

## بررسی غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید آهن بر تعداد گلبول‌های قرمز ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- **فائزه رضایی\***: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **شاهلا جمیلی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **فریبرز احتشامی**: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶ - ۱۴۱۵۵
- **علی ماشینیچیان مرادی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- **مجتبی شهیدیان نامگی**: گروه زیست‌شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲

### چکیده

با توجه به تولید روزافزون نانو ذرات مغناطیسی و کاربرد مفید آن در سیستم‌های بیولوژی، تاکنون مطالعات کم‌تری در زمینه اثرات جانبی این مواد در بدن موجودات زنده صورت گرفته است. بررسی فاکتورهای خونی و مشخص کردن تابلوی خونی هر جاندار علاوه بر آن که به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مهم به شمار می‌رود، در تشخیص بیماری‌ها نیز می‌تواند بسیار مفید واقع شود. ۲۰۰ عدد ماهی کپور معمولی دریای خزر با وزن میانگین ۱۰۰ گرم تهیه شد، وارد سطل‌هایی با ظرفیت ۸۰ لیتر گردید. در این تحقیق اثر سه غلظت مختلف از نانو اکسید آهن (۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۶ میلی گرم بر لیتر) به همراه تیمار شاهد (بدون نانو اکسید آهن) پس از گذشت زمان‌های ۴۸، ۹۶، ۱۲۰، ۱۶۸ ساعت، بر گلبول‌های قرمز خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی گردید. نتیجه نشان داد که میانگین تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۶ افزایش یافته است. اما در دوز ۰/۰۱ تعداد گلبول‌های قرمز کاهش یافته است و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز در غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۰۶ پس از گذشت ۱۶۸ ساعت مشاهده گردید، تعداد گلبول قرمز در گروه شاهد، ۷۵ عدد گزارش شده است، اما در غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۶ تعداد آن‌ها به ۲۱۰ تا ۲۵۰ عدد رسیده است و تقریباً ۷۵٪ افزایش داشته است (تعداد گلبول‌های قرمز حدوداً ۳ برابر شده است)، اما در غلظت ۰/۰۱، تعداد گلبول‌های قرمز به ۶۰ عدد رسیده است. بین تعداد گلبول‌های قرمز با غلظت و زمان، همبستگی معنی‌دار در سطح ۹۹٪ وجود دارد ( $P < 0/01$ ). تأثیر ذرات نانو اکسید آهن بر ماهیان نر بیش‌تر از ماهیان ماده و در ماده‌ها بیش‌تر از ماهیان نابالغ بوده است ( $P < 0/01$ ).

**کلمات کلیدی:** نانو ذرات اکسید آهن، تابلوی خونی، شاخص فیزیولوژیک، گلبول قرمز، ماهی کپور معمولی



## مقدمه

میکرون و محور کوچک آن‌ها ۸ تا ۱۲ میکرون و تعداد آن‌ها در هر میلی‌متر مکعب ۱ تا ۳ میلیون می‌باشد (پوستی و مروستی، ۱۳۷۸). با توجه به کاربرد وسیع نانو ذرات در آینده نزدیک در زمینه‌های بیولوژی، یکی از مسائل مهمی که محققین مختلف به بررسی آن در سال‌های اخیر پرداخته‌اند مطالعه نحوه توزیع و انتشار نانو ذرات مختلف در بافت‌ها و اندام‌های گوناگون پس از تزریق، جذب پوستی، خوراکی و یا تنفسی می‌باشد (نوری، ۱۳۹۰). مطالعاتی در خصوص نانو اکسید آهن و تاثیر آن‌ها در روند کم‌خونی در سطح داخلی صورت نگرفته است و کار روی نانو ذرات امروزه علمی جدید است. نانو اکسید آهن یک ماده جدید به جای آهن برای جبران کم‌خونی است. در این تحقیق تعداد گلبول‌های قرمز قبل از تزریق با ذرات نانو اکسید آهن بررسی می‌گردد و سپس با تعداد گلبول‌ها بعد از تزریق با ذرات نانو اکسید آهن در فواصل زمانی مشخص ۴۸، ۹۶، ۱۲۰، ۱۶۸ ساعت مقایسه می‌شود، تا اهداف تحقیق از جمله تأثیر ذرات نانو اکسید آهن روی گلبول قرمز ماهی کپور دریایی بررسی گردد.

## مواد و روش‌ها

بدین منظور در سال ۱۳۹۰ از ۱۴ تا ۴۰ لیتری در آزمایشگاه زیست‌شناسی دریای دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران استفاده شد. در هر تانک ۱۰ ماهی که از دریاچه خزر تهیه شده بود، قرار داده شد. دما در تمام آکواریوم‌ها برابر و ۲۸+۱ درجه سانتی‌گراد بود. آب مورد استفاده در این تانک‌ها از آب لوله‌کشی شهری تأمین شد. جهت هم‌دمایی با شرایط آزمایشگاه و خروج کلر در یک منبع ذخیره در محیط آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران استفاده نگهداری شد و به‌طور مداوم هوادهی گردید. آب در طول مدت آزمایش از نظر پارامترهای مختلف فیزیکی و شیمیایی در حالت ثابت و پایدار بود. pH آب براساس آزمایش‌های صورت گرفته با pH سنج در محدوده ۷/۸ - ۷/۳ و سختی کل آب آزمایشگاه در حدود ۱۷۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. آکواریوم‌ها قبل از معرفی ماهی‌ها کاملاً شسته و ضد عفونی شدند و یک عدد سنگ هوا جهت تأمین اکسیژن محلول آب در حد مطلوب، قرار داده شد. هوادهی در طی ۲۴ ساعت به‌طور مداوم صورت گرفت و نرخ هوادهی برای تمامی آکواریوم‌ها یکسان بود. علاوه بر این باقی‌مانده غذا و مدفوع ماهی‌ها روزانه سیفون شده و از آکواریوم خارج شد. آب خارج شده طی سیفون کردن، توسط آب تمیز جایگزین می‌گردید. در این آزمایش به کپورماهیان معمولی،

ماهی کپور، یکی از ماهیان خانواده *cyprinidae* است که در حوضه دریاچه خزر زندگی می‌کند. بدن دوکی شکل دارد، چشم‌ها بزرگ، سر بدون فلس و فاقد باله چربی می‌باشد و دهان کوچک و انتهایی است. دارای باله پشتی نسبتاً بلندی است (وئوقی، ۱۳۷۶). رنگ بدن در دو طرف زرد طلایی و در پشت تیره‌تر است. آهن در ساختار گویچه‌های سرخ دارای نقش اساسی است و جزء مهمی از هموگلوبین را می‌سازد و کمبود آن در ماهیان باعث عارضه‌ای به نام کم‌خونی هیپوکرومیک میکروسیتیک می‌گردد (غلامیان، ۱۳۸۳). افزایش سریع و ۲۰٪ هماتوکریت یکی از نتایج انقباض طحال است و طحال سلول‌های جدید خونی را رها می‌سازد. به‌ویژه در هنگام کمبود اکسیژن (هیپوکسی) که خود عامل تحریک ساخت گویچه‌های سرخ می‌باشند. نانو ذرات اکسید آهن برای برنامه‌های کاربردی مهمی از جمله پزشکی، محیط‌زیست و کاربردهای مختلف صنعتی استفاده می‌شود (Xiaoshan و همکاران، ۲۰۰۸). نانو ذرات دارای خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای مانند اندازه، شکل و نسبت سطح به حجم می‌باشد (ستاری، ۱۳۸۱). که این صفات کاربرد آن‌ها را در بسیاری از موارد پزشکی و بیولوژی مناسب ساخته است. گاهی اندازه آن‌ها کوچک‌تر یا در حد ساختارهای سلولی، ویروس، پروتئین و یا یک ژن می‌باشد. این مواد پس از تزریق به جانوران به سرعت در اکثر اندام‌ها و بافت‌ها توزیع شده و پدیده جذب سلولی آن‌ها بسیار شدید می‌باشد. امروزه به‌منظور کاربرد مفید و مؤثر نانو ذرات در سیستم‌های بیولوژی، پوشش‌های مختلفی نظیر آلومین، دکستران و پلی‌اتیلن‌اکسید و .... بر سطح آن‌ها ایجاد می‌گردد. حضور چنین پوشش‌هایی به پایداری نانو ذرات در محلول‌های بیولوژی و گردش خون، توزیع بافتی و هم‌چنین به ورود این مواد به سلول‌ها و کاهش اثر سمی آن‌ها کمک می‌کند (Salata, ۲۰۰۴؛ Berry, ۲۰۰۳). نانو ساختارهای اکسید آهن با توجه به تحقیقات گسترده در زمینه کاربردهای وسیع نظیر درمان تومورها (MRI) (Magnetic resonance image) گزارش‌های کمی در زمینه سمیت یا اثرات جانبی آن‌ها بر سلول و جانداران خصوصاً در شرایط *In vivo* ارائه شده است. از طرفی تحقیقات محدود انجام شده در این زمینه، نتایج نسبتاً متضادی را به همراه داشته است. مثلاً برخی غیر سمی بودن نانو ذرات اکسید آهن در شرایط *In vivo* و برخی سمیت ناچیز و یا ایجاد پاسخ‌های شدید التهابی و مرگ سلول را گزارش کرده‌اند (Kim و همکاران، ۲۰۰۶). اندازه گلبول‌های قرمز در ماهیان متفاوت است. اندازه محور بزرگ آن‌ها ۱۰ تا ۱۵



شمارش و در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب نموده تا تعداد گلبول‌های قرمز در واحد حجم یک میلی‌متر مکعب خون به دست آید و گلبول‌های قرمز خون شمارش شدند. شمارش سلول‌ها اغلب در حجم یک میکرولیتر (۱×۱×۱ میلی‌متر مکعب) صورت گرفت (خدمتگذار، ۱۳۹۱). از لام‌های emocytometer که انواع گوناگون دارند استفاده شد. متداول‌ترین لام‌ها Neubauer می‌باشند. در لام‌نوبار محفظه شمارش گلبولی دارای مربعی است که طول هر ضلع ۳ میلی‌متر و دارای ۹ مربع بزرگ می‌باشد، که هر مربع دارای مساحت ۱ میلی‌متر مربع و بعد از گذاشتن لامل سنگی حجم ۰/۱ میلی‌متر مکعب می‌باشد.

در این تحقیق از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۸، استفاده گردید و جهت تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج بررسی گلبول‌های قرمز، از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد و پس از تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون‌های خطی، پیرسون، t تست و t دو طرفه و آنالیز واریانس، آزمون t مستقل و به‌منظور تعیین همبستگی تعداد گلبول‌های قرمز با زمان و غلظت، از آزمون پیرسون استفاده شد. هم‌چنین به‌منظور بررسی وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تعداد گلبول‌ها با زمان و نیز با جنسیت از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

## نتایج

همبستگی بین تعداد گلبول‌های قرمز با غلظت و زمان، که بین آن‌ها همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۹۹٪، با شدت ۰/۸۰۴- وجود دارد ( $P < 0/01$ ). با توجه به جدول ۱ بین تعداد RBCها در غلظت‌های مختلف با میزان آن در شاهد (۷۵)، تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۹۹٪ مشاهده شد.

**بررسی روز و زمان‌های مختلف:** در مورد غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۳ بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز، مربوط به زمان ۱۶۸ ساعت و کم‌ترین آن مربوط به زمان ۴۸ ساعت است، کم‌ترین تعداد مربوط به ۴۸ ساعت است. میزان متفاوت غلظت در زمان‌های مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز مؤثر می‌باشد و DMSO تأثیری بر تعداد گلبول‌های قرمز (در حضور غلظت) ندارد. نتیجه نشان داد که تأثیرات تعداد RBCها از میزان غلظت بوده است و تحت تأثیر میزان DMSO نیست و با بررسی هر سه غلظت دیده شد که جنس نر دارای تأثیرپذیری بیش‌تر می‌باشد و بعد از آن ماده و سپس نابلغ می‌باشد. در مقایسه بین RBC و جنسیت (نر، ماده، نابلغ) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه

تزریق با غلظت‌های ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۶، ۰/۰۱ میلی‌گرم نانو اکسید آهن در لیتر، در ناحیه پشتی (زیر باله پشتی و خط جانبی) صورت پذیرفت. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. جهت مقایسه نتایج حاصله در انتهای آزمایش، تیمار شاهد ۱ بدون تکرار در نظر گرفته شد. این تیمار فاقد هرگونه تزریقی بود. برای مقایسه خطای روش کار در این آزمایش یک گروه شاهد ۲ (sham) نیز قرار داده شد که تنها حلال DMSO به آن اضافه شده بود و فاقد نانو اکسید آهن بود. برای هر تیمار ۳ بار تکرار در نظر گرفته شد.

**تهیه محلول نانو اکسید آهن:** ابتدا بشر را شسته و در آن خشک کرده سپس برای ساخت محلول، ۱۰۰ سی‌سی حلال DMSO در آن ریخته شد. سپس ۰/۳ گرم، نانو اکسید آهن را با ترازو که دقت ۰/۱ داشت وزن شد و به محلول اضافه شد. سپس به بالن ژوژه انتقال داده شد و به‌خوبی تکان داده شد.

**طریقه تزریق به ماهیان:** برای تزریق به ماهیان ابتدا ماهیان توسط عصاره گل‌میخک بی‌هوش شدند. برای تهیه عصاره میخک ابتدا ۳ گرم پودر گل میخک به‌همراه آب، در بشر ریخته شد و جوشانیده شد. پس از جوشاندن، عصاره گل میخک به ۵ لیتر آب دکلره اضافه شد (600 ppm). سپس تک‌تک ماهی‌ها، در هر تکرار را در محلول انداخته و پس از دو دقیقه ماهی‌ها بی‌هوش شدند و سپس با ترازوی دیجیتال وزن شدند و در غلظت‌های مربوطه ضرب شدند و جوابی که به‌دست آمد به‌همان اندازه محلول نانو اکسید آهن در سرنگ کشیده شد و به ماهی مورد نظر تزریق گردید. ماهی‌هایی که در آن‌ها تزریق انجام شد در آب پر اکسیژن قرار داده شدند و پس از چند دقیقه به هوش آمدند.

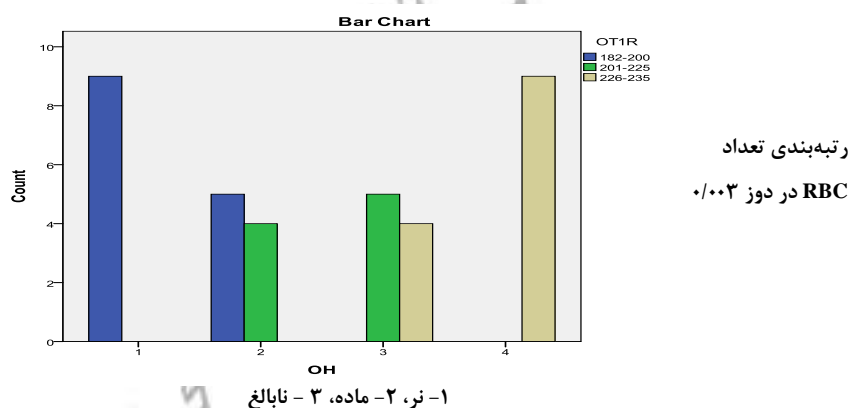
**طریقه خون‌گیری و تهیه بافت از ماهیان:** از گروه شاهد‌ها و تیمارها پس از گذشت ۴۸، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۶۸ ساعت از تزریق به‌همراه تکرارهایشان به‌صورت تصادفی در سه گروه نر و ماده و نابلغ از هر مخزن ۳ ماهی برداشته شد و پس از بی‌هوش کردن با عصاره گل‌میخک (۱:۵۰۰۰) آن‌ها را خارج کرده (مهرابی، ۱۳۷۸) و قسمت دمی هر یک را با حوله کاملاً خشک کرده و به‌صورت معمولی و از پهلو بر روی میز گذاشته و از طریق قطع ساقه دمی خون‌گیری انجام پذیرفت (کلباسی، ۱۳۷۸). سپس یک قطره را روی لام نئوبار درحالی‌که یک لام سنگی روی آن بود، قرار داده و پس از ثابت شدن سلول‌ها با بزرگ‌نمایی ۴۰، گلبول‌های قرمز را در ۵ خانه ۱۶ تایی از ۲۵ خانه ۱۶ تایی (۴) خانه از خانه‌های ۴ گوشه لام‌نئوبار و یک خانه مرکزی) لام نئوبار



به شکل ۱، بررسی تعداد RBCها و جنسیت (نر، ماده، نابالغ) با زمان انجام شد.

جدول ۱: مقایسه بین RBCها در غلظت‌های مختلف با میزان آن در شاهد (آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه)

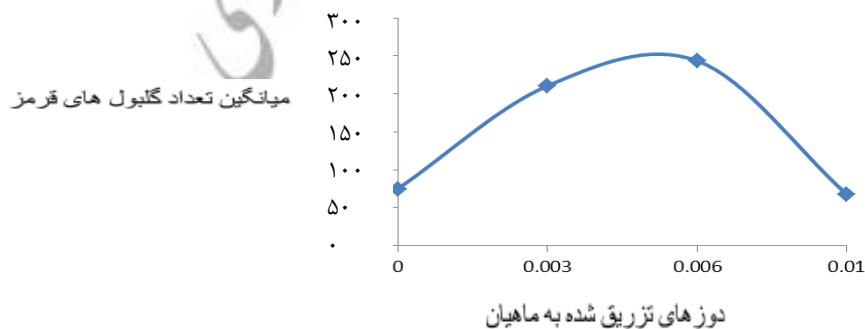
ارزش آزمون = ۷۵						
اختلاف در سطح ۹۹٪		انحراف از معیار	Sig.(2- tailed)	درجه آزادی	زمان	تیمارها براساس غلظت‌های مختلف
حد بالا	حد پایین					
۱۴۴/۲۱	۱۲۷/۱۳	۱۳۵/۶۶۷	۰/۰۰۰	۳۵	۴۳/۲۶۴	۰/۰۰۳
۱۷۲/۰۷	۱۶۵/۳۰	۱۶۸/۶۳۹	۰/۰۰۰	۳۵	۱۳۳/۷۰۹	۰/۰۰۶
-۳/۹۱	-۱۱/۰۳	-۷/۴۷۲	۰/۰۰۰	۳۵	-۵/۷۱۹	۰/۰۱
-۰/۱۴	-۱/۰۸	-۰/۴۷۲	۰/۰۴۲	۳۵	-۲/۱۱۲	شاهد



شکل ۱: بررسی تعداد RBCها (محور عمودی) در غلظت ۰/۰۰۳ با جنس نر، ماده و نابالغ

میانگین تعداد RBC در هر غلظت: در ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم در لیتر، میانگین RBC افزایش یافته است (نانو ذره به‌عنوان عنصر ضروری عمل کرده است) اما در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، میانگین RBC کاهش یافته است (نانو ذره به‌عنوان عنصر سمی عمل کرده است). با توجه به شکل زیر، منحنی میانگین تعداد RBC حداکثر به ۲۵۰ عدد رسیده است.

بررسی مقایسه‌ای بین تمام RBCها در همه غلظت‌ها با سه عامل جنسیت (نر، ماده، نابالغ)، زمان و میزان غلظت در تعامل با هم: دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد و نسبت به دو عامل جنسیت و دوز توأم با هم دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد. در جنسیت و زمان، تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۹٪ مشاهده شد. بین غلظت و زمان، تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۹٪ مشاهده شد. اما بین جنس و غلظت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۲: میانگین تعداد RBCها در غلظت‌های ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۱



Xiaoshan و همکاران (۲۰۰۸) به منظور مطالعه اثرات زیست محیطی نانو ذرات اکسید آهن بر روی موجودات آبی، در مراحل اولیه زندگی (zebrafish) *Danio rerio* تأثیر نانو اکسید آهن را بر جنین این ماهی بررسی کردند. نتایج نشان داد که  $\leq 10$  میلی گرم/لیتر از نانو ذرات اکسید آهن، باعث مسمومیت، مرگ و میر، تاخیر خروج از تخم و بدشکلی جنین می شود. اما در آزمایش فوق نشان داده شد که نانو اکسید آهن باعث افزایش گلبول های قرمز خون می گردد. همچنین این نانو ذره نقش موثری بر بالغین داشت و باعث پرخونی در آن ها گردید. در ضمن پیشنهاد می شود که تأثیر نانو اکسید آهن در غلظت  $0/005$  به عنوان مؤثرترین غلظت در ماهی کپور، نیز استفاده از نانو اکسید آهن، به روش حمام دادن یا خوراکی در آبزیان مورد بررسی قرار گیرد.

در تحقیق دیگری، نشان داده شد با در معرض گذاری کوتاه مدت، توسط فلزات سنگین، پارامترهای گلبول های قرمز خون افزایش می یابد. اما در نهایت سیستم سلول های قرمز خون دچار کم خونی می گردند. تأثیر کوتاه مدت فلزات سنگین اساساً سبب افزایش این شاخص های خونی می شود، که این، موجب یک تغییر در سیستم های تنظیم مبادله یونی می شود که می تواند pH را کاهش داده و حجم سلول های قرمز و سپس درصد هماتوکریت را افزایش دهد. پس طبق یک مسیر فیزیولوژی آدرنالین رها شده و موجب انقباض طحال و آزادسازی سلول های قرمز، از این عضو به جریان خون شوند. اما تراکم بالای فلز آهن و تأثیر طولانی مدت، معمولاً شاخص های خونی را کاهش می دهد (غلامیان، ۱۳۸۳). در آزمایشات فوق عکس این حالت نشان داده شد، یعنی با افزایش نانو اکسید آهن گلبول های قرمز نیز افزایش یافتند.

Devlin و همکاران (۲۰۰۶) مطالعات بافت شناسی روی کپور ماهیان تازه به دنیا آمده در آزمایشگاه راه، تحت تأثیر غلظت های ۵۰ و ۳۰ PPb متیل جیوه قرار دادند، که نشان دهنده عوارض ناشی از در معرض قرار گرفتن جیوه پس از گذشت ۴۸ ساعت بوده است، که در مقایسه با تحقیق حاضر زمان بروز عوارض در ماهی کپور معمولی نیز پس از گذشت ۴۸ ساعت از تزریق نانو اکسید آهن بوده است.

## منابع

۱. وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۶. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۳۴ تا ۴۸.

در این تحقیق، مقایسه شمارش گلبول های قرمز، قبل از تزریق با ذرات نانو اکسید آهن (گروه شاهد) و بعد از تزریق، نشان داد که میانگین تعداد گلبول های قرمز، قبل از تزریق ۷۵ عدد و بعد از تزریق حداکثر به ۲۵۰ عدد رسیده است، که این نشان دهنده این است که نانو اکسید آهن در غلظت های  $0/003$  و  $0/006$  بیشترین تعداد گلبول قرمز را در زمان ۷ روز (۱۶۸ ساعت) و کمترین آن را در زمان ۴۸ ساعت داشته است. اما در دوز  $0/01$  تعداد گلبول ها رفته رفته کم می شود و حدوداً به ۵۳ عدد می رسد (در غلظت  $0/003$  و  $0/006$  نانو ذره به عنوان عنصر ضروری عمل کرده است، اما در غلظت  $0/01$  نانو ذره به عنوان عنصر سمی عمل کرده است) و تعداد آن حدوداً به ۵۰ عدد رسیده است و بیشترین تعداد گلبول قرمز مربوط به جنس نر بوده است و در بالغین نیز مؤثرتر از نابالغین بوده است.

## بحث

با پیشرفت تکنولوژی، آلودگی های محیط هم افزایش یافته است که در اثر نزولات جوی و یا ورود پساب های صنایع مختلف به جریانات رودخانه ها و دریا، شاهد آلودگی روزافزون منابع آبی بوده و با وجود انجام تحقیقات فراوان در مورد آسیب شناسی فلزات سنگین، روی ساختار کبد و خون در ماهیان مختلف، تعداد تحقیقات روی آثار نانو اکسید آهن محدود بوده است، بنابراین در این مطالعه بررسی اثر فلز نانو اکسید آهن بر گلبول های قرمز ماهی *Cyprinus carpio* در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته است.

هدف از انجام این تحقیق معرفی ماده ای به جای آهن بود تا بتواند کم خونی را جبران کند در این تحقیق، مقایسه شمارش گلبول های قرمز قبل از تزریق با ذرات نانو اکسید آهن (گروه شاهد) و بعد از تزریق، نشان داد که میانگین تعداد گلبول های قرمز قبل از تزریق ۷۵ عدد و بعد از تزریق حداکثر به ۲۵۰ عدد رسیده است که این نشان دهنده این است که نانو اکسید آهن در غلظت های  $0/003$  و  $0/006$  بیشترین تعداد گلبول قرمز را در زمان ۱۶۸ ساعت و کمترین آن را در زمان ۴۸ ساعت داشته است. اما در غلظت  $0/01$  تعداد گلبول ها رفته رفته کم می شود و حدوداً به ۵۳ عدد می رسد (در غلظت  $0/003$  و  $0/006$  نانو ذره به عنوان عنصر ضروری عمل کرده است، اما در آزمایش فوق ذرات نانو اکسید آهن باعث افزایش گلبول های قرمز می شود و هرچه زمان می گذرد بر تعداد آن ها افزوده می شود. در تحقیق دیگری



۲. ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی عمومی (۱) تشریح و فیزیولوژی. دانشگاه گیلان. انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ صفحه.
۳. پوستی، ا. و مروستی، ع.، ۱۳۷۸. اطلس بافت‌شناسی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۱۵۹ تا ۲۴۹.
۴. نوری، ع.، ۱۳۹۰. اثر نانو ذرات اکسید آهن در موش‌های باردار و تکوین گندهای نر بالغ. پایان‌نامه دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم و تحقیقات تهران. صفحات ۳۲ تا ۸۵.
۵. مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بی‌هوشی پودر گل میخک (*Syzygium aromaticum*) بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۴۲. صفحات ۱۶۰ تا ۱۶۲.
۶. کلباسی، م.، ۱۳۷۸. تهیه کاربوتایپ کرومومی از جنین، لارو و Fry، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. طرح پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس. ۶۸ صفحه.
۷. خدمتگزار، م.، ۱۳۹۱. تأثیر سمی نانو ذرات تیتانیا بر بافت کبد، کلیه و خون بچه‌ماهی آزاد. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. صفحات ۲۴ تا ۲۶.
۸. غلامیان، س.، ۱۳۸۳. بررسی اثرات سمی مس بر بافت کبد و اندازه‌گیری پروتئین تام و برخی آنزیم‌های سرم خون در ماهی کپور معمولی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. صفحات ۲۴ تا ۴۳.
9. **Delvin, E., 2006.** Acute toxicity, uptake and histopathology of aqueous methyl mercury to fathead minnow mbryos. *Ecotoxicology*. Vol. 5, pp: 97-110.
10. **Salata, O.V., 2004.** Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology*. Vol. 2, No. 3, pp: 1-6.
11. **Berry, C.C.; Wells, S.; Charles, S. and Curtis, A.S.G., 2003.** Dextran and Albumin derivatised iron oxide nano particles: influence on fibroblasts in vitro. *Biomaterials*. Vol. 24, pp: 4551-4557.
12. **Kim, J.S.; Yoon, T.J.; Yu, K.N.; Kim, B.G.; Park, S.J. and Kim, H.W., 2006.** Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice. *Toxicol Sci*. Vol. 89, No. 1, pp: 338-47.
13. **Xiaoshan, Z.; Shengyan, T. and Zhonghua, C., 2008.** Toxicity Assessment of Iron Oxide Nanoparticles in Zebrafish (*Danio rerio*) Early Life Stages. *J. Environ. Sci. Health*. Vol. 43, pp: 278-284.



## Iron oxide nanoparticles of different concentrations of red blood cells of fish *Cyprinus carpio*

- **Faezeh Rezaei\***: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran
- **Shahla Jamili**: Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O.Box: 14155-6116, Tehran, Iran
- **Fariborz Ehteshami**: Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O.Box: 14155-6116, Tehran, Iran
- **Ali Mashinchian Moradi**: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran
- **Mojtaba Shahidian Namghi**: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran

Received: June 2013

Accepted: November 2013

**Keyword:** Iron oxide nanoparticles, CBC, Physiological parameters, Red blood, *Cyprinus carpio*

### Abstract

Due to the growing production and usefulness of magnetic nanoparticles in biological systems, so far fewer studies on the effects of these substances in living bodies have been. Determining factors of anemia and CBC in addition to any organism as a physiological index is important in diagnosis can help us. 200 numbers of common carp weighing 100 g were obtained from the Caspian Sea into the bucket with a capacity of 80 liters. In this study, the effects of three doses of iron oxide nanoparticles (0.01, 0.003, 0.006 mg/litr) along with control (no iron oxide nanoparticles) after time (48, 96, 120, 168 hours) the red blood cells of fish *Cyprinus carpio* was. Results showed that the mean number of red blood cells in a dose treatments of 0.003 and 0.006 increase. But a dose of 0.01 red blood cells is reduced and the largest number of red blood cells in a dose of 0.003 and 0.006 was observed after 168 hours, the number of red blood cells in the control group, the number 75 has been reported, but at a dose of 0.003, 0.006 to 210 has risen to 250. Has increased by approximately 75% (approximately 3 times the number of red blood cells), but a dose of 0.01, 60 is the number of red blood cells. The effect of iron oxide nanoparticles on the male than the female and immature fish were more females.

