



بررسی تاثیر عناصر مس، روی و آلمینیوم بر شاخص‌های انعقاد و فیبرینولیز

عبدالرحیم آبسالان^۱، طاهره وکیلی^۲، بمانعلی جلالی خانآبادی^{۳*}

۱- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

۲- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

۳- دانشیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۲۹

چکیده

مقدمه: سکته قلبی، یکی از عمدترین علل مرگ و میر در جوامع مختلف، با تشکیل لخته در شریان‌های کرونر قلب ایجاد شده که اقدامات لازم برای لیز نمودن سریع لخته نقش مهمی در درمان بیماران دارد، برخی گزارشات حاکی از تداخل برخی عناصر در تشکیل و لیز لخته می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر سه عنصر آلمینیوم، روی و مس بر فرآیند تشکیل و لیز شدن لخته در شرایط خارج بدن بوده است.

روش بررسی: در این مطالعه کارآزمایی آزمایشگاهی پلاسمای سیتراته تازه از افراد سالم و ناشتا تهییه و مخلوط شد، سپس پلاسمای مخلوط به چهار گروه برای تاثیر روی، مس، آلمینیوم و گروه شاهد تقسیم گردید. برای القای انعقاد از کلرور کلسیم و برای لیز لخته از آنزیم استرپتوکیناز کمک گرفته شد و فرآیند انعقاد و لیز لخته به روش کدورت سنجدی و با تعیین تغییرات جذب نوری پیگیری و با رسم منحنی کینتیکی کمیت‌های زمان تاخیر انعقاد، زمان تاخیر در شروع لیز شدن و زمان لازم برای نیمه لیز شدن لخته محاسبه گردید. برای آنالیز داده‌ها از ویرایش ۱۱ نرمافزار SPSS و تست t مستقل استفاده و ارزش آماری مساوی یا کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج: در مقایسه با شاهد، افزودن روی زمان تاخیر انعقاد($216/8 \pm 4/4$ در برابر $229/2 \pm 2/6$ ثانیه، $P=0/001$) و افزودن مس زمان انعقاد را کاهش دادند($194/4 \pm 3/7$ در برابر $280 \pm 3/5$ ثانیه، $P=0/001$). افزودن آلمینیوم در مقایسه با شاهد، زمان تاخیر در شروع انعقاد($563/6 \pm 8/8$ ثانیه، $P=0/001$ ، زمان تاخیر در شروع فیبرینولیز($194 \pm 3/6$ ثانیه، $P=0/001$ ، زمان انعقاد(484 ± 7 ثانیه، $P=0/001$) و زمان لازم برای نیمه لیز شدن لخته($328 \pm 6/1$ ثانیه، $P=0/001$) را افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهند که عناصر کمیاب ضروری نظیر روی و مس در غلظت‌های پایین تاثیر قابل توجهی بر سیستم انعقاد و فیبرینولیز ندارند، در حالی که آلمینیوم به عنوان یک عنصر سمی حتی در غلظت‌های بسیار پایین نیز در فرآیندهای فوق تداخل ایجاد نموده و آنها را به مقدار زیادی مهار می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: انعقاد، فیبرینولیز، استرپتوکیناز، عناصر کمیاب

*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۳۵۱-۸۲۰۴۱۰، پست الکترونیکی: bajalali@yahoo.com

مقدمه

انعقاد و فیبرینولیز در خارج از بدن بوده است.

روش بورسی

مطالعه از نوع کارآزمایی آزمایشگاهی است جهت بررسی تاثیر عناصر مس، روی و آلمینیوم بر فرآیند انعقاد و فیبرینولیز ابتدا نمونه پلاسمای از حدود ۵۰ فرد ظاهرًا سالم و بدون داشتن مشکلات انعقادی (طبیعی بودن آزمون های انعقادی زمان پرتوembien و زمان نسبی ترومبوپلاستین) جمع آوری گردید. برای این کار از افراد داوطلب در شرایط ناشتا ۹/۵ میلی لیتر خون تهیه و با ۰/۵ میلی لیتر محلول سیترات سدیم ۰/۱۳ مولار مخلوط و بلا فاصله به کمک سانتریفیوژ (۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، پلاسمای از سلول ها جدا شد. پس از روی هم ریختن نمونه ها، پلاسمای مخلوط به چهار گروه برای تاثیر دادن روی، مس، آلمینیوم و گروه کنترل تقسیم شد. برای هر گروه آزمون های کینتیک انعقاد و فیبرینولیز پنج بار تکرار و نتایج یادداشت شد. برای اجرای فرآیند انعقاد و فیبرینولیز در شرایط مختلف به یک لوله آزمایش ۳۰۰ میکرولیتر پلاسمای، ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات حاوی کلرور سدیم (بافر فسفات ۲۰ میلی مولار حاوی ۱۰۰ میلی مولار کلرور سدیم و $\text{PH}=7/4$) و ۲۵ میکرولیتر محلول استرپتوكیناز Herber Biotech (معادل ۴۵ واحد آنزیم تهیه شده از شرکت Biotech) اضافه و پس از مخلوط نمودن به مدت ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه قرار داده شد. سپس به محتویات لوله فوق ۵ میکرولیتر محلول کلرور کلسیم ۲ مولار اضافه و پس از ۵ ثانیه مخلوط نمودن، بلا فاصله به کوت اسپکتروفوتومتر (اسپکتروفوتومتر دوپرتوی Perkin-Elmer مدل 505S) منتقل و تغییرات جذب نوری آن علیه شاهد (محلول بافر فسفات حاوی کلرور سدیم) در طول موج ۴۰۵ نانومتر و هر ۱۰ ثانیه یکبار یادداشت شد. در مورد گروه های ۱، ۲ و ۳ قبل از افزودن کلرور کلسیم تا غلظت نهایی ۱٪ مولار از عناصر روی، مس و آلمینیوم اضافه گردید. تغییرات جذب نوری ابتدا افزایش (به علت انعقاد) و سپس سیر نزولی داشت (به علت لیز شدن لخته) و یادداشت نمودن جذب تا رسیدن تغییرات جذب نوری به صفر

سکته قلبی عمده ترین عامل مرگ و میر در اغلب کشورها می باشد (۱). اگرچه بروز و پیشرفت آتروواسکلروز در شریان های کرونر امکان وقوع سکته قلبی را افزایش می دهد، با این حال تشکیل لخته خون و پایداری آن عمده ترین علت نهایی انسداد شریان و بروز سکته قلبی بوده و در نتیجه فراهم نمودن اقدامات مناسب برای لیز نمودن به موقع و موثر لخته در بیماران مبتلا از اهمیت زیادی برخوردار می باشد (۲). برای لیز نمودن لخته و درمان بیماران مبتلا به ترومبوуз از فعال کننده های پلاسمینوژن و از آن جمله تزریق آنزیم استرپتوكیناز استفاده می شود (۳). استرپتوكیناز آنزیمی است که توسط یک نوع استرپتوكوک بتا-همولیتیک تولید شده، و پس از اتصال به پلاسمینوژن یا پلاسمین، فعال شده و پلاسمینوژن بیشتری را به پلاسمین تبدیل و از این طریق امکان لیز شدن لخته خون را فراهم می نماید (۴). برخی از مطالعات نشان داده اند که یون های فلزی ممکن است فرآیند فیبرینولیز را تحت تاثیر قرار دهند (۵). Andrew و همکاران اثر نیکل را بر روی سیستم فیبرینولیز در مجاری هوایی انسان مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیده اند که عنصر فوق بر سیستم فیبرینولیز تاثیر بازدارنده دارد (۶)، و از طرف دیگر Yang و همکاران در مطالعه دیگری تاثیر تسهیل کننده مس را بر نوعی سیستم فیبرینولیز مشاهده نمودند (۷). امروزه استفاده از آنزیم های محرك فیبرینولیز بطور وسیعی برای درمان ترومبووز و از همه بیشتر سکته قلبی مورد استفاده قرار می گیرد و از طرف دیگر فرآیند فیبرینولیز در شرایط مختلف ممکن است تحت تاثیر عناصر فلزی قرار گیرد. برخی از عناصر فلزی نظیر روی و مس بطور طبیعی در مایعات بدن وجود دارند و برخی دیگر نظیر نیکل و آلمینیوم ممکن است در شرایط مسمومیت وارد بدن شوند. بدین ترتیب مشخص بودن تاثیر عناصر فلزی بر سیستم انعقاد و فیبرینولیز به فرآیند درمان در این زمینه کمک می نماید. با توجه به محدود بودن اطلاعات مربوط به تاثیر عناصر فلزی بر سیستم انعقاد و فیبرینولیز، هدف از طراحی و اجرای این مطالعه بررسی تاثیر سه عنصر روی، مس و آلمینیوم بر فرآیند

حدودی بالاتر از غلظت‌های فیزیولوژیک باشند و در واقع در محدوده‌ای انتخاب شده است که مسمومیت با عنصر مربوطه ایجاد شود ولی منافاتی با ادامه حیات فرد نداشته باشد.

نتایج

پس از آنالیز داده‌ها مشخص شد که روی، زمان تاخیر در شروع انعقاد را کاهش داده و مس، باعث کاهش زمان انعقاد شده است. دو عنصر فوق بر روی سایر پارامترهای مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری نداشتند و آلومینیوم هر چهار شاخص مورد مطالعه را افزایش داد. جزئیات نتایج به دست آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

در جدول ۱، نتایج چهار پارامتر انعقاد و فیبرینولیز در غیاب و حضور غلظت $1/000$ مولار عناصر روی، مس و آلومینیوم مقایسه شده است. در حضور روی، زمان تاخیر برای شروع انعقاد کاهش یافته و حضور مس باعث کاهش زمان انعقاد شده است و همچنین حضور آلومینیوم منجر به افزایش هر چهار پارامتر مورد مطالعه شده است.

ادامه یافت. جهت تعیین شاخص‌های انعقاد و فیبرینولیز، تغییرات جذب نسبت به گذشت زمان با استفاده از نرم افزار Excell گردید و با استفاده از منحنی کینتیکی بدست آمده پارامترهای کمی انعقاد شامل زمان تاخیر برای شروع انعقاد(ثانیه) و زمان لازم برای انعقاد کامل(ثانیه) و همچنین پارامترهای کمی فیبرینولیز شامل زمان تاخیر برای شروع فیبرینولیز(ثانیه) و زمان لازم برای نیمه لیز شدن(ثانیه) محاسبه گردید. برای هر یک از شرایط چهارگانه حضور سه عنصر مورد بررسی و شاهد آزمایش پنج بار تکرار و میانگین شاخص‌ها محاسبه و گزارش گردید. قبل از آنالیز نمونه‌های مورد مطالعه در یک روز کاری و با استفاده از پلاسمای مخلوط فرآیند انعقاد و فیبرینولیز در شرایط فراهم شده پنج بار تکرار و ضریب تغییرات برای زمان تاخیر انعقاد $/6/7$ ٪، زمان تاخیر فیبرینولیز $/1/8$ ٪، زمان انعقاد $/9/2$ ٪ و برای زمان لازم برای نیمه لیز شدن لخته $/9/8$ ٪ به دست آمد. از ویرایش ۱۱ برنامه نرم‌افزاری SPSS و آزمون t مستقل برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید و ارزش آماری مساوی یا کمتر از $0/05$ معنی‌دار تلقی شد.

لازم بذکر است غلظت‌ها به گونه‌ای انتخاب شدند که تا

جدول ۱: مقایسه پارامترهای انعقاد و فیبرینولیز در حضور عناصر روی، مس و آلومینیوم در مقایسه با شاهد(میانگین \pm SD)

بدون دخالت (شاهد)	در حضور روی	در حضور مس	در حضور آلومینیوم
$2/6 \pm 229/2$ زمان تاخیر انعقاد(ثانیه)	$4/4 \pm 216/8$	$3 \pm 228/2$	$8/8 \pm 563/6$ ($P=0/001$)
	$(P=0/001)$	$(P=0/059)$	
$3/6 \pm 130/4$ زمان تاخیر لیز شدن(ثانیه)	$4/8 \pm 128/4$	$3/8 \pm 128/2$	$3/6 \pm 194$ ($P=0/001$)
	$(P=0/048)$	$(P=0/038)$	
$3/5 \pm 280$ زمان انعقاد(ثانیه)	$4/2 \pm 285/2$	$3/7 \pm 194/4$	7 ± 484 ($P=0/001$)
	$(P=0/07)$	$(P=0/001)$	
$2/6 \pm 225/8$ زمان نیمه لیز(ثانیه)	$3 \pm 221/2$	$3/6 \pm 221/6$	$6/1 \pm 328/4$ ($P=0/001$)
	$(P=0/06)$	$(P=0/07)$	

بحث

که آلومینیوم در چنین شرایطی در فرآیندهای انعقاد و فیبرینولیز تداخل ایجاد نموده و آنها را کند می‌کند. روی و

نتایج این مطالعه نشان داد که روی و مس بر شروع و تداوم فرآیند انعقاد در خارج بدن نقش تسهیل کننده دارند، در حالی

مس تاثیر بیشتری بر فیبرینولیز داشته است(۱۳).

نتایج این مطالعه نشان دادند که در حضور آلمینیوم زمان تاخیر در شروع انعقاد، زمان انعقاد، زمان تاخیر در شروع فیبرینولیز و همچنین زمان لازم برای نیمه لیز شدن لخته افزایش یافته است. این مشاهدات نشان دهنده اثرات مهار کنندگی آلمینیوم در شروع و تداوم فرآیندهای تشکیل و حل شدن لخته به کمک آنزیم استرپتوكیناز می‌باشد. Kaushik و همکاران یک مورد مسمومیت با فسفات آلمینیوم را گزارش کردند که منجر به سکته قلبی شده است(۱۴). از آنجایی که فرآیندهای انعقاد و فیبرینولیز در بروز سکته قلبی دخالت دارند، احتمالاً آلمینیوم با مداخله در فرآیندهای فوق منجر به بروز سکته قلبی می‌شود. Gupta و همکاران نیز دو مورد مسمومیت با آلمینیوم را گزارش نموده اند که در یک مورد خونریزی و اختلال در سیستم انعقادی دیده شده است(۱۵). از طرفی Arvidsson و همکاران در یک مطالعه تجربی و در خارج از بدن قابلیت‌های اتصال عناصر سنگین از جمله آلمینیوم را بر سطح برخی از فاکتورهای انعقادی بررسی نموده و به این نتیجه رسیده‌اند که این عناصر به صورت اختصاصی به سطح برخی از این فاکتورها می‌چسبند(۱۶). نتایج مطالعه حاضر و مطالعات مشابه نشان دهنده تداخل آلمینیوم در فرآیندهای انعقاد و فیبرینولیز می‌باشد و به نظر می‌رسد که این تداخل‌ها به علت اتصال آلمینیوم به بعضی از فاکتورهای دخیل در فرآیندهای انعقاد و فیبرینولیز باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهند که عناصر کمیاب ضروری نظیر روی و مس در غلظت‌های نزدیک به بیولوژیک تاثیر قابل توجهی بر سیستم انعقاد و فیبرینولیز ندارند، در حالی که آلمینیوم به عنوان یک عنصر سمی حتی در غلظت‌های بسیار پایین در فرآیندهای فوق تداخل ایجاد نموده و آنها را به مقدار زیادی مهار می‌نماید. به نظر می‌رسد که علت تداخل آلمینیوم در مراحل انعقاد و فیبرینولیز اتصال فلز به سطح برخی از فاکتورهای پروتئینی دخیل در این مراحل باشد، با این حال برای روشن شدن مکانیسم این تداخلات انجام مطالعات بیشتری ضرورت دارد.

مس از جمله عناصر کمیاب ضروری برای بدن انسان بوده و کم و بیش در بافت‌ها و مایعات مختلف بدن وجود دارند، در حالی که تا به حال برای آلمینیوم نقش بیولوژیکی شناخته نشده و از آن به عنوان یک عنصر سمی یاد می‌شود(۸).

اگرچه نتایج این مطالعه تاثیر روی بر فرآیند فیبرینولیز را تایید نمی‌کند، ولی برخی از مطالعات (۱۰،۹) نقش تسهیل کنندگی این عنصر را در لیز نمودن لخته مورد تایید قرار داده‌اند. Husain در یک مطالعه نشان داده است که افزودن روی در شرایط خارج از بدن لیز شدن لخته را تسهیل نموده است(۹)، البته در مطالعه فوق برای فعال نمودن پلاسمینوژن و تحریک لیز نمودن لخته آنزیم یوروکیناز بکار برد شده است، در حالی که در مطالعه حاضر برای این منظور از آنزیم استرپتوكیناز استفاده شده است.

اگرچه در این مطالعه روی بر فرآیند لیز لخته تاثیری نشان نداده، ولی زمان شروع انعقاد را کوتاه نموده و به عبارتی انعقاد را تسريع نموده است. نقش تحریک کننده روی در مرحله انقاد در برخی از مطالعات دیگر نیز تایید شده است. Marx در یک مطالعه تجربی in-vitro نشان داد که روی با اتصال به ترومین فرآیند انعقاد را تسهیل می‌نماید(۱۰) و در مطالعه دیگری وی و همکارانش نقش روی را در پلی میریزه نمودن فیبرین و در نتیجه تسريع نمودن انقاد از این طریق اثبات نمودند(۱۱)، بنابراین روی به عنوان یک عنصر ضروری و موجود در مایعات بدن می‌تواند در شرایط و غلظت‌های مختلف بر فرآیند انقاد و فیبرینولیز تاثیرات مختلفی داشته باشد.

در این مطالعه مس نیز بدون تاثیر بر سیستم فیبرینولیز باعث کوتاه شدن زمان انقاد شده و به عبارتی اثر تسهیل کننده بر فرآیند انقاد داشته است. در خصوص تاثیر مس بر مراحل انقاد و فیبرینولیز در خارج از بدن مطالعات چندانی صورت نگرفته است، بیشتر مطالعات در این زمینه مربوط به اثرات ابزارهای داخل رحمی جلوگیری از بارداری و از جنس مس و یا پیتیدهای سنتز شده بوده است(۷،۱۲) و Larsson و همکاران تاثیر ابزار داخل رحمی از جنس مس و پلاستیک را در رت بر فرآیند فیبرینولیز مقایسه نموده و نتیجه گرفته‌اند که

منابع:

- 1- Arzamendi D, Benito B, Tizon-Marcos H, Flores J, Tanguay JF, Ly H, et al. *Increase in sudden death from coronary artery disease in young adults.* Am Heart J 2011; 161(3): 574-80.
- 2- Burke AP, Virmani R. *Pathophysiology of acute myocardial infarction.* Med Clin North Am 2007; 91(4): 553-72.
- 3- Hoylaerts M, Rijken DC, Lijen HR, Collen D. *Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator.* J Biol Chem 1982; 257(6): 2912-19.
- 4- Cederholm-Williams SA, Cock FD, Lijnen HR, Collen D. *Kinetics of the reactions between streptokinase, plasmin and α2- antiplasmin.* Eur J Biochem 1979; 100(1): 125-32.
- 5- Marx PF, Buma BN. *Role of zinc ion in activation and inactivation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor.* Biochemistry 2002; 41(4): 1211-16.
- 6- Andrew A, Barchowsky A. *Nikel-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression inhibits the fibrinolytic activity of human airway epithelial cells.* Toxicol Appl Pharmacol 2000; 168(1): 50-7.
- 7- Yang M, Cui G, Xhao M, Wang C, Wang L, Liu H, et al. *The effects of complexation of Cu (II) with P6A peptide and its analogs on their thrombolytic activities.* Int J Pharm 2008; 362(1-2): 81-7.
- 8- Shah F, Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Baig JA, Shah AQ, et al. *Evaluation of status of trace and toxic metals in biological samples of normal and anemic children of two groups.* Biol Trace Elel Res 2011; 141(1-3): 131-49.
- 9- Husain SS. *Fibrin affinity of urokinase-type plasminogen activator. Evidence that Zn²⁺ mediates strong and specific interaction of single -chain urokinase with fibrin.* J Biol Chem 1993; 268(12): 8574-79.
- 10- Marx G. *Zinc binding to fibrinogen and fibrin.* Arch Biochem Biophys 1988; 266(1): 285-88.
- 11- Marx G, Hopmeier P. *Zinc inhibits FPA release and increases fibrin turbidity.* Am J Hematol 1986; 22(4): 347-53.
- 12- Gaslen B, Astedt B. *Fibrinolytic activity of uterine fluid in IUD users.* Acta Obstet Gynecol Scand 1981; 60(1): 59-62.
- 13- Larsson B, Liedholm P, Astedt B. *Effect of copper and plastic intra-uterine devices on the fibrinolytic activity of the endometrium in the rat.* Int J Fertil 1975; 20(3): 145-50.
- 14- Kaushik RM, Kaushik R, Mahajan SK. *Sunendocardial infarction in a young survivor of Aluminum phosphide poisoning.* Hum Exp Toxicol 2007; 26(5): 457-60.
- 15- Gupta MS, Mehta L, Chugh SN, Malhotra KC. *Aluminum phosphide poisoning. two cases with rare presentation.* J Assoc Physicians Ind 1990; 38(7): 509-10.
- 16- Arvidsson S, Askendal A, Tengval P. *Blood plasma contact activation on silicon, titanium and aluminum.* Biomaterials 2007; 28(7): 1346-54.

Evaluation the Effects of Copper, Zinc and Aluminum on Plasma Coagulation and Fibrinolysis Indices

Absalan A(MSc)¹, Vakili T(MSc)², Jalali-khanabadi BA(PhD)^{*3}

^{1,2,3}Department of Biochemistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 19 May 2010

Accepted: 6 Jan 2011

Abstract

Introduction: Myocardial infarction as a leading cause of death in most populations is associated with blood clot formation in coronary artery, and rapid clot lysis is important for patient treatment. Some reports have indicated the effects of some trace elements on blood coagulation and clot lysis. The aim of this study was to evaluate the effects of zinc, copper and aluminum on in-vitro coagulation and clot lysis by streptokinase.

Methods: The citrated fasting fresh-pooled plasma prepared from healthy individuals was divided to zinc, copper, aluminum and control groups. Calcium chloride and streptokinase were used for induction of plasma coagulation and Fibrinolysis, respectively. Clot formation and lysis were monitored turbidimetrically, and quantitative parameters including lag time for coagulation, clot lysis, time of coagulation and time for half lysis were calculated after plotting a kinetic curve of time versus absorbance. SPSS software and independent t-test were used for statistical analysis.

Results: In comparison with control, addition of zinc reduced lag time of coagulation(216.8 ± 4.4 vs 229.2 ± 2.6 sec, $P= 0.001$) and copper reduced coagulation time(194.4 ± 3.7 vs 280 ± 3.5 sec, $P= 0.001$). Addition of aluminum increased lag time for coagulation(563.6 ± 8.8 Sec, $P= 0.001$), lag time for clot lysis(194 ± 3.6 sec, $P= 0.001$), coagulation time(484 ± 7 sec, $P= 0.001$), and time for half lysis of clot (328.4 ± 6.1 sec, $P=0.001$).

Conclusion: Results indicated that essential trace elements including zinc and copper at low levels do not have important effects on coagulation and fibrinolysis, but aluminum as a toxic element affects these processes and partially inhibits them even at very low levels.

Keywords: Blood Coagulation; Fibrinolysis; Streptokinase; Trace Elements

This paper should be cited as:

Absalan A, Vakili T, Jalali-khanabadi BA. ***Evaluation the effects of copper, zinc and aluminum on plasma coagulation and fibrinolysis indices.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 19(3):323-8.

***Corresponding author:** Mobile: 09131538066, Email: javadmosavi60@yahoo.com