بررسی تأثیر کمپلکس آهن‌دار $[Fe_3\ O(OAC)_6(H_2O)_3]Cl$ بر خون‌سازی در موش‌های ماده بالغ نژاد Balb/C

کاظم پریور، مسعود رفیع زاده، نسیم حیاتی رودباری، وحید امانی: دانشگاه تربیت معلم تهران

چکیده

آهن عنصری معدنی است که مقداری از آن برای رشد طبیعی بدن ضروری است، این عنصر پس از مصرف خوراکی، جذب خون شده، به ترانسفرین پیوند یافته و برای ساخت گلبول‌های قرمز به مغز استخوان انتقال می‌یابد. مصرف خوراکی آهن ممکن است موجب امراض گوارشی گردد. با توجه به این عوارض ونیز گسترش فراوان کم‌خونی نیاز به داروهای آهن‌دار تزریقی مشخص می‌شود. به همین منظور و برای تعیین ترکیبی که احتمالاً بتواند به عنوان داروی آهن‌دار تزریقی مورد استفاده قرار گیرد، کمپلکس $[Fe_3\ O(OAC)_6(H_2O)_3]Cl$ در دانشکده شیمی دانشگاه تربیت معلم تهران تهیه گردید. این کمپلکس یک ترکیب آهن‌دار با Fe(III) است که طیف IR آن با داده‌های مراجع منطبق است. پس از تهیه، اثرات زیستی این ترکیب در طی تجربیاتی مورد بررسی قرار گرفت. در این تجربیات که در گروه زیست شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران انجام گرفت، سه گروه موش ماده بالغ نژادBalb/C شامل گروه‌های کنترل، شم و تجربی تحت شرایط مناسب و در ۲۳° c نگهداری شدند و به گروه تجربی ۳۰۰mg/kg وزن حیوان از کمپلکس مذکور، حل شده در سرم فیزیولوژیک، به مدت ۵ روز و روزی یک بار به صورت درون صفاقی تزریق گردید و به گروه شم هم به همان میزان سرم فیزیولوژیک تزریق شد و پس از ۳ روز گروه‌ها خونگیری شدند و نمونه‌های خونی آنالیز گردیدند: یعنی میزان هماتوکریت، هموگلوبین RBC, MCV, Monocytes, Lympocytes, Basophils, Seg.Neutrophils, WBC, MCHC, MCH, Eosinophils, Band cells, اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان هموگلوبین، هماتوکریت،RBC, MCHC, MCH و MCV در نمونه‌های تجربی افزایش معنی داری دارد و هیچ گونه تغییر شکل مورفولوژیک مشاهده نگردید. در حقیقت, آهن در خون با ترانسفرین پلاسما ترکیب می‌شود، این اتصال سست است و در صورت نیاز گسسته خواهد شد. به این ترتیب اثرات مثبت این ترکیب بر روی خون سازی در موش ماده بالغ نژادBalb/C مشخص گردید و این کمپلکس احتمالاً می‌تواند به عنوان داروی مناسبی جهت افزایش میزان آهن خون به صورت تزریقی مورد بررسی قرار گیرد.

کلمات کلیدی: کمپلکس آهن‌دار، خون‌سازی، موش نژاد Balb/C

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آهن عنصری ضروری برای موجودات زنده، در تعدادی از فرایندهای متابولیک است. این فرایندها شامل: انتقال اکسیژن، سنتز DNA و انتقال الکترون و... است. به هر حال, غلظت آهن در بافت‌های بدن باید دقیقاً تنظیم شود؛ زیرا, از یک سو آهن زیاد به علت تشکیل رادیکال‌های آزاد موجب آسیب بافتی می‌شود, و از سوی دیگر کمبود آن نیز می‌تواند موجب کم‌خونی شود. به هر حال بی‌نظمی در متابولیسم آهن تقریباً بیش‌ترین درصد بیماری‌های انسانی را دارد[۱].

ارتباط بین مقدار آهن و مقدار معیّن خون از این واقعیت سرچشمه می‌گیرد که آهن در واکنش‌های بیوشیمایی برای ساخته شدن هموگلوبین شرکت دارد. تحقیقاتی در این زمینه انجام گرفته است و نتایج حاصل از آن، این واقعیت را نشان می‌دهد که کودکانی که سطح آهن پایین‌تری دارند نسبت به کودکانی که سطح آهن آن‌ها طبیعی است کم‌خونی بیش‌تری را بروز می‌دهند[۲]. بررسی‌های دیگری نشان می‌دهد که سطح هموگلوبین رتیکولوسیت‌ها در کودکان مقدار آهن خون را مشخص می‌سازد و کمبود آهن را از این طریق می‌توان مشخص ساخت[۳]. آهن به مقدار مناسب برای خون‌سازی و در نتیجه تامین ظرفیت انتقال اکسیژن خون ضروری است، این عنصر برای ساخته شدن هموگلوبین و میوگلوبین ضروری است و همچنین به عنوان کوفاکتور چندین آنزیم اساسی بدن مانند سیتوکروم ضرورت دارد. ترکیبات آهن معمولاً به صورت کمپلکس فریتین موجود هستند که جذب پایین دارند و متوسط دز آن از ۲ تا ٦۰ میلی گرم در هر واحد است. کمبود آهن در بدن موجب خستگی و بی‌حوصلگی فرد می‌شود که یکی از نشانه‌های کم‌خونی است[٤]. یکی از مشخصه‌های کم‌خونی، میزان پایین هموگلوبین است که مانع اکسیژن رسانی کافی به بافت‌های بدن می‌شود. آهن موجود در غذا یا مکمل‌های غذایی پس از مصرف خوراکی، به شکل آهن دو ظرفیتی از سلول‌های مخاطی عبور کرده و به ترانسفرین پیوند می‌یابد. در این حالت برای ساخته شدن هموگلوبین و گلبول‌های قرمز به مغز استخوان منتقل می‌شود. مکانیسم‌های مولکولی زیادی در هموستازی آهن در بدن دخیل هستند و جذب و ذخیره آهن تحت تاثیر ژن‌ها و مولکول‌های گوناگونی تنظیم می‌شود[٥].

مقدار مصرف آهن به طور متوسط ۲٤ میلی گرم و سه بار در روز است. دز روزانه مصرف آهن برای بیماران دارای کمبود آن بالغ بر ۲۰۰ میلی گرم و در بیماری‌های خاص با کمبود زیاد آهن روزانه تا ٤۰۰ میلی گرم می‌رسد[٦]. دزهای بالای مصرف خوراکی آهن منجر به افزایش pH روده می‌شود[۷]. مصرف خوراکی آهن موجب تحریک مجرای گوارشی، تهوع، درد اپی گاستریک و یبوست می‌شود. با توجه به این عوارض و نیز گسترش فراوان کم‌خونی و اثر سوء آن، نیاز به داروهای آهن‌دار تزریقی مشخص می‌گردد[۸].

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

به منظور تعیین ترکیبی که احتمالاً بتواند به عنوان داروی آهن‌دار تزریقی مورد استفاده قرار گیرد، کمپلکس $[Fe_3 O(OAC)_6(H_2O)_3]Cl$ در دانشکده شیمی دانشگاه تربیت معلم تهران تهیه گردید.

ترکیب مذکور یک کمپلکس آهن‌دار با(III)Fe است که در این تجربه به صورت تزریقی مورد استفاده قرارگرفت و اثر آن بر خون‌سازی بررسی شد. ساختار شیمیایی کمپلکس آهن‌دار استفاده شده در این پژوهش تری آکوا- هگزا- مو- استاتو- موتری- اکسو- تری فریک (III) کلراید$[Fe_3O(OAc)_6(H_2O)_3]Cl$ است که برای سنتز آن موارد زیر صورت گرفت :

۰/۱ مول نمک $FeCl_3.6H_2O$ در ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و ضمن هم زدن، ۶۰ میلی‌لیتر محلول بافری، حاوی ۰/۲ مول نمک CH_3COONa و ۱۰ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال به آرامی به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۸ ساعت دردمای ^oC(۷۵-۸۰) رفلاکس شد.

$$FeCl_3.\ 6H_2O\ _{(aq)} + 2CH_3COONa\ _{(aq)} + 2\ CH_3COOH\ _{(l)} \xrightarrow{(75\text{ -}80)^oC,\ 8h} [Fe_3O(OAc)_6\ (H_2O)_3]Cl\ _{(aq)}$$

بعد از گذشت دو هفته کریستال‌های تشکیل شده به رنگ قهوه‌ای تیره‌ای در آمد. این کریستال‌ها در حد اقل آب مقطر حل و دوباره متبلور شدند. سپس جدا با محلول ایزواکتان- استون شسته و به مدت یک هفته در خلأ روی سیلیکاژل خشک و سپس از آن‌ها طیفIR گرفته شد. طیف IR تهیه شده با داده‌های موجود در مراجع [۹]،[۱۰] مطابقت دارد(شکل۱). بر طبق مراجع نیمه عمر این کمپلکس مشخص نبوده و دوام طولانی مدت دارد و فاقد دز کشنده است[۱۰].

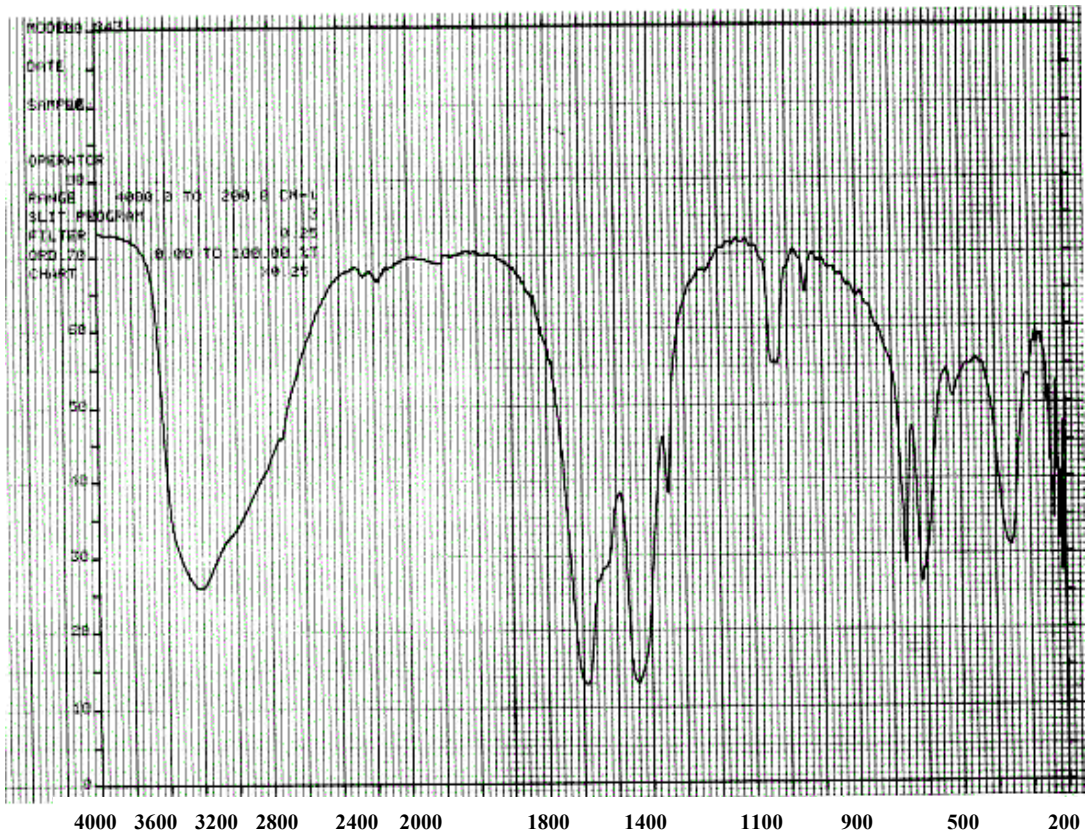
برای انجام تجربیات بررسی اثرهای زیستی این دارو، ابتدا سه گروه موش ماده نژادBalb/C شامل گروه‌های: کنترل، شم و تجربی با وزن ۳۰-۲۴ گرم انتخاب شدند، این موش‌ها تحت شرایط مناسب و در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به گروه تجربی به میزان ۳۰۰ mg/kg وزن موش، از کمپلکس مذکور که در سرم فیزیولوژیک به خوبی حل شده بود، به مدت ۵ روز و روزی یک بار به صورت درون صفاقی تزریق گردید و به گروه شم به همان میزان فقط سرم فیزیولوژیک تزریق شد و پس از گذشت سه روز از هر سه گروه حیوانات خون گرفته شد. نمونه‌های خونی با EDTA به میزان ۲mg برای هر میلی‌لیتر از خون مخلوط شدند و به صورت دستی در آزمایشگاه حیوانات کوچک دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران آنالیز گردیدند. ابتدا میزان هماتوکریت خون با استفاده از پیپت هماتوکریت و خطکش میکرو هماتوکریت به دست آمد و سپس گسترش‌های خونی با متانول خالص ثابت شدند و

Archive of SID

www.SID.ir

با رنگ‌آمیزی گیمسا رنگ شدند و تعداد سلول‌های خونی در آن‌ها شمارش گردید. میزان هموگلوبین هم با استفاده ازکیت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. به این ترتیب میزان هموگلوبین، مقدار متوسط هموگلوبین (MCH) غلظت متوسط هموگلوبین (MCH) و حجم متوسط گلبول قرمز (MCV) مشخص گردید.

برای بررسی‌های آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید و هیستوگرام‌های مربوط به آن با نرم افزار Excel ترسیم شد.



شکل ۱- طیف IR کمپلکس آهن‌دار

نتایج

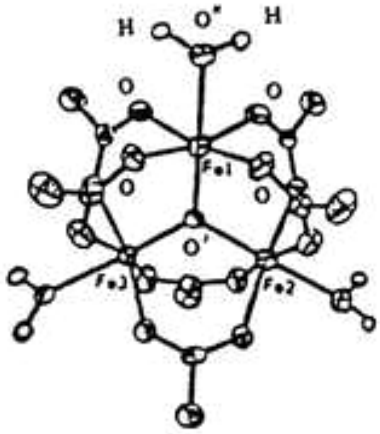
۱- نتایج مربوط به تهیه کمپلکس

در کمپلکس سه هسته‌ای $[Fe_3O(OAc)_6](H_2O)_3]^+$ یک اتم اکسیژن به وسیله سه اتم آهن به صورت مثلثی احاطه شده است[۹]. شش گروه کربوکسیلاتی به صورت پل بین فلزها (دو گروه بین دو اتم فلز) قرار دارند و سه لیگاند H_2O به صورت تک دندانه‌ای به هر کدام از فلزها متصل است(شکل ۲)[۱۰].

www.SID.ir

مقایسه تجزیه عنصری نظری و تجربی کمپلکس تهیه شده

جدول۱، تجزیه عنصری تجربی و نظری کمپلکس تهیه شده را نشان می‌دهد. با انجام محاسبات مشخص شد که فرمول تجربی آن، $Fe_3C_{12}H_{24}O_{16}Cl$ است.



شکل ۲- ساختار کاتیونی کمپلکس سه هسته‌ای $[Fe_3O(OAc)_6](H_2O)_3]^+$ [۷].

جدول ۱- مقایسه تجزیه عنصری نظری وتجربی کمپلکس $[Fe_3O(OAc)_6][(H_2O)_3]Cl$

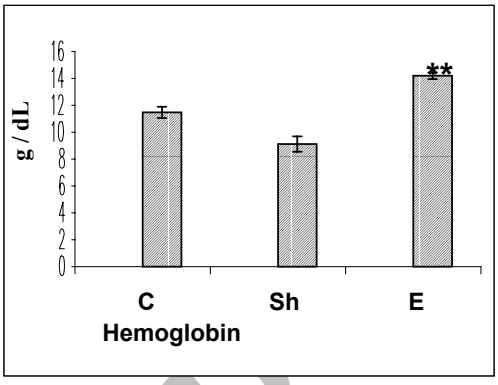
%	Fe	C	H	O	Cl
نظری	۲۶/۷۷۳	۲۲/٤۸	۳/۸۲٥	٤۰/۷۹۷	٥/٦٥۷
تجربی	۲٦/۲٥	۲۲/۸٤	۳/۹۲	٤۰/٥	٥/۸٥

۲- نتایج مربوط به تجربیات زیستی

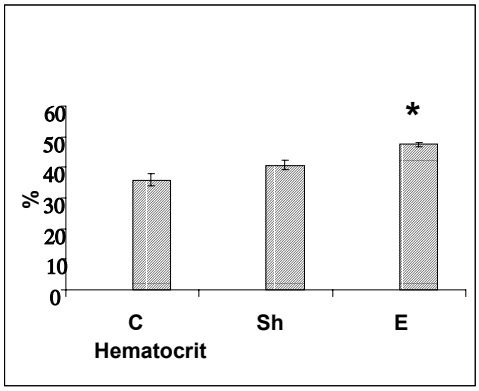
هیستوگرام‌های حاصل از بررسی‌های آماری در مورد مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، RBC،MCV، MCH،MCHC، WBC، Seg.Neutrophils، Bandcells، Eosinophils،Basophils، Lymphocytes و Monocytes به صورت هیستوگرام‌های ۱ تا ۱۳ است:

Archive of SID

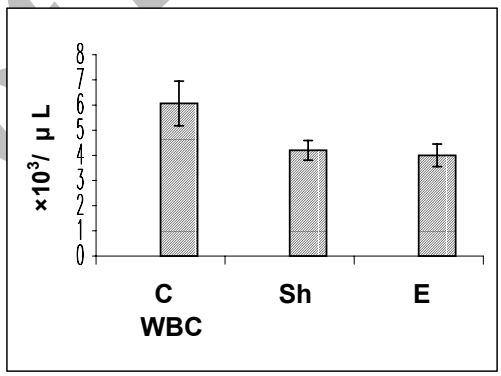
www.SID.ir



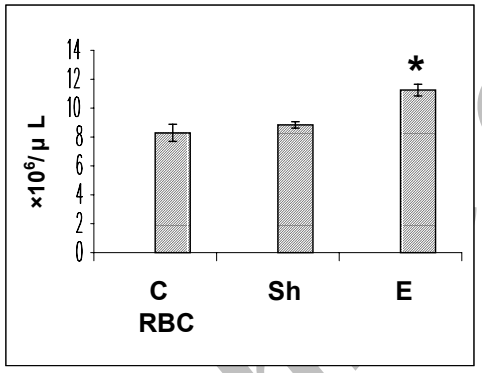
هیستوگرام ۱- مقدار هموگلوبین در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**



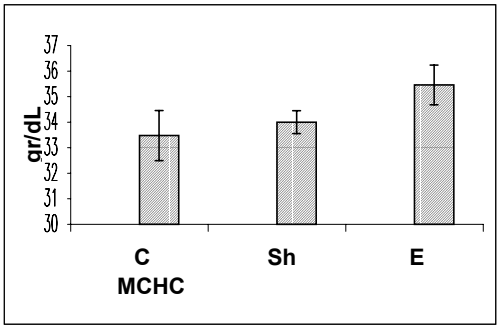
هیستوگرام ۲- مقدار هماتوکریت در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**



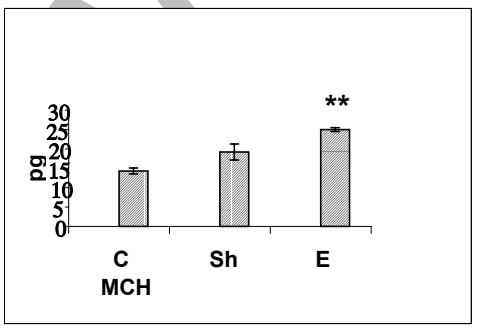
هیستوگرام ۳- مقدارWBC در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**



هیستوگرام ٤- مقدارRBC در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**

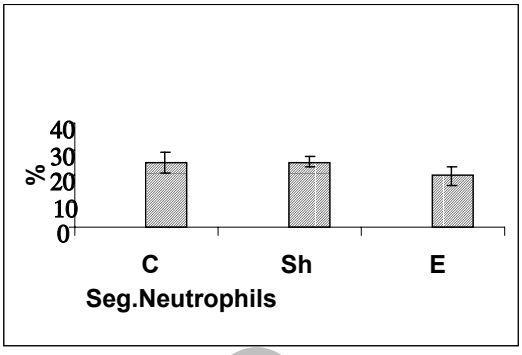


هیستوگرام ٥- مقدار MCHC در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**

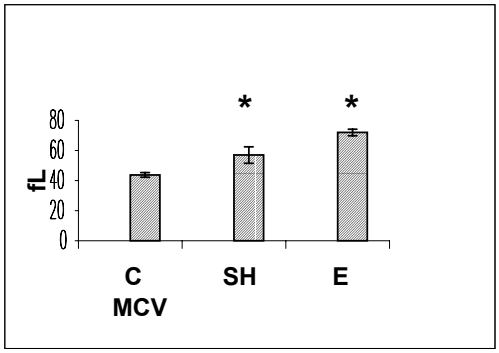


هیستوگرام ٦- مقدار MCH در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**

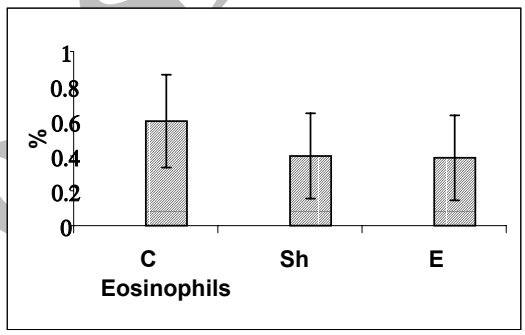
www.SID.ir



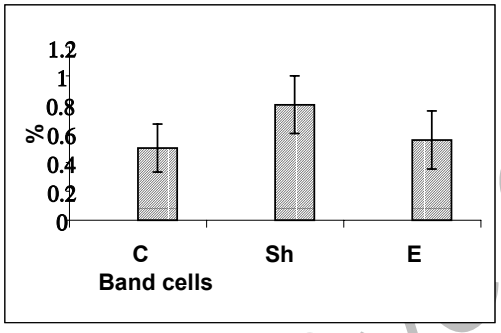
هیستوگرام ۷- مقدار Seg.Neutrophils در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P<۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)



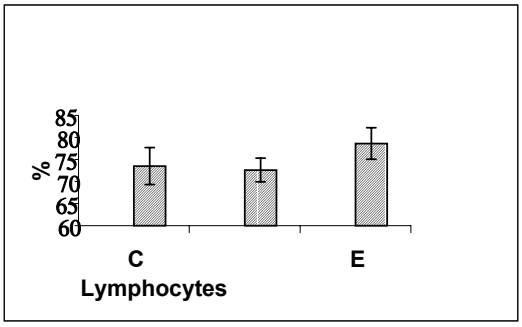
هیستوگرام ۸- مقدار MCV در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P< ۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)



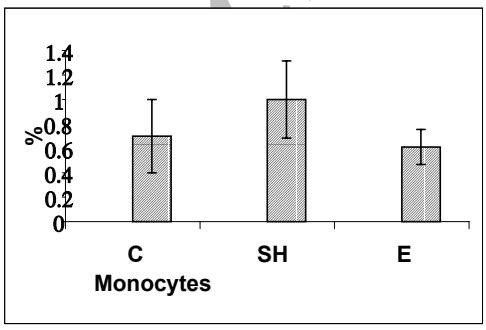
هیستوگرام ۹- مقدار ائوزینوفیل در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P<۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)



هیستوگرام ۱۰- مقدار Band cells در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P<۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)

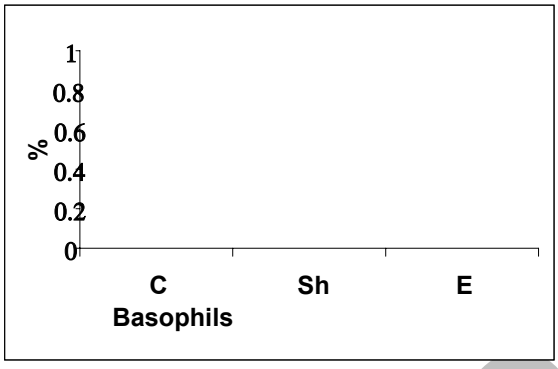


هیستوگرام ۱۱- مقدار لنفوسیت در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P<۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)



هیستوگرام۱۲- مقدار مونوسیت در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E)
(*P<۰/۰۵ ,**P<۰/۰۰۱)

www.SID.ir



هیستوگرام ۱۳- مقدار بازوفیل در نمونه‌های کنترل(C)، شم(Sh) و تجربی(E) (*P<۰/۰۵ ,P<۰/۰۰۱)**

همان طور که نتایج نشان می‌دهد در گروه تجربی میزان هماتوکریت، هموگلوبین، RBC، MCV، MCH در مقایسه با سایر فاکتورهای بررسی شده افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه‌های شم و کنترل از خود نشان می‌دهد که نشان دهنده افزایش خون سازی در نمونه‌های تجربی است. ولی در مورد سایر فاکتورها از جمله مقادیر WBC، MCHC، Seg.Neutrophils، Bandcells، Eosinophils، Basophils، Lymphocytes و Monocytes تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. مورفولوژی سلول‌های خونی نیز طبیعی بود. به این ترتیب؛ تأثیر مثبت این ترکیب بر روی خون سازی و افزایش فاکتورهای مربوطه (هماتوکریت، هموگلوبین، RBC، MCV، MCH) در نمونه‌های تجربی مشخص گردید.

بحث

سلول‌های مورد بررسی در این تحقیق شامل گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید هستند که در مغز قرمز استخوان به تعداد 10^{11} در هر روز ساخته می‌شوند و همگی از یک نوع سلول بنیادین که pleuripotent stem cell نامیده می‌شود، مشتق می‌گردند، این سلول‌های بنیادین بسیار نادرند و تعداد آن‌ها در حدود یکی در هر ۱۰۰۰۰ سلول مغز قرمز استخوان است و نوعی پروتئین سطحی را که CD34 نامیده می‌شود بیان می‌کنند[۱۱]. این سلول‌ها به وسیله تقسیم میتوز قادر به تولید دو نوع سلول هستند: یکی سلول‌های بنیادین مانند خودشان و دیگری سلول‌هایی که شروع به تمایز کرده و انواع سلول‌های خونی را تولید می‌کنند و این سلول‌های تولید شده مسیر خود را به وسیله سیتوکین‌ها و هورمون‌ها تنظیم می‌کنند در شکل۳ فرآیند ساخت انواع سلول‌های خونی شامل گلبول‌های قرمز و سفید و پلاکت‌ها آمده است[۸].

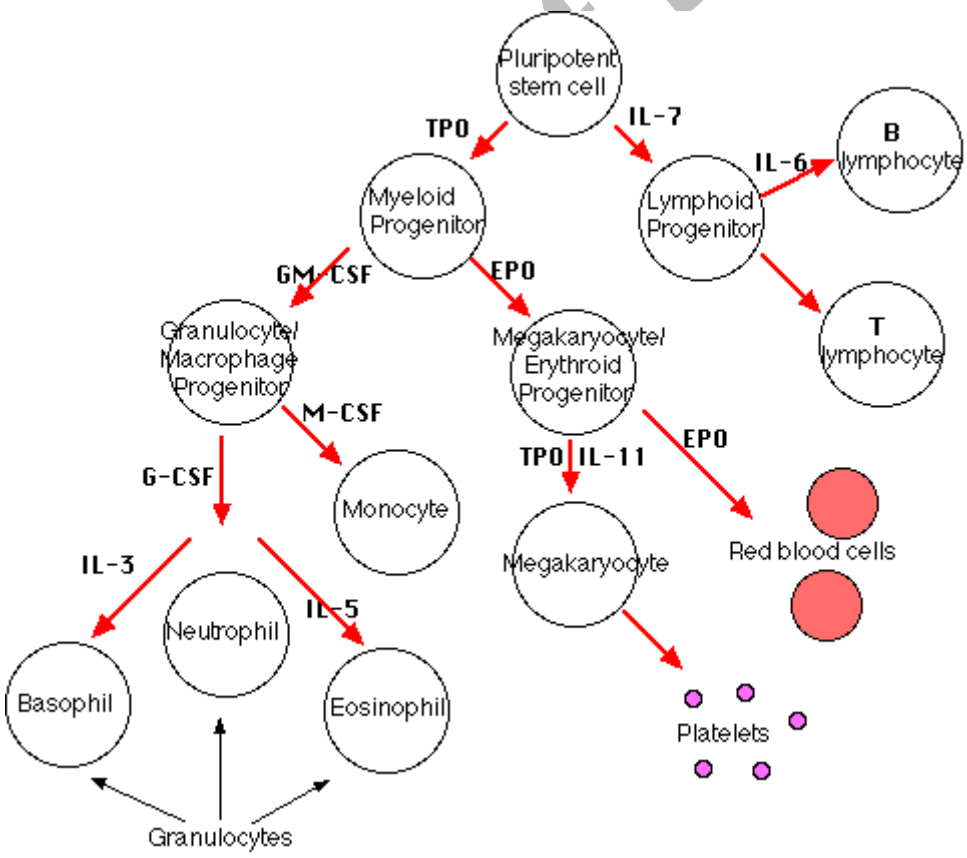
Archive of SID

www.SID.ir

اینترلوکین۷(IL-7) یک فاکتور اساسی در تحریک سلول‌های بنیادین مغز قرمز استخوان برای شروع مسیری است که منجر به تولید لنفوسیت‌ها می‌شود از طرف دیگر هورمون ترومبوپوئیتین (TPO) که کبد آن را ترشح می‌کند، باعث تحریک سلول‌ها به سمت تولید مگاکاریوسیت‌ها و گلبول‌های قرمز خون می‌شود و به دنبال آن اریتروپوئیتین (EPO) تولید شده به وسیله کلیه تشکیل گلبول‌های قرمز خون[۱] را تحریک می‌کند. از طرف دیگر ترومبوپوئیتین (TPO)به همراه اینترلوکین۱۱(IL-11) تولید مگاکاریوسیت‌ها و قطعه قطعه شدن آن‌ها به پلاکت‌ها را تحریک می‌کند. فاکتور تحریک کننده کلونی گرانولوسیت- مونوسیت (GM-CSF) سلول را به سمت مسیر تولید گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها هدایت می‌کند در خلال این فرایند یکی از دو مسیر زیر در پیش گرفته می‌شود:

۱- تحت تأثیر فاکتور تحریک کننده کلونی گرانولوسیت(G-CSF)این سلول‌ها به نوتروفیل‌ها تمایز می‌یابند.

۲- تحریک بیش‌تر این سلول‌ها با اینترلوکین ۵ (IL-5) آن‌ها را به سمت تولید ائوزینوفیل می‌برد.



شکل۳- فرایند تشکیل سلول‌های مختلف خون [۸]

۱-Red blood cells ۲ -Granulocyte-monocyte colony-stimulating factor

۳ -Granulocyte colony-stimulating factor

www.SID.ir

۳- اینترلوکین ۳ (IL-3) در تمایز اکثر گلبول‌های سفید شرکت می‌کند ولی نقش ویژه‌ای در تولید بازوفیل‌ها ایفا می‌کند.

٤- تحریک با فاکتور تحریک کننده کلونی ماکروفاژ(M-CSF) باعث می‌شود که سلول‌های مذکور به مونوسیت‌ها که سازنده ماکروفاژ ها هستند تمایز یابند.

وقتی که پیش سازهای گلبول‌های قرمز خون در مغز استخوان بالغ می‌شوند دو فرایند در آن‌ها اتفاق می‌افتد، اولین فرایند تولید هموگلوبین است که تقریباً ۹۰ درصد وزن خشک گلبول قرمز را تشکیل می‌دهد و دیگری از بین رفتن هسته و هستک سلول و شکسته شدن DNA آن است[۸].

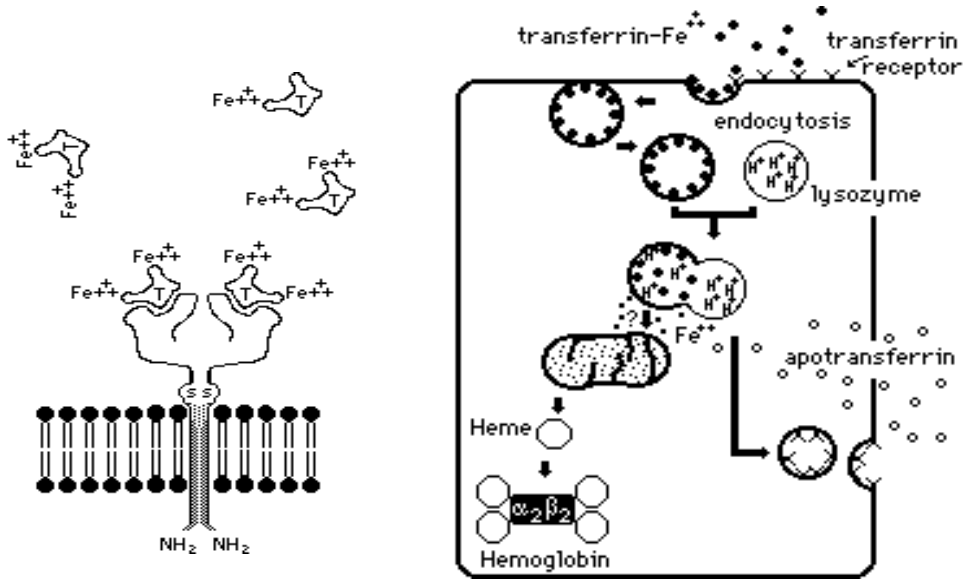
در ساخت هموگلوبین هر مولکول "هِم"[۲] با یک زنجیره پلی پپتیدی به نام گلوبولین که در ریبوزوم‌ها ساخته شده ترکیب می‌شود و زیر واحدی از هموگلوبین به نام زنجیره هموگلوبین(α، β، γ و....) را می‌سازد. از اتصال ٤ زنجیره هموگلوبین به یکدیگر یک مولکول کامل هموگلوبین ایجاد می‌شود[۱۲]. در این تجربه آهن سه ظرفیتی(III)- که درکمپلکس مذکور وجود دارد- پس از وارد شدن به خون با یک بتاگلوبولین پلاسما به نام آپوترانسفرین ترکیب می‌شود و ترانسفرین می‌سازد و به این طریق در خون حمل می‌شود این ترکیب آهن سست است و در موارد مورد نیاز بدن، گسسته خواهد شد[۱۳].

مولکول ترانسفرین به شدت به گیرنده‌های غشای اریتروبلاست‌ها در مغز قرمز استخوان متصل می‌شود سپس اریتروبلاست‌ها با آندوسیتوز ترانسفرین و آهن همراه آن را وارد خود می‌کنند، ترانسفرین در داخل سلول، آهن را به میتوکندری‌ها که محل تأمین انرژی برای ساخته شدن مولکول "هِم" است انتقال می‌دهد[١٤]. شکل ٤ نحوه انتقال آهن و شرکت آن در ساختن هموگلوبین را نشان می‌دهد به این ترتیب همان طور که در نتایج مشاهده شد، آهن موجود در این کمپلکس عامل افزایش سنتز هموگلوبین و در نتیجه افزایش سنتز گلبول‌های قرمز است که به دنبال آن همانطور که نتایج نشان می‌دهد MCV, MCH وMCHC نیز افزایش می‌یابد در نتیجه می‌توان گفت که این کمپلکس احتمالاً می‌تواند به عنوان داروی مناسبی برای افزایش میزان خون‌سازی مورد بررسی قرار گیرد و به نظر می‌رسد که عوارض ناشی از استفاده خوراکی داروهای آهن‌دار را ندارد, ولی نقش مؤثری در خون‌سازی دارد.

۱-Macrophage colony-stimulating factor ۲ -Heme

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٤ـ نحوه انتقال آهن و شرکت آن در ساخت هموگلوبین و خون سازی [۱۲]

منابع

1. T.L. Pauline, M. Heiskala, P. A. Peterson, Y. Yang, The Roles of Iron in Health and Disease, Mol. Asp. Med. 22 (2001)1-87.
2. S.Yang, Iron-deficient Children at Risk for Higher levels of lead in their Blood, Campus News, Media Relation. 154(2001)13-20.
3. C. Brugnara, D. Zurakowski, J. DiCanzio, T. Boyd, O. Platt, Reticulocyte Hemoglobin Content to Diagnose Iron Deficiency in children, JAMA. 281(23) (1999)2225-2230.
4. B. Skikne, Bovine Ferritin Iron Bioavailability in man, Eur. J. Clin. Invest. 27(1997)228-233.
5. M.J. Borel, S.H. Smith, D.E. Brigham, J.L. Beard, The Impact of Varying degrees of Iron nutrition on Several Functional Consequences of Iron Deficiency in Rats, J Nutr. 121(5)(1991) 729-736.
6. Expert Group on Vitamins and Minerals Secretariat, Review of Iron-Revised Version, 56 (2002)1-133.
7. H.A. Huebers, E. Huebers, E. Csiba, The Significance of Transferrin for Intestinal Iron Absorption, Blood. 61(1983)283-290.

Archive of SID
www.SID.ir

8. W. J. Kimball, Index of online Biology textbook, 28 August (2003).

9. M.K. Johnson and D.B. Powell, Cannon Spectrochimica Acta. 37A (1981)995-1006.

10. C.E. Anson, J.P. Bourke, R.D., Cannon and Powell, Inorg. Chem. 36 (1997)1265-1267.

11. P. Whittaker, A.W. Mahoney, D.G. Hendricks, Effect of Iron-Deficiency anemia on percent of blood volume in growing rats, J Nutr. 114(6)(1984)1137-1142.

12. The online site of University of Virginia (http://www.virginia.edu), Part of Basic Hematology, 15 febuary 2000.

13. Y. Takahashi, H. Kobayashi, N. Tanaka, T. Sato, N. Takizawa, T. Tomita, Nitrosyl Hemoglobin in Blood of Normoxic and Hypoxic sheep during nitric Oxide Inhalation, Am J Physiol. 274(1 - 2)(1998)349-57.

14. A.C. Guyton, J.E. Hall, Textbook of Medical physiology, 10th ed(2000).

Archive of SID

www.SID.ir