بوده و در اطراف آنها کپسول بومن(فلش سیاه) نیز دارای سلولهای سنگفرشی شکل و طبیعی است. همچنین در ناحیه زیر کلافه مویرگی، فضای ادراری(فلش زرد) دارای اندازه نرمال می باشد. لوله های پیچیده پروگزیمال با سلول ها و هسته های طبیعی و فضای لومن کوچک(فلش آبی) و لوله های پیچیده دیستال(فلش سبز) با سلول های بیشتر در مقاطع عرضی و لومن بازتر قابل رویت می باشند. در قسمت مرکزی نیز لوله های جمع کننده و نواحی مختلف لوله های هنله در بافت کلیوی کاملا سالم بوده و هیچگونه اثری از پرخونی، التهاب یا کست ملاحظه نمی گردد (شکل ۴).



شکل ۴. فتومیکروگراف تهیه شده از کلیه موش صحرایی گروه کنترل. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۴۰۰×)

گروه میدان الکترومغناطیس

در مقاطع تهیه شده از گروه میدان الکترومغناطیس در بافت کلیه مشخصات گلومرول ها(فلش سفید) و تعداد آنها در فضای قشری، مناسب و نرمال می باشد. در تعداد اندکی از آنها جمع شدگی مشاهده می گردد و فضای ادراری(فلش زرد) موجود نیز متعاقبا افزایش یافته است. اما کپسول بومن(فلش سیاه) با شکل و سلولهای مزانشیمی طبیعی، با فاصله و اندازه مناسب قابل مشاهده می باشد. لوله های

نتایج آنالیز ICP-MS

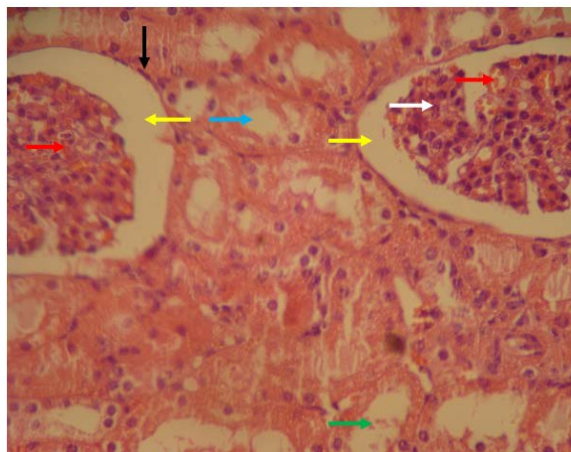
نتایج آزمون ICP-MS در جدول ۱ آمده است. همانگونه که نتایج جدول مذکور نشان می دهد، نانوذرات آهن مغناطیسی در حضور و عدم حضور میدان الکترومغناطیس توانایی ورود به درون بافت کلیه را داشته اند ولی میزان این نانوذرات در بافت کلیه و در حضور میدان الکترومغناطیس بالاتر بوده است.

جدول ۱. آزمون اندازه گیری عناصر توسط دستگاه ICP-MS

Blank (ppm)	Element	Wavelength
		Fe
		۰/۰۰
نانوذرات آهن در بافت در حضور میدان (ppm)		۰/۶۲
نانوذرات آهن در بافت در عدم حضور میدان (ppm)		۰/۳۲
نانوذرات آهن در محلول (ppm)		۱/۱۵

بحث و نتیجه گیری

Bruners و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی توانایی از بین بردن تومورهای بدخیم کلیه با استفاده از نانوذرات آهن مگنتیت غیر بیولوژیک و ایجاد حرارت تحت تاثیر میدان الکترومغناطیس در مدل خرگوش پرداختند. آن ها ابتدا تومور VX2 را در خرگوش القاء نمودند و سپس از نانوذرات مذکور تحت هدایت CT را به حیوان تزریق نموده و سپس حیوان را به مدت ۱۵ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس قرار دادند. سپس مجدداً از حیوانات CT اسکن انجام شد و نهایتاً بافت کلیه خرگوش پس از آسان کشی مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت. تغییرات پرفیوژن قبل و پس از قرار گیری در معرض میدان الکترومغناطیس مورد بررسی قرار داده شد. بررسی های CT اسکن حاکی از کاهش پرفیوژن در مکان تجمع نانوذرات در کلیه بوده است. بررسی های هیستوپاتولوژیکی نیز حاکی از حضور مناطق مختلف آسیب

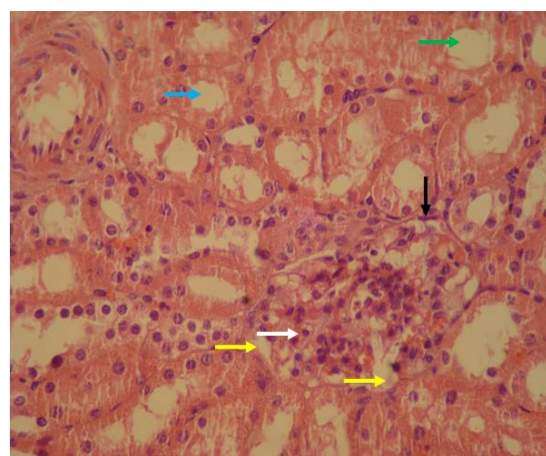


شکل ۶. فتومیکروگراف تهیه شده از کلیه موش صحرایی گروه دوز غیر سمی نانوذرات با حضور میدان الکترومغناطیس. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۴۰۰×)

گروه دوز غیر سمی نانوذرات بدون حضور میدان الکترومغناطیس

در مقاطع تهیه شده از گروه دوز غیر سمی نانوذرات بدون حضور میدان الکترومغناطیس در بافت کلیه همانطور که ملاحظه می گردد در برخی نواحی گلومرول با فشردگی همراه بوده (فلش سفید) و فضای ادراری (فلش زرد) کاهش یافته است. کپسول بومن (فلش سیاه) و سلول های سازنده آن مشخصات طبیعی دارند.

لوله های پیچیده پروگزیمال (فلش آبی) و لوله های پیچیده دیستال (فلش سبز) با مشخصات سلولی و اندازه لومن طبیعی در تمامی نواحی بافتی قابل رویت می باشند (شکل ۷).



شکل ۷. فتومیکروگراف تهیه شده از کلیه موش صحرایی گروه دوز غیر سمی نانوذرات بدون حضور میدان الکترومغناطیس. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۴۰۰×)

پوشش داده و سپس از میدان الکترومغناطیس جهت ورود آن ها به دو اندام فوق استفاده نمودند. نتایج MRI پس از تزریق داخل وریدی نانوذرات مذکور در موش نشان داد که پس از گذشت ۸۰ دقیقه از تزریق نانوذرات مذکور در کبد و ۱۱۰ دقیقه از تزریق در کلیه ها قابل ردیابی بودند. این میزان کنتراست با گذشت زمان کاهش یافت که حاکی از این بود که پوشش پلی گلیسرول سبب بهینه خروج نانوذرات آهن از کلیه ها شده اند (۴). در مطالعه حاضر با اینکه در هیچ نوع پوشش دهنده ای استفاده نشد نانوذرات آهن مغناطیسی بیولوژیک به خوبی وارد کلیه ها شده و توسط آن ها تحمل شدند. که البته در مطالعه حاضر بررسی ها ۲۴ ساعت پس از تزریق بوده است لذا جهت به دست آوردن زمان دقیق تجمع نانوذرات آهن بیولوژیک در بافت کلیه باید بررسی ها در دقایق اول انجام پذیرد که در آینده مطالعه ای مشابه مطالعه Aarsalani پیشنهاد می شود.

Naumenko در سال ۲۰۱۹ از نانوذرات آهن مغناطیسی با اندازه ۱۴۰ نانومتر و پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول استفاده نموده و تجمع آن ها را در بافت کلیه مورد بررسی قرار دادند. مطالعات MRI حاکی از تجمع سریع و موقتی نانوذرات آهن در درون کلیه بود. مطالعات حاکی از انتقال این نانوذرات از مویرگ های اطراف لوله های کلیوی به قاعده سلول های لوله ها و نهایتاً به درون لومن کلیه پس از ۶۰ دقیقه رخ داد. مطالعات میکروسکوپ الکترونی حاکی از وجود نانوذرات دست نخورده و با سایز مشابه در درون ادرار ۲ ساعت پس از تزریق بود (۲۴). بر خلاف مطالعه حاضر نانوذرات آهن بیولوژیک هیچ نوع پوششی نداشته و متوسط اندازه آن ها حدود ۵۵ نانومتر بوده است. با توجه به سایز کوچکتر این نانوذرات در مقایسه با مطالعه Naumenko می توان نتیجه گیری نمود که نانوذرات آهن بیولوژیک از سمیت اندکی برخوردارند زیرا هر چه سایز نانوذرات کوچکتر شود، سمیت آن ها افزایش خواهد یافت.

Wu و همکاران در سال ۲۰۰۷ از نانوذرات آهن مغناطیسی پوشش داده شده با دکستران استفاده نمودند که

دیده توسط حرارت در مکان هایی بوده است که نانوذرات رسوب داشته اند. نتیجتاً می توان با استفاده از هدایت CT تومورهای بدخیم کلیه را به دلیل کاهش پرفیوژن و ایجاد نکروز در مکان حضور نانوذرات درمان نمود (۱۲). در تحقیق حاضر نیز از نانوذرات آهن مغناطیسی مگنتیت ولی نوع بیولوژیک آن استفاده شد و بررسی ها نشان داد که نانوذرات آهن مغناطیسی در حضور و عدم حضور میدان الکترومغناطیس توانایی ورود به درون بافت کلیه را داشته اند ولی میزان این نانوذرات در بافت کلیه و در حضور میدان الکترومغناطیس بالاتر بوده است. به این ترتیب می توان از این نانوذرات نیز در مطالعات بیشتر جهت اهداف درمان سرطان ها بهره برد.

Tietze و همکاران در سال ۲۰۱۳ از نانوذرات آهن مغناطیسی با ابعاد کوچکتر از ۲۰ نانومتر جهت دارورسانی هدفمند به اعضاء مختلف بدن حیوان آزمایشگاهی در حضور میدان الکترومغناطیس خارجی بهره بردند و نشان دادند که داروی mitoxantrone متصل شده به نانوذرات آهن در تومورها در حضور میدان الکترومغناطیس قابل رسوب می باشد. آن ها نشان دادند که تجمع این نانوذرات در بافت توموری در حدود ۵۷/۲٪ در کبد ۱۴/۴٪ و در کلیه ها ۱۵/۲٪ میباشد. در عدم میدان الکترومغناطیس تجمع متفاوت بوده به طوریکه در بافت توموری در حدود ۰/۷٪، در کبد ۱۴/۴٪ و در کلیه ها ۷۷/۸٪ بوده است (۲۳). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که در حضور و دم حضور میدان الکترومغناطیس میزان تجمع نانوذرات آهن بیولوژیک در درون بافت کلیه متفاوت است و این میزان در حضور میدان الکترومغناطیس بیشتر و در حدود دو برابر می باشد.

Aarsalani و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که نانوذرات آهن مغناطیسی قابل استفاده در MRI برای تصویربرداری از اعضای داخلی نظیر کبد و کلیه می باشند به طوریکه دارای قدرت کنتراست بسیار بالا هستند. آن ها ابتدا نانوذرات آهن مغناطیسی غیر بیولوژیک را به وسیله گلیسرول

پرداختند و نشان دادند که مصرف طولانی مدت این نانوذرات اثرات زیان باری در کبد، طحال و کلیه ها دارد. مطالعات هیستولوژی حاکی از آسیب به اندام های فوق الذکر پس از دوره طولانی مصرف نانوذرات آهن بوده است (۲۷). با توجه به اینکه در مطالعه ما در زمان ۱ و ۷ روز پس از تزریق بررسی های هیستولوژیک انجام و نشان داده شد که نانوذرات تغییرات خفیفی در کلیه ایجاد می کنند لذا احتمالاً مصرف طولانی مدت این نانوذرات نسبت به نوع غیر بیولوژیک آن دارای سمیت کمتری باشد که نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه احساس می شود.

Iversen و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که نانوذرات آهن مغناطیسی پوشش داده شده با پلی آکرلیک اسید بر روی عملکرد کلیه اثرگذار نبوده در حالیکه سبب اثرات سمیت شدید بر سیستم قلبی عروقی می شود. مطالعات حاکی از تجمع نانوذرات مذکور ۱ ساعت پس از تزریق درون وریدی و برداشت آنها توسط سلول های سیستم رتیکولاندوتلیال و سلول های کوپفر بوده که به دریافت آن ها توسط سلول های کلیه ختم شده است. در اندام کلیه این نانوذرات به خصوص توسط سیتوپلاسم توپولهای پاروکسیسمال و سلول های مزانژیال جذب شده اند. نتیجتاً آنکه این نانوذرات بر روی اندام کلیه اثر سوء در موش سالم نداشته ولی در سیستم قلبی عروقی سبب کاهش فشار خون به صورت موقتی شده اند (۲۸). مجدداً مطالعه ما نیز حاکی از سمیت اندک این نانوذرات در کلیه می باشد ولی برای سیستم های دیگر بدن نظیر سیستم گردش خون پیشنهاد می شود مطالعات گسترده ای صورت پذیرد.

همانگونه که نتایج نشان می دهند نانوذرات آهن مغناطیسی توسط قارچ قابل تولید بوده و در محیط کشت سلول فیروپلاست غیر سرطانی سمیت وابسته به دوز را دارا می باشد. نانوذرات بیولوژیک فاقد سمیت شدیدی در بافت کلیه بوده و تنها در حضور میدان الکترومغناطیس اندکی تغییرات بافت همبندی و خونی و نیز تغییرات در گلوامول

۲۵۰ نانومتر اندازه داشتند. آن ها نانوذرات را از طریق درون رگی به موش تزریق نموده و ۱ و ۲۴ ساعت پس از تزریق بافت های موش را مورد بررسی قرار دادند. مطالعات نشان داد که نانوذرات مذکور در کبد و طحال تجمع بالایی داشتند در حالیکه در ریه ها تجمع آن ها بسیار اندک بود. تجمع این نانوذرات در بافت کلیه نیز وجود داشت که با حضور مگنت خارجی این تجمع وابسته به زمان و رو به افزایش بود. ارگان های توخالی نظیر روده کوچک کلون و کیسه صفرا دارای میزان بسیار پایینی از نانوذرات بودند (۲۵). مجدداً بر خلاف مطالعه حاضر نانوذرات آهن بیولوژیک هیچ نوع پوششی نداشته و متوسط اندازه آن ها حدود ۵۵ نانومتر بوده است. با توجه به سائز کوچکتر این نانوذرات در مقایسه با مطالعه Wu می توان نتیجه گیری نمود که نانوذرات آهن بیولوژیک از سمیت اندکی برخوردارند زیرا هر چه سائز نانوذرات کوچکتر شود، سمیت آن ها افزایش خواهد یافت. همچنین در تحقیق حاضر همراستا با تحقیق Wu نانوذرات آهن بیولوژیک در حضور میدان الکترومغناطیسی به صورت دو برابر در بافت کلیه تجمع نموده بودند.

Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی نانوذرات آهن مغناطیسی متصل به سیس پلاتین جهت انتقال هدفمند دارو به درون بدن پرداختند. آن ها از میدان الکترومغناطیس خارجی در مکان حضور کلیه در بدن موش استفاده نمودند و نشان دادند که پس از تزریق وریدی در حضور میدان الکترومغناطیس نانوذرات با میزان سیار بالاتری نسبت به شاهد در بافت کلیه حضور داشتند. مطالعات میکروسکوپ الکترونی حاکی از وجود این نانوذرات در لومن و سلول های اندوتلیال عروقی کلیه بود (۲۶). در تحقیق حاضر نیز همراستا با تحقیق Zhang نانوذرات آهن بیولوژیک در حضور میدان الکترومغناطیسی به صورت دو برابر در بافت کلیه تجمع نموده بودند.

Mischenko و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی نانوذرات آهن مغناطیسی غیر بیولوژیک در بدن موش

های کلیه مشاهده شد هرچند که در گروه فاقد میدان الکترومغناطیس و دریافت کننده نانوذرات آهن نیز تغییرات خفیفی در گلومرول ها مشاهده شد که میتوان به طبیعت خود نانوذرات نسبت داد. از آنجا که گروه شاهد قرار گرفته در معرض میدان الکترومغناطیس واکنش مشابهی نشان داد نتیجتاً نانوذرات آهن بیولوژیک فاقد سمیت در بدن موجود زنده بوده و به دلیل تجمع بالا در بافت کلیه تنها سبب ایجاد تغییرات خفیف در گلومرول ها می شوند. بنابراین در آینده از نانوذرات آهن مغناطیسی بیولوژیک می توان در تحقیقات درون تنی با کاربرد دارورسانی هدفمند برای درمان سرطان ها در حضور میدان الکترومغناطیس بهره جست.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر دارای کد اخلاقی
IR.IAU.SHAHROOD.REC.1397.045 مصوب
۱۳۹۷/۱۲/۱۸ می باشد. نویسندگان از حمایت معاونت محترم
علمی واحد شاهرود قدردانی به عمل می آورند.

References

1. Taniguchi N. Japan society of precision engineering. in On the Basic Concept of Nanotechnology: Proc. Intern. Conf. of Production Engineering. 1974;18-23.
2. Cardoso VF, Francesko A, Ribeiro C, Bañobre-López M, Martins P, Lanceros-Mendez S. Advances in magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Advanced healthcare materials*. 2018;7(5):1700845.
3. Cuenca AG, Jiang H, Hochwald SN, Delano M, Cance WG, Grobmyer SR. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics. *Cancer*. 2006;107(3):459-466.
4. Arsalani N, Fattahi H, Laurent S, Burtea C, Vander Elst L, Muller RN. Polyglycerol-grafted superparamagnetic iron oxide nanoparticles: highly efficient MRI contrast agent for liver and kidney imaging and potential scaffold for cellular and molecular imaging. *Contrast Media Mol Imaging*. 2012;7(2):185-194.
5. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*. 2009;27(1):76-83 Waters TR. National efforts to identify research issues related to prevention of work-related musculoskeletal disorders. *Electromyogr kinesiol* 2004;14(1):7-12.
6. Li X, Xu H, Chen ZS, Chen G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials*. 2011; 270974:1-16.
7. Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, Sarkar G, Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006;69(5):485-492.
8. Ahmed S, Saifullah, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2016;9(1):1-7.
9. Suresh AK, Pelletier DA, Wang W, Broich ML, Moon JW, Gu B, Allison DP, Joy DC, Phelps TJ, Doktycz MJ. Biofabrication of discrete spherical gold nanoparticles using the metal-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*. *Acta Biomaterialia*. 2011;7(5):2148-2152.
10. Pourali P, Baserisalehi M, Afsharnezhad S, Behravan J, Ganjali R, Bahador N, Arabzadeh S. The effect of temperature on antibacterial activity of biosynthesized silver nanoparticles. *Biometals*. 2013;26(1):189-196.
11. Alexiou C, Jurgons R, Seliger C, Iro H. Medical applications of magnetic nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2006;6(9-10):2762-2768.
12. Bruners P, Braunschweig T, Hodenius M, Pietsch H, Penzkofer T, Baumann M, Günther RW, Schmitz-Rode T, Mahnken AH. Thermoablation of malignant kidney tumors using magnetic nanoparticles: an in vivo feasibility study in a rabbit model. *Cardiovascular and interventional radiology*. 2010;33(1):127-134.

13. Wang Y, Cui H, Li K, Sun C, Du W, Cui J, Zhao X, Chen W. A magnetic nanoparticle-based multiple-gene delivery system for transfection of porcine kidney cells. *PloS one*. 2014;9(7):e102886.
14. Prospero AG, Fidelis-de-Oliveira P, Soares GA, Miranda MF, Pinto LA, Dos Santos DC, Silva VDS, Zufelato N, Bakuzis AF, Miranda JR. AC biosusceptometry and magnetic nanoparticles to assess doxorubicin-induced kidney injury in rats. *Nanomedicine*. 2020;15(05):511-525.
15. Fernández-Pacheco R, Valdivia JG, Ibarra MR. Magnetic nanoparticles for local drug delivery using magnetic implants. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2007;311(1):318-322.
16. Awaad A. Histopathological and immunological changes induced by magnetite nanoparticles in the spleen, liver and genital tract of mice following intravaginal instillation. *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 2015;71:32-47.
17. Pourali P, Badiie SH, Manafi S, Noorani T, Rezaei A, Yahyaei B. Biosynthesis of gold nanoparticles by two bacterial and fungal strains, *Bacillus cereus* and *Fusarium oxysporum*, and assessment and comparison of their nanotoxicity in vitro by direct and indirect assays. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2017;29:86-93.
18. Sherine J, Sujatha A, Rathinam M. Biological synthesis of iron oxide nanoparticles using *Streptomyces* sp. and its antibacterial activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. 2016;8:58-60..
19. Bharde A, Rautaray D, Bansal V, Ahmad A, Sarkar I, Yusuf SM, Sanyal M, Sastry M. Extracellular biosynthesis of magnetite using fungi. *Small*. 2006;2(1):135-141.
20. Yahyaei B, Pourali P. One step conjugation of some chemotherapeutic drugs to the biologically produced gold nanoparticles and assessment of their anticancer effects. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-15.
21. Yahyaei B, Nouri M, Bakherad S, Hassani M, Pourali P. Effects of biologically produced gold nanoparticles: toxicity assessment in different rat organs after intraperitoneal injection. *AMB Express*. 2019;9(1):38.
22. Pourali P, Nouri M, Ameri F, Heidari T, Kheirkhahan N, Arabzadeh S, Yahyaei B. Histopathological study of the maternal exposure to the biologically produced silver nanoparticles on different organs of the offspring. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2020;393:867-878.
23. Tietze R, Lyer S, Dürr S, Struffert T, Engelhorn T, Schwarz M, Eckert E, Göen T, Vasylyev S, Peukert W, Wiekhorst F, Trahms L, Dörfler A, Alexiou C. Efficient drug-delivery using magnetic nanoparticles—biodistribution and therapeutic effects in tumour bearing rabbits. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2013;9(7):961-971.
24. Naumenko V, Nikitin A, Kapitanova K, Melnikov P, Vodopyanov S, Garanina A,

- Valikhov M, Ilyasov A, Vishnevskiy D, Markov A, Golyshev S, Zhukov D, Alieva I, Abakumov M, Chekhonin V, Majouga A. Intravital microscopy reveals a novel mechanism of nanoparticles excretion in kidney. *Journal of controlled release*. 2019;307:368-378.
25. Wu T, Hua MY, Chen JP, Wei KC, Jung SM, Chang YJ, Jou MJ, Ma YH. Effects of external magnetic field on biodistribution of nanoparticles: A histological study. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2007;311(1):372-375.
26. Zhang HZ, Xie MQ, Kang Z, Shen H, Wang L. Targeted distribution of cis-platin magnetic nanoparticles in mice. *Journal of Southern Medical University*. 2008;28(10):1756-1759.
27. Krustev L, Prodanov A, Dinova S, Popov A, Borov B. Morphological changes in the kidney, liver and spleen during prolonged administration of iron nanoparticles. *Journal of Physics: Conference Series*. 2012;345:012043
28. Iversen NK, Frische S, Thomsen K, Laustsen C, Pedersen M, Hansen PB, Bie P, Fresnais J, Berret JF, Baatrup E, Wang T. Superparamagnetic iron oxide polyacrylic acid coated γ -Fe₂O₃ nanoparticles do not affect kidney function but cause acute effect on the cardiovascular function in healthy mice. *Toxicology and applied pharmacology*. 2013;266(2):276-288.

Investigation of accumulation and tissue effects due to injection of biologically produced magnetic iron nanoparticles in renal tissue of rats in response to electromagnetic field by histopathological and ICP methods

Yahyaei B^{1,2*}, Sabbagh Ms³

1. Assistant Professor, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

2. Assistant Professor, Department of Medical Sciences, Biological Nanoparticles in Medicine Research center, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran, behroozyahyaei@yahoo.com

3. General Medicine Graduate, Department of Medical Sciences, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

Abstract

Background: In the present study, an attempt was made to produce magnetic nanoparticles in magnetic biology and to study their cytotoxic properties in fibroblast cells and to investigate their behavior in living organisms in the presence and absence of electromagnetic fields in kidney tissue.

Materials and Methods: Magnetic iron nanoparticles were produced using *Fusarium oxysporum* and iron chloride. TEM and X-ray diffraction were confirmed using spectrophotometry. Then the cytotoxicity of nanoparticles was investigated by MTT method in non-cancerous fibroblast cell culture. Finally, the IC50 nanoparticles were determined in cell culture and nanoparticles with non-toxic doses were injected into rats. Rats were divided into 4 control groups, the group receiving nanoparticles without the presence of electromagnetic field, the group receiving nanoparticles with the presence of electromagnetic field, the group without receiving nanoparticles and with the presence of electromagnetic field.

Results: Magnetic iron nanoparticles could be produced by *Fusarium oxysporum*. The resulting nanoparticles were about 35 nm in size and applied dose-dependent toxicity in cell culture. The biological nanoparticles did not have severe toxicity in kidney tissue and only in the presence of the electromagnetic field, slight changes in connective tissue and blood as well as changes in renal glomeruli were observed, although in the group without electromagnetic field, slight changes were observed in glomerulus.

Conclusion: Biological iron nanoparticles are non-toxic in the body and can be used in in vivo research with the aim of drug delivery to treat cancers and other diseases.

Keywords: Electromagnetic field, *Fusariumoxysporum*, Rat, Renal tissue, Magnetic iron nanoparticles.

***Citation:** Yahyaei B, Sabbagh Ms. Investigation of accumulation and tissue effects due to injection of biologically produced magnetic iron nanoparticles in renal tissue of rats in response to electromagnetic field by histopathological and ICP methods. *Yafte*. 2021; 23(1):304-318.