

## مطالعه تأثیر کلرفنیرامین در بیهوشی موش سوری با پروپوفول

شاهین حاجی قهرمانی<sup>۱\*</sup>

### چکیده

مقدمه: پروپوفول یکی از داروهای بیهوشی تزریقی است که به عنوان سداتیو در اعمال جراحی به صورت گسترده استفاده می‌شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی فعالیت ضد دردی کلرفنیرامین و مقایسه آن با مرفین و فنتانیل (داروهای مخدر) در بیهوشی داخل صفاقی موش‌های سوری با پروپوفول است.

روش بررسی: ۴۰ سر موش سوری بالغ نر به چهار گروه تقسیم شدند. بیهوشی با تزریق داخل صفاقی ترکیبات مختلف القاء شد که شامل گروه‌های زیر بودند: گروه یک (نرمال سالین و پروپوفول)، گروه دو (کلرفنیرامین و پروپوفول)، گروه سه (مرفین و پروپوفول) و در نهایت گروه چهار (فنتانیل و پروپوفول).

نتایج: زمان بیهوشی جراحی در گروه یک ( $12/7 \pm 3/5$ ) کمتر از گروه‌های دو ( $23/3 \pm 4/4$ )، سه ( $25/2 \pm 6/5$ ) و چهار ( $3/7 \pm 27/4$ ) بود ( $P < 0/05$ ). درجه درد پنجه پا در گروه اول ( $2/7 \pm 0/5$ ) با گروه دوم ( $1/8 \pm 0/7$ ) اختلاف آماری معنی‌دار داشت. درصد مهار گروه دوم ( $53/97$ ) بیشتر از گروه اول ( $37/31$ ) و کمتر از گروه سوم ( $88/73$ ) و چهارم ( $84/06$ ) بود. میزان تنفس در کلیه گروه‌ها نسبت به مقدار پایه تنفس عادی ( $148/9 \pm 6/3$ ) کاهش معنی‌دار داشت.

نتیجه‌گیری: بر پایه نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که داروهای مخدر مرفین و فنتانیل در ترکیب با پروپوفول بی‌دردی و بیهوشی خوبی را در موش سوری ایجاد می‌کنند. در مقایسه با مرفین و فنتانیل، اثرات بی‌دردی کلرفنیرامین ضعیف‌تر است. بنابراین کلرفنیرامین (آنتاگونیست  $H_1$ ) می‌تواند در موش سوری به عنوان داروی ضد درد و پیش‌بیهوشی در اعمال جراحی که نیاز به ضد درد قوی نیست استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: کلرفنیرامین، پروپوفول، بیهوشی، داخل صفاقی، موش سوری، بی‌دردی

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران  
\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۴۱۵۹۳۷۲۴، پست الکترونیکی: hajjighahramani@uma.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۲۵

## مقدمه

حس درد پاسخ یک قسمت و یا کل سیستم عصبی به تحریکات آسیب‌رسان است و شامل چهار روند فیزیولوژیک تبدیل، انتقال، تنظیم و درک سیگنال‌های عصبی است. درد هنگام وقوع آسیب بافتی، ایجاد و باعث می‌شود فرد واکنشی جهت حذف محرک دردآور انجام دهد (۱). میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا سالانه تحت عمل جراحی قرار می‌گیرند ولی نگرانی وجود درد در حین و بعد از عمل جراحی از مسائلی و مشکلات اساسی هست. داروهای مسکن پیوسته، جایگاه ویژه و اساسی را در فهرست داروها دارند؛ سعی بر این است که داروهایی با خاصیت تسکین درد قوی و فاقد اثرات اعتیادآوری و عوارض ناخواسته (مانند دپرسیون تنفسی) تولید شود و تحقیقات برای یافتن ترکیبات جدید ضد درد از دهه ۱۹۶۰ با سرعت و جدیت بیشتری شروع شده است (۲). یکی از موارد مورد نیاز برای ایجاد بیهوشی متعادل در انسان و حیوانات دست‌یابی به حالت بی‌دردی در طی دوره بیهوشی و طول عمل جراحی است. در راستای رفع مشکلات دوره بیهوشی و دست‌یابی به تسکین درد مناسب بعد از دوره جراحی ترکیبات وابسته به آنتاگونیست  $H_2$  و  $H_1$  هیستامینی مثل سایمتیدین یا کلرفنیرامین به عنوان داروی ضد درد قوی مطرح شده‌اند (۳،۴).

داروهای اپیوئید به ویژه مرفین کارایی بالایی در تسکین درد دارند ولی استفاده مکرر از مرفین باعث کاهش تدریجی اثرات آن می‌شود به طوری که برای رسیدن به همان تأثیر، فرد به مقدار بیشتری از آن ماده نیاز پیدا می‌کند (۵).

اخیراً آنتی‌هیستامین‌ها به عنوان عوامل کاهش‌دهنده درد مورد توجه قرار گرفته‌اند چون برخی از آنتی‌هیستامین‌های مهارکننده گیرنده  $H_1$  هیستامین در مدل‌های درمانگاهی و پیش‌درمانگاهی درد، اثر کاهش‌دهنده درد از خود نشان داده‌اند (۶). مطالعات اخیر نشانگر اثر ضد‌دردی یا افزایش بی‌دردی ناشی از مرفین توسط آنتی‌هیستامین‌ها هستند. تکرار دوز آنتی‌هیستامین‌های آنتاگونیست  $H_1$  مانند دیفن‌هیدرامین، پرومتازین یا پیریلامین در موش سوری سبب کاهش اثر یا بروز مقاومت نشده و با سهولت همانند داروهای ضد درد مرفین یا

اپیوئیدهای دیگر ایجاد بی‌دردی نموده است (۷،۸).

اثر هیستامین مغزی در کاهش درد ممکن است به طور غیر مستقیم از طریق تداخل با سایر میانجی‌های عصبی از جمله اپیوئیدها انجام بگیرد، چون تزریق عمومی مرفین باعث آزاد شدن هیستامین در ناحیه خاکستری دور قنات سیلویوس شده است و مطرح کرده‌اند که بخشی از اثر کاهش درد ناشی از مرفین می‌تواند در ارتباط با فعال شدن هیستامین نورونی مغز باشد. تزریق داخل مغزی دوزهای پائین هیستامین سبب ایجاد اثر هایپرآلجریک در گیرنده‌های پیش‌سیناپسی می‌شود. تزریق هیستامین به هسته میانی رافه آستانه درد را پائین می‌آورد. آگونیست‌های گیرنده پیش‌سیناپسی  $H_3$  آستانه درد را پائین آورده و آنتاگونیست‌های پیش‌سیناپسی  $H_3$  مانند تیوپرامید سبب ایجاد بی‌دردی می‌شوند.

نظرات مختلف دیگر در مورد اثرات تسکینی آنتی‌هیستامین‌ها و ایجاد بی‌دردی از طریق تأثیر بر سوپراسپینال لوسی مغز وجود دارد. همچنین گیرنده  $H_1$  محیطی هیستامین در ایجاد واکنش‌های درد نقش دارد. هیستامین محیطی فیبرهای عصبی منتقل‌کننده درد را تحریک می‌کند و موجب آزاد شدن نوروپپتیدهای مربوط به درد می‌شود. بیان شده که گیرنده‌های  $H_1$  هیستامین در واکنش‌های موضعی، انتقال و درک درد نقش دارند. وقتی که سلولی آسیب می‌بیند هیستامین ترشح شده و سبب ایجاد درد، گشادی عروق ناحیه و تورم شده و این تأثیرات با ترشح ماده P آشکار تر و متعاقباً موجب ترشح بیشتر هیستامین از ماست سل‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد که در زمان تزریق آنتی‌هیستامین‌ها گیرنده‌های هیستامینی به صورت پیش‌سیناپسی فعال شده و سبب مهار ترشح هیستامین می‌شوند و این یکی از روش‌ها و مکانیسم‌های مهار درد ناشی از هیستامین‌ها است. از طرف دیگر آنتی‌هیستامین‌ها تأثیر ماده P را نیز از طریق ممانعت در ترشح هیستامین‌ها تخفیف می‌دهند (۶).

از داروهای مخدر آگونیست می‌توان به مرفین اشاره کرد. این دارو مشتق اصلی تریاک بوده، به عنوان شاخص برای مقایسه اثر ضد درد دیگر ترکیبات در نظر گرفته شده است. مرفین بیشتر با

دیگر همانند ترکیبات اپیوئیدی به آن از عوارض ناخواسته پروپوفول کم شده است ولی به جهت اینکه هم پروپوفول و هم داروهای مخدر در افزایش دوز سبب تضعیف سیستم تنفسی می‌شوند و از طرفی چون به خاصیت ضد دردی آنتاگونیست‌های هیستامینی در مقالات مختلف اشاره شده است از ترکیب پروپوفول با کلرفنیرامین در این تحقیق به عنوان یک ترکیب سداتیو استفاده شد (۱۰،۱۲،۱۳).

قابل ذکر است که با توجه به اثبات تأثیر آنتاگونیست‌های هیستامینی HI بر بخش سوپرااسپینال لوسی (۶) مطالعه حاضر با تدارک آزمون تلنرگرمی در موش سوری بیشتر بر مطالعه تأثیر کلرفنیرامین بر آستانه درد ناحیه نخاعی تأکید دارد.

### روش بررسی

در این مطالعه از ۴۰ سر موش سوری نر با وزن تقریبی (۳۳-۲۴ گرم) استفاده شد. حیوانات در قفس‌های جداگانه استاندارد با شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. دسترسی موش‌های مورد آزمایش به غذا و آب آزاد بود و از غذای پلیت آماده برای تغذیه موش‌ها استفاده شد. از یک دستگاه الکتروکاردیوگرافی (Burdick electrocardiograph, Sylmar, CA91342, USA)، چراغ مطالعه، دماسنج ماکزیمم-مینیمم جهت تنظیم دمای محیط نگهداری حیوانات و ترمومتر دیجیتالی (MT16A1, Microlife, Switzerland) استفاده شد. همچنین، داروهای مورد استفاده به شرح زیر بودند:

پروپوفول (Lipuro 1%-Propofol 10 mg/ml, B. Braun Melsungen, Germany)، کلرفنیرامین (Histadic, Chlorpheniramine 10mg/ml, Caspian, Iran)، مرفین (Morphine sulfate, 5 mg/ml, Darou pakhsh)، فنتانیل (Fentanyl pharmaceutical Co, Tehran, Iran) و فنتانیل سیترات (Fentanyl citrate, 0.5 mg/10ml, Caspian tamin pharmaceutical Co, Iran).

پس از یک هفته سازش با محیط جدید به طور تصادفی موش‌ها به چهار گروه مساوی ۱۰ تایی تقسیم شدند. نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شده و

گیرنده‌های میو متصل شده، با افزایش انتقال پتاسیم یا کاهش جریان کلسیم در سطح سلولی سبب کاهش فعالیت عصب مربوطه خواهد شد. مرفین از راه سیستم اعصاب مرکزی بی‌دردی، آرام‌بخشی و خواب‌آلودگی را سبب می‌شود. دیگر اثرهای مرفین بر روی سیستم اعصاب مرکزی عبارت از ایجاد تهوع و استفراغ، تضعیف مرکز تنفسی، رفلکس سرفه و تنگی مردمک چشم است. مقادیر درمانی مرفین تأثیر چندانی روی فشارخون و برون ده قلبی ندارد؛ اما با افزایش تون عصب واگ به کاهش ضربان قلب می‌انجامد.

فنتانیل دارای اثر آگونیستی کامل یا نسبی بر روی گیرنده است. فنتانیل اثرات خود را از طریق واکنش با گیرنده میو در دستگاه عصبی مرکزی اعمال می‌کند. فنتانیل نیز همانند مرفین اثراتی همانند ضعف تنفسی، تنگی مردمک و برادی کاردی دارد (۹).

داروهای بسیاری در فیزیولوژی و فارماکولوژی وجود دارد که به منظور تغییر فعالیت دستگاه عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این داروها شامل بیهوش کننده‌ها، آرام‌بخش‌ها، مسکن‌ها، ضد دردها، ضد تشنج‌ها و محرک‌ها هستند (۹). به منظور بررسی کامل‌تر و بهتر این قبیل داروها از جمله داروهای پیش بیهوشی، ضرورت بررسی خواص ضد دردی برخی از داروها مانند آنتی‌هیستامین‌ها وجود دارد. با عنایت به خاصیت ضد دردی کم داروی بیهوشی پروپوفول در بدن (۱۰،۱۱)، نیاز به استفاده از داروهای ضد درد مانند مرفین و فنتانیل ضرورت پیدا می‌کند (۱۰) که سبب تضعیف تنفسی و علائم ناخواسته دیگر در صورت مصرف بیش از حد می‌شود (۱۲).

با توجه به مطالب فوق، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر ضد دردی کلرفنیرامین در تزریق داخل صفاقی بر بیهوشی موش سوری و مقایسه آن با اثرات بی‌دردی ناشی از مرفین و فنتانیل (با تزریق داخل صفاقی پروپوفول) مورد بررسی قرار می‌گیرد که در نهایت امکان کاهش دوز داروی بیهوشی پروپوفول و کاهش خطرات ناشی از بیهوشی را فراهم خواهد کرد. نظر به ریکاوری سریع در استفاده از پروپوفول برای سدیشن یا بیهوشی عمومی و عدم آلودگی اتمسفر به آلاینده‌های بیهوشی، با افزودن داروهای

کار با حیوانات مطابق دستورالعمل نگهداری و اصول اخلاقی استفاده از حیوانات آزمایشگاهی طبق استاندارد موردنظر انجام شد.

موش‌ها توسط ترازوی آزمایشگاهی با دقت یک گرم به صورت جداگانه وزن شدند و محاسبه حجم داروی مورد نظر با توجه به دوز مورد نظر و وزن حیوان انجام شد. به گروه اول نرمال سالین در حجم ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم و ۳۰ دقیقه بعد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروپوفول داخل صفاقی تزریق گردید. در گروه دوم ابتدا کلرفنیرامین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شده (۱۵-۱۳) و ۳۰ دقیقه بعد داروی بیهوشی پروپوفول با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی تجویز شد. در گروه سوم ترکیب مرفین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۳۰ دقیقه بعد پروپوفول (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) داخل صفاقی تزریق شد؛ در گروه چهارم ترکیب فنتانیل (۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۳۰ دقیقه بعد پروپوفول (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) داخل صفاقی تزریق شد (۱۸-۱۶، ۱۱).

شمارش تعداد تنفس با مشاهده مستقیم حرکات شکم و قفسه سینه در هنگام دم و بازدم انجام شد. تعداد تنفس طبیعی در موش‌های سوری قبل از تزریق دارو در قفس شمارش می‌شد. برای اندازه‌گیری تعداد ضربان قلب و مشاهده آریتمی قلبی از دستگاه الکتروکاردیوگرافی استفاده شد. دستگاه الکتروکاردیوگرافی روی حساسیت ۲ میلی‌ولت و سرعت ۵۰ میلی‌متر بر ثانیه، روی اشتقاق یک تنظیم و سپس کالیبره شد. برای کنترل دقیق تغییرات دمای بدن موش‌ها در طول بیهوشی، ترمومتر دیجیتالی به پارافین آغشته شده و داخل رکتوم حیوان قرار داده شد (۱۹، ۲۰).

پاسخ حیوان به درد از صفر تا ۴ امتیازبندی شده بود. به طوری که عدم واکنش به درد درجه صفر و پاسخ شدید به درد، در حد پاسخ به هنگام هوشیاری حیوان، درجه ۴ بود (۱۹، ۲۱). واکنش پنجه پا از طریق فشردن نسج بین انگشتان پا با پنس ساده پلاستیکی صورت می‌گرفت. این پنس در قسمت میانی دارای دو برآمدگی بود و امکان بسته شدن کامل پنس وجود نداشت (شکل ۱). بدین نحو استفاده مکرر آن هیچ گونه آسیبی را به نسج پنجه پا نمی‌رساند. برای ارزیابی درد حاد در موش‌های

بیهوش شده در گروه‌های مختلف از واکنش مربوط به درد پنجه پا و آزمایش تلنجر دم (آزمون پس کشیدن دم) با دستگاه مورد نظر (مدل M-T ۹۵۰۰، کمپانی برج صنعت، ایران) استفاده شد. زمان تابش محرک درد را به قسمت شکمی دم (اشعه مادون قرمز دستگاه با شدت متوسط ۵۰) به مدت ۴-۳ ثانیه بود. فاصله زمانی بین شروع تحریک و زمان پس کشیدن دم به عنوان زمان تأخیر پس کشیدن دم ثبت و یادداشت شد. در صورت عدم واکنش حیوان ۱۲ ثانیه بعد از شروع تابش اشعه دستگاه به صورت خودکار جهت جلوگیری از آسیب به بافت دم قطع می‌شد. زمان پایه پس کشیدن دم در کلیه گروه‌ها تعیین شد. آزمایش تلنجر دمی ۱۰ دقیقه قبل از القای بیهوشی داخل صفاقی و ۱۰ دقیقه بعد از القای بیهوشی در هر گروه انجام گرفته و نتایج ثبت شد (۲۲). کلیه ارزیابی‌ها توسط یک فرد آزمایشگر که از گروه‌های آزمایش اطلاع نداشت صورت گرفت.

شلی عضلانی از طریق مشاهده سفتی، شلی یا اسپاسم عضلات ناحیه دم، واکنش پنجه پا در هنگام فشردن نسج بین انگشتان و مشاهده عضلات ناحیه سینه در هنگام دم و بازدم به صورت کیفی بررسی شده و ثبت شد (۱۱، ۱۶، ۱۹، ۲۰).

در این تحقیق فاصله زمانی بین تزریق دارو تا از بین رفتن رفلکس تعادل به عنوان زمان القاء بیهوشی ثبت شد. فاصله زمانی از بین رفتن رفلکس تعادل تا بازگشت مجدد آن طول دوره بیهوشی بود. بیهوشی جراحی مدت زمان از بین رفتن واکنش درد پنجه پا تا بازگشت مجدد آن بود و فاصله زمانی از بین رفتن رفلکس تعادل تا توانایی مجدد حیوان به راه رفتن بعد از بیهوشی به عنوان زمان راه رفتن تعریف شد (۱۹).

بررسی آماری:

کلیه بررسی‌های آماری داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از نرم‌افزار آماری اسپ‌اس‌پی‌اس (SPSS Version 19, Micromaster Inc, Richboro, PA, USA) انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری، تمام داده‌ها به صورت  $Mean \pm SEM$  (Standard error of mean) بیان گردید.

درصد حداکثر خاصیت ضد دردی (Maximum possible effect) در هر مورد با فرمول زیر محاسبه شد (۲۲):

$$\%MPE = \frac{(\text{زمان بعد از تزریق} - \text{زمان پایه})}{\text{زمان پایه} - 12 \text{ ثانیه}} \times 100$$

آنالیز آماری داده‌های پارامتریک (زمان القاء یا شروع بیهوشی، طول دوره بیهوشی) با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد و به عنوان تست پشتیبان، از تست تو کی در صورت لزوم استفاده شده و در سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  بیان شدند. از تست آماری آنالیز واریانس اندازه‌گیری مکرر جهت مقایسه داده‌های فیزیولوژیک (ضربان قلب، تعداد تنفس و دمای بدن) استفاده شد.

### نتایج

هر کدام از ترکیب یا ترکیبات دارویی مورد استفاده در هر چهار گروه، ایجاد بی‌حرکتی کامل نموده و رفلکس تعادل حداکثر در عرض  $6/3 \pm 0/6$  دقیقه بعد از تزریق داروی بیهوشی از بین رفت. القا بیهوشی در ترکیب پروپوفول بسیار کند بود و با ترکیب‌های مرفین- پروپوفول و فنتانیل- پروپوفول اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۱). زمان القاء در گروه‌های دوم، سوم و چهارم از نظر آماری متفاوت نبودند ( $P > 0/05$ ). تمام ترکیب یا ترکیبات بیهوشی، شلی عضلانی مناسب و کافی را تولید کردند. طول دوره بیهوشی، در گروه اول ( $28/2 \pm 9/6$ ) با دو گروه سوم ( $43/8 \pm 8$ ) و چهارم ( $42/1 \pm 6/5$ ) اختلاف معنی‌دار داشت.

( $P < 0/05$ ). مدت دوره بیهوشی در گروه‌های دوم، سوم و چهارم اختلاف معنی‌دار ندارند. تعداد موش‌هایی که در هر گروه به مرحله بیهوشی جراحی رسیدند در جدول ۱ مشخص شده است. تعداد موش‌هایی که به بیهوشی جراحی رسیدند در گروه اول ۷ موش از ۱۰ سر موش بود. طبق جدول ۱ طول مدت بیهوشی جراحی در گروه اول با سه گروه دیگر متفاوت بود ( $P < 0/05$ ). زمان مورد نیاز برای راه رفتن در گروه‌های سوم و چهارم بیشتر از گروه‌های اول و دوم بود ( $P < 0/05$ ). از میزان پاسخ به محرک‌های دردناک برای ارزیابی عمق بیهوشی و ارزیابی رفلکس‌های درد استفاده شد. رفلکس درد پنجه پا در گروه‌های اول ( $2/7 \pm 0/5$ ) دقیقه) و دوم ( $1/8 \pm 0/7$ ) دقیقه) با همدیگر و با گروه‌های سوم ( $0/9 \pm 0/2$ ) دقیقه) و چهارم ( $0/6 \pm 0/4$ ) دقیقه) اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۱)؛ به عبارت دیگر بی‌دردی در گروه‌های سوم و چهارم بیشتر از گروه‌های اول و دوم بود.

جدول ۲ تأثیر ترکیبات کلرفنیرامین، مرفین و فنتانیل را در آزمون تلنگر دمی در بیهوشی داخل صفاقی موش سوری با پروپوفول نشان می‌دهد. ترکیب پروپوفول با ترکیبات مورد آزمایش سبب افزایش معنی‌دار زمان آزمون تلنگر دمی در گروه‌های دوم، سوم و چهارم نسبت به گروه اول شد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۱: زمان القاء، طول دوره بیهوشی جراحی، طول دوره بیهوشی، زمان راه رفتن و رتبه درد پنجه در تزریق داخل صفاقی

گروه	ترکیب یا ترکیبات بیهوشی	زمان القاء	بیهوشی جراحی	دوره بیهوشی	زمان راه رفتن	درد پنجه پا
۱	پروپوفول و نرمال سالین	$6/3 \pm 0/6^a$	$12/7 \pm 3/5^a$ (۷)	$28/2 \pm 9/6^a$	$37/9 \pm 8/9^a$	$2/7 \pm 0/5^a$
۲	پروپوفول و کلرفنیرامین	$4/2 \pm 0/3^{ab}$	$23/3 \pm 4/4^b$ (۹)	$32/5 \pm 5/6^{ab}$	$37/7 \pm 4/6^a$	$1/8 \pm 0/7^b$
۳	پروپوفول و مرفین	$3/4 \pm 0/5^b$	$25/2 \pm 6/5^b$ (۱۰)	$43/8 \pm 8^b$	$52/7 \pm 2/9^b$	$0/9 \pm 0/3^c$
۴	پروپوفول و فنتانیل	$2/9 \pm 0/8^b$	$27/4 \pm 3/7^b$ (۹)	$42/1 \pm 6/5^b$	$56 \pm 3/8^b$	$0/6 \pm 0/4^c$

حروف لاتین مختلف در هر ستون از جدول نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف می‌باشند ( $P < 0/05$ ). اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد موش‌های سوری است.

جدول ۲: تأثیر ترکیب یا ترکیبات بیهوشی بر آزمون تلنگر دمی

گروه	ترکیب یا ترکیبات بیهوشی	قبل از بیهوشی (ثانیه)	بعد از بیهوشی (ثانیه)	درصد مهار
۱	پروپوفول و نرمال سالین	$5/3 \pm 0/6$	$7/8 \pm 0/8$	$37/31^a$
۲	پروپوفول و کلرفنیرامین	$5/7 \pm 0/8$	$9/1 \pm 0/6$	$53/97^b$
۳	پروپوفول و مرفین	$4/9 \pm 0/3$	$11/2 \pm 0/2$	$88/73^c$
۴	پروپوفول و فنتانیل	$5/1 \pm 0/5$	$10/9 \pm 0/4$	$84/06^c$

حروف لاتین مختلف در هر ستون از جدول نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف می‌باشند ( $P < 0/05$ ). اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد موش‌های سوری است.

(جدول ۳). در هیچ یک از موش‌های گروه‌های مختلف وقفه تنفسی (آپنه) بروز نکرد. در دقیقه ۱۰ بعد از تزریق داخل صفاقی ترکیب یا ترکیبات بیهوشی تعداد تنفس در گروه سوم

تعداد تنفس طبیعی در موش‌های سوری مورد آزمایش  $148/9 \pm 6/3$  قبل از القاء بیهوشی بود. تعداد تنفس به دنبال القا بیهوشی در کلیه گروه‌ها کاهش آشکاری را نشان داد

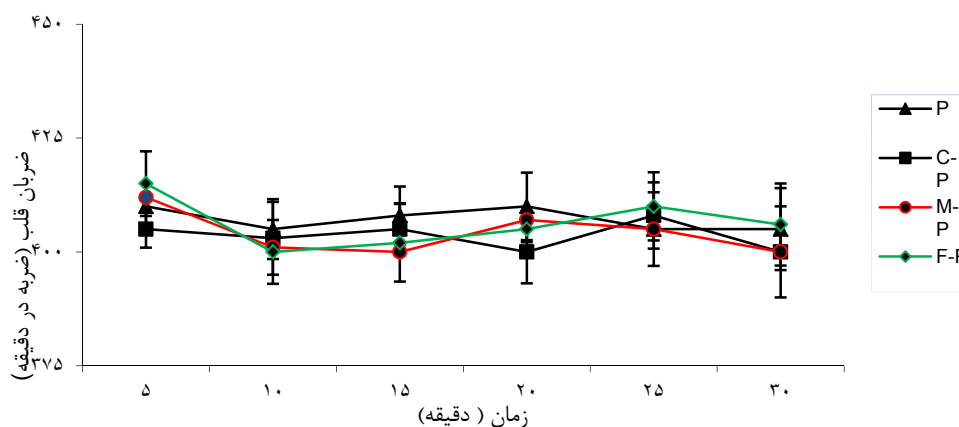
کمتر از گروه اول بود ( $P < 0.05$ ). در دقیقه‌های ۳۰ و ۲۵ نیز تعداد تنفس گروه ۱ بیشتر از سه گروه دیگر بود (جدول ۳).

جدول ۳: میزان تنفس (تعداد در دقیقه) در تزریق ترکیب یا ترکیبات بیهوشی (Mean  $\pm$  SEM)

دارو(ها)	زمان (دقیقه)					
	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰
پروپوفول و نرمال سالین	۱۰۵ $\pm$ ۶/۹	۹۹/۳ $\pm$ ۹/۱ <sup>a</sup>	۸۹/۷ $\pm$ ۶/۳	۷۹/۸ $\pm$ ۸	۹۳/۸ $\pm$ ۴/۳ <sup>a</sup>	۱۰۳/۸ $\pm$ ۱۰/۶ <sup>a</sup>
پروپوفول و کلرفنیرامین	۹۵/۷ $\pm$ ۱۲/۷	۸۴/۸ $\pm$ ۵/۶ <sup>ab</sup>	۷۸/۷ $\pm$ ۹/۶	۶۹/۶ $\pm$ ۳/۶	۷۳/۵ $\pm$ ۵/۲ <sup>b</sup>	۷۱/۵ $\pm$ ۳/۱ <sup>b</sup>
پروپوفول و مرفین	۸۹/۳ $\pm$ ۹/۷	۷۳/۵ $\pm$ ۷/۷ <sup>b</sup>	۸۰/۳ $\pm$ ۲/۴	۷۸/۴ $\pm$ ۴/۷	۶۹/۶ $\pm$ ۳/۵ <sup>b</sup>	۶۸/۷ $\pm$ ۹/۷ <sup>b</sup>
پروپوفول و فنتانیل	۹۰/۶ $\pm$ ۲/۴	۸۷/۶ $\pm$ ۸/۹ <sup>ab</sup>	۹۱/۶ $\pm$ ۸/۷	۶۸/۴ $\pm$ ۴/۵	۷۵/۳ $\pm$ ۶/۴ <sup>b</sup>	۷۰/۳ $\pm$ ۶/۵ <sup>b</sup>

حروف لاتین مختلف در هر ستون از جدول نشانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف می‌باشند ( $P < 0.05$ ). اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد موش‌های سوری است.

۱). بر اساس نمودار ۲ دمای بدن در طی بیهوشی در گروه‌های چهارگانه اختلاف معنی‌دار با همدیگر نداشت. هیچ‌گونه تلفاتی در موش‌های سوری در طی بیهوشی یا بعد از آن مشاهده نشد.



نمودار ۱: ضربان قلب در چهار گروه مورد آزمایش از موش‌های سوری

## بحث

با سیستم اپیوئیدی این عوامل بر سطح درد در مدل تون اپیوئیدی اندروژن افزایش یافته تأثیر دارند (۳۲،۳۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق داخل صفاقی کلرفنیرامین (آنتاگونیست  $H_1$  هیستامینی) با پروپوفول سبب افزایش خاصیت ضد دردی ترکیب بیهوشی مذکور در آزمون تنلگر دمی و رفلکس پنجه پا به محرک دردناک در موش‌های سوری می‌شود (جدول‌های ۱،۲). در مطالعات انجام شده در تزریق پرومتازین به تنهایی گزارش شده که دوز پائین پرومتازین (۵-۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب ایجاد درد می‌شود در حالی که در دوز (۲۰-۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب ظهور اثر بی‌دردی در

سیستم عصبی هیستامینرژیک نقش مهمی در کنترل درد دارد (۲۳-۲۴). در واقع مشخص شده است که رسپتورهای هیستامینی  $H_1$  که هم در محیط و هم در مرکز قرار دارند، نقش مهمی در تنظیم حس درد ایفا می‌کنند (۲۵،۲۶). بر همین اساس آنتاگونیست‌های رسپتور هیستامینی  $H_1$  در کنترل درد در انسان و حیوانات آزمایشگاهی دخالت دارند (۲۷،۲۸). این مواد سبب تعدیل بی‌دردی ناشی از اپیوئیدها می‌شوند (۲۹،۳۰). تداخل بین بی‌دردی ناشی از اپیوئیدها و هیستامین در مطالعات دیگری نیز مطرح شده است (۳۱-۳۳). با توجه به وجود رابطه عملکردی نزدیک بین آنتاگونیست‌های رسپتور هیستامینی  $H_1$

و قابل قبول عمل کرده‌اند (۶). در موش‌های صحرایی تزریق داخل صفاقی میپیرامین که آنتاگونیست  $H_1$  است، موجب کاهش درد ناشی از تزریق کف پائی فرمالین شده است (۳۵). از مرفین به عنوان داروئی استاندارد برای سنجش اثر کاهنده و یا ضد درد داروها و ترکیبات دیگر استفاده می‌شود؛ بنابراین داروی ضد درد ایده آل داروئی است که اثر مشابه مرفین در آزمون‌های درد ایجاد کند (۳۶). در تحقیق حاضر طی بیهوشی موش‌های سوری با ترکیب‌های مرفین- پروپوفول و فنتانیل- پروپوفول و کلرفنیرامین- پروپوفول در زمان القاء و طول مدت بیهوشی بین ترکیب‌های مذکور اختلاف معنی‌دار وجود ندارد؛ که این یافته‌ها در تأیید مطلب فوق است ولی مزیت ضد دردی ایجاد شده توسط آنتاگونیست‌های  $H_1$  هیستامینی در این است که علاوه بر ایجاد اثر مشابه مرفین در آزمون‌های ضد درد و بیهوشی موش سوری، اثرات جانبی و سوء‌اپیوئیدها از جمله بیبوست، تضعیف تنفس، تحمل داروئی و اعتیاد را ندارند (۳۶، ۳۷). اثرات آرام بخشی ملایم و حذف سریع باقی‌مانده داروئی کلرفنیرامین از طریق متابولیسم کبدی بیان شده و از طرف دیگر به دفع متابولیت‌های پروپوفول از طریق عضلات و بافت تنفسی علاوه بر کبد تأکید شده است (۱۷، ۱۸) به نظر می‌رسد که زمان حذف باقی‌مانده داروئی ترکیب کلرفنیرامین- پروپوفول از گروه‌های سوم و چهارم سریع‌تر باشد چرا که در این تحقیق کوتاهی زمان راه رفتن در گروه دوم نسبت به گروه‌های سوم و چهارم از مزیت‌های ترکیب بیهوشی کلرفنیرامین- پروپوفول به ترکیبات مرفین- پروپوفول و فنتانیل- پروپوفول محسوب می‌شود.

چنانچه ملاحظه می‌شود در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه تغییر معنی‌دار در تعداد ضربان قلب و دمای بدن اتفاق نیفتاده (نمودارهای ۱، ۲) که نشانگر عدم تأثیر ترکیبات مورد استفاده بر پارامترهای فیزیولوژیک یاد شده است؛ که یافته‌های حاضر منطبق با گزارش‌های موجود در مورد بیهوشی موش صحرایی با پروپوفول است (۱۹). گزارش شده که بیهوشی با پروپوفول به تنهایی می‌تواند سبب کاهش فشار خون شود و استفاده از یک ماده مخدر به عنوان پیش بیهوشی این مشکل را در طی بیهوشی مرتفع می‌کند (۱۷) البته در این مطالعه به علت

موش صحرایی می‌شود؛ که این امر به دلیل درگیری نوروترنسمیترهای مختلف در دوزهای متفاوت است (۲۲). در مطالعه پیشرو از دوز مورد استفاده در تحقیقات دیگر برای تعیین دوز تزریق داخل صفاقی کلرفنیرامین استفاده شد و همچنان که مشاهده می‌شود دوز مورد استفاده عملاً سبب مهار درد شده است (جدول‌های ۱، ۲). قابل ذکر است که در گزارش‌های دیگر نیز بر دوز بکار رفته در تحقیق حاضر تأکید شده بود (۱۵-۱۳). در برخی از مطالعات انجام یافته بر امکان بروز تضعیف تنفسی در استفاده از دوزهای بالای آنتی‌هیستامین‌های نسل اول تأکید شده است (۳۳، ۳۴). البته قابل ذکر است که تاکنون از ترکیب یک داروی آنتی‌هیستامینی با پروپوفول برای بررسی اثرات بیهوشی و مهار درد استفاده نشده است و با توجه به سازگاری فیزیکی ترکیب کلرفنیرامین- پروپوفول در داخل یک سرنگ و نظر به نتایج تحقیق حاضر می‌توان بیان داشت که از کلرفنیرامین می‌توان به عنوان ترکیب ضد درد ضعیف و یک داروی پیش بیهوشی در اعمالی که نیاز به بی‌دردی خفیف دارد بهره برد که طبق مطالعات انجام یافته بر روی داروهای آنتی‌هیستامینی، به دلیل فعالیت مهار دردی محیطی این داروها است، به عبارت دیگر آنتی‌هیستامین‌ها در مهار مرکزی درد توانائی کمتری دارند (۲۵، ۲۶). در گزارش دیگر نیز بیان شده که پریلامین و سایمتیدین در مهار درد فاز دوم درد فرمالینی مؤثر هستند (۳۵).

یافته‌های جدول ۲ و ۳ بیانگر ضعیف بودن خصوصیت بی‌دردی در ماده تزریقی پروپوفول در گروه اول است که مطالعات دیگر بر روی موش سوری با پروپوفول بیانگر این واقعیت است (۱۱، ۱۶).

نتایج موجود در این تحقیق در مورد افزایش زمان بیهوشی جراحی و رفلکس پنجه پا بیانگر افزایش آستانه تحمل به درد در ترکیب بیهوشی کلرفنیرامین- پروپوفول است؛ گرچه قدرت مهار درد در این گروه از گروه‌های سوم و چهارم کمتر است. یافته‌های حاضر منطبق بر یافته‌های سایر محققین در این مورد است (۳۳، ۳۴). اخیراً آنتی‌هیستامین‌ها به عنوان عوامل کاهش‌دهنده درد در نظر گرفته شده‌اند و برخی از آنتی‌هیستامین‌های مهارکننده گیرنده  $H_1$  هیستامین در این مورد به صورت مناسب

موش صحرایی با پروپوفول توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۱۰،۱۹).

### نتیجه‌گیری

داروهای مخدر مرفین و فنتانیل بی‌دردی مناسب و بیهوشی بسیار خوبی در ترکیب با پروپوفول ایجاد می‌کنند؛ اما با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان بیان داشت که کلرفنیرامین نیز در مقایسه با داروهای اپیوئیدی فوق دارای اثرات ضد دردی است که سبب ایجاد بی‌دردی یا افزایش آستانه درد در طناب نخاعی و اعصاب محیطی می‌شود. از طرف دیگر نظر به تأکید تحقیقات متعدد بر خاصیت بی‌دردی کلرفنیرامین (آنتاگونیست  $H_1$ ) باید اذعان داشت که بر طبق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر میزان بی‌دردی ناشی از تزریق کلرفنیرامین نسبت به داروهای مخدر مرفین و فنتانیل کمتر است و از آن در اعمال تحقیقاتی که انتظار درد کم وجود دارد می‌توان به عنوان پیش بیهوشی در موش سوری در ترکیب با پروپوفول استفاده نمود.

عدم دسترسی به دستگاه اخذ فشار خون مخصوص موش‌های سوری و صحرایی، امکان اندازه‌گیری و مقایسه فشار خون در گروه‌های مختلف و بررسی تغییرات شار خون در ترکیب پروپوفول با آنتی‌هیستامین‌ها وجود نداشت و به همین دلیل تنها به بررسی سیستم هدایت الکتریکی قلب، تعداد ضربان قلب و تغییرات آن اکتفا شد. شلی عضلانی مشاهده شده در هر چهار گروه مورد مطالعه به دلیل تأثیر پروپوفول و ایجاد شلی عضلانی توسط این ماده بیهوشی است (۱۰). یکی از مشکلات بیهوشی در موش سوری بروز هایپوترمی و هایپوکسی در طی بیهوشی است که در استفاده از پروپوفول و ترکیبات آن در تحقیق حاضر چنین مشکلی مشاهده نشد (نمودار ۲ و جدول ۳)؛ در گزارش‌های ارائه شده به وسیله آلوس و همکاران نیز تزریق داخل صفاقی پروپوفول سبب کاهش مرگ و میر ناشی از هایپوکسی و هایپوترمی در طی بیهوشی شده است (۱۰،۱۶). در جدول ۳ تعداد تنفس بعد از بیهوشی با پروپوفول نسبت به دوره قبل از بیهوشی کاهش معنی‌دار دارد که به خاطر تضعیف تنفسی توسط ترکیب پروپوفول است، این حالت در بیهوشی موش سوری و

### References:

- 1- Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Tanton BA. *Text book of physiology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Mosby 2004; 97-9.
- 2- Amours RHD, Ferrante FM. *Perioperative drugs and postoperative pain management*. Aesth Clin North Am 1997; 15(2): 251-68.
- 3- Goodwin SA. *A review of preemptive analgesia*. J perianesth nurs. 1998; 113(2): 109-14.
- 4- Gigliuto C and et al. *Pain assessment in animal models: Do we need further studies?* J Pain Res 2014; 7: 227-36.
- 5- Ekhtiari H, Behzadi A, Sadeqi M, et al. *Recognition and treatment of addiction*. 1<sup>st</sup> ed. Tehran: Arjomand Publish 2002; 14-31.
- 6- Raffa RB. *Antihistamines as analgesics*. J Clin Pharma Therap 2001; 26: 81-5.
- 7- Bergasa NV, Alling DW, Vergalla J, Jones EA. *Cholestasis in the male rat is associated with naloxone reversible antinociception*. J Hepatol 1994; 20: 85-90.

- 8- Namiranian K, Samini M, Mehr SE, Gaskari SA, Rastegar H, Homayoun H. *Mesentric vascular bed responsiveness in bile duct-ligated rats: Roles of opioid and nitric oxide systems*. Eur J Pharmacol 2001; 423: 185-93.
- 9- Fish, RE. *Pharmacology of injectable anesthetics*. In: Kohn, DF. (Eds.), *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. Sandiego: Academic Press; 1997; 1-28.
- 10- Shafer SL. *Advances in propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics*. J Clin Anesth 1993; 5(1): 14-21.
- 11- Alves H, Valentim AM, Olsson IAS, Antunes LM. *Intraperitoneal anaesthesia with propofol, medetomidine and fentanyl in mice*. Lab anim. 2009; 43: 27-33.
- 12- Borgbjerg FM, Nielsen K, Franksa J. *Experimental pain stimulates respiration and attenuates morphine-induced respiratory depression: a controlled study in human volunteers*. Pain 1996; 164: 123-28.
- 13- Winter JC. *Sedation and the Stimulus Properties of Antihistamines*. Pharmacol Biochem & Behav 1985; 22: 15-7.
- 14- Zendehtdel M, Torabi Z, Hassanpour S. *Antinociceptive mechanisms of Bunium persicum essential oil in the mouse writhing test: role of opioidergic and histaminergic systems*. Vet Med 2015; 60: 63-70.
- 15- Zendehtdel M, Taati M, Amoozad M, Hamidi F. *Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from Foeniculum vulgare in mice: the role of histamine H1 and H2 receptors*. Iran J Vet Res 2012; 13: 100-06.
- 16- Alves H, Valentim AM, Olsson IAS, Antunes LM. *Intraperitoneal propofol and propofol fentanyl, sufentanil and remifentanil combinations for mouse anaesthesia*. Lab anim 2007; 41: 329-36.
- 17- Flecknell P. *Laboratory animal anaesthesia*. 2nd ed. London: UK; Elsevier Academic Press; 1996. P. 7-73, 159-237.
- 18- Hau J, Van Hoosier Jr. GL. *Handbook of laboratory animal science*. Volume I, Essential Principles and practices. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press 2003; P. 112-315.
- 19- Hajighahramani S, Vesal N. *Evaluation of several drug combinations for intraperitoneal anaesthesia in adult male rats*. Iran J Vet Res 2007; 8; 106-15.
- 20- Simpson DP. *Prolonged (12 hours) intravenous anesthesia in the rat*. Lab Anim Sci 1997; 47(5): 519-23.
- 21- Clements JA, Nimmo WS. *Pharmacokinetics and analgesic effects of ketamine in man*. Br J Anaesth 1981; 53: 27-30.
- 22- Farshchi A., Ghiasi G., Khatabi PM., Farzaee H and Niayesh A. *Antinociceptive effect of promethazine in mice*. Iran J Med Sci 2009; 4(12): 140-45.

- 23- Onodera K, Yamatodani A, Watanabe T, Wada H. *Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders*. Prog Neurobiol 1994; 42: 685-702.
- 24- Mobarakeh JI, Sakurada S, Katsuyama M, Kuramasu A, Lin ZY, et al. *Role of histamine H<sub>1</sub> receptor in pain perception: a study of the receptor gene knockout mice*. Eur J Pharmacol 2000; 391: 81-9.
- 25- Yanai K, Mobarakeh JI, Kuramasu A, Sakurada S. *Role of histamine receptors in pain perception: a study using receptors gene knockout mice*. Nihon Yakurigaku Zasshi 2003; 122: 391-99.
- 26- Cannon KE, Hough LB. *Inhibition of chemical and low-intensity mechanical nociception by activation of histamine H<sub>3</sub> receptors*. J Pain 2005; 6: 193-200.
- 27- Ghelardini C, Galeotti N, Bartolini A. *No development of tolerance to analgesia by repeated administration of H<sub>1</sub> antagonists*. Life Sci 1998; 63: 317-22.
- 28- Pual VN, Chopra K, Kulkarni SK. *Histaminergic modulation of stress-induced analgesia and cognitive dysfunction*. Meth Find Exp Clin Pharmacol 2002; 24: 413-19.
- 29- Malec D. *The influence of histamine receptor antagonists on antinociceptive action of narcotic analgesics*. Pol J Pharmacol Pharm 1987; 39 :229-35.
- 30- Galeotti N, Ghelardini C, Bartolini A. *Antihistamine antinociception is mediated by Gi- protein activation*. Neurosci 2002; 109: 811-18.
- 31- Nishibori M, Oishi R, Itoh Y, Saeki K. *Morphine-induced changes in histamine dynamics in mouse brain*. J Neurochem 1985; 45: 719-24.
- 32- Suzuki T, Takamori K, Takahashi Y, Narita M, Misawa M, Onodera K. *The differential effects of histamine receptor antagonists on morphine- and U- 50, 488 H- induced antinociception in the mouse*. Life Sci. 1994; 54: 203-11.
- 33- Mobarakeh JI, Sakurada S, Hayashi T, Orito T, Okuyama K, Sakurada T, et al. *Enhanced antinociception by intrathecally-administered morphine in histamine H<sub>1</sub> receptor gene knockout mice*. Neuropharmacol 2002; 42: 1079-88.
- 34- Lamberti C, Bartolini A, Ghelardini C, Malberg- Aiello P. *Investigation into the role of histamine receptors in rodent antinociception*. Pharmacol. Bioch. & Beh 1996; 3(53): 567-74.
- 35- Ashmavi HA, Chambergo FS, Palmeira CCA, Posso IP. *The effect of pyrilamine and cimetidine on mRNA C- Fos expression and nociceptive flinching behavior in rats*. Anesth Analg 2003; 97: 541-46.
- 36- Rosow CE, Moss J, Philbin DM, Savarese JJ. *Histamine release during morphine and fentanyl anesthesia*. Anesth 1982; 56: 93-6.
- 37- Barke K.E, Hough LB. *Opiates, mast cells and histamine release*. Life Sci 1993; 53: 1391-99.

## *Study of the Effect of Chlorpheniramine in Mouse Anesthesia with Propofol*

*Shahin Hajighahramani (D.V.M., PhD)<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*

*Received:* 14 Jun 2016

*Accepted:* 4 Aug 2016

### *Abstract*

**Introduction:** Propofol is an injectable anesthetics, which is used as sedation in surgery operations. The aim of the present study was to investigate the analgesic activity of chlorpheniramine, and its comparison with morphine and fentanyl ( opioid agents) in intraperitoneal propofol anesthesia in mice.

**Methods:** 40 adult male mice were randomly assigned in 4 groups. Anesthesia was induced by intraperitoneal administration of different combinations including: group1 (Normal saline and propofol), group 2 ( chlorpheniramine and propofol), group 3 ( morphine and propofol) and finally group 4 (fentanyl and propofol).

**Results:** Time of surgical anesthesia in group 1 ( 12.7± 3.5) was shorter than group 2 (23.3 ±4.4) , group3 (25.2 ± 6.5), and group 4 (27.4± 3.7) (P < 0.05). Toe pinch score was significantly different in the first group (2.7± 0.5) and the second group (1.8 ± 0.7) (P < 0.05). Inhibition percentage in the second group (53.97) was more than first group (37.3) and it was ,also, less than third group (88.73) and fourth group (84.06) respectively. Significant decrease was observed in respiratory the rate from baseline values ( 148.9 ± 6.3) at all time points of anesthesia in all groups.

**Conclusion:** Based on the present results it is concluded that opioid agents (morphine and fentanyl) were induced good analgesic and anesthetic statues in combination with propofol in mice. Compared to morphine and fentanyl, chlorpheniramine analgesia is poor. Thus, chlorpheniramine ( H<sub>1</sub> antagonist) could be used in mice as analgesic and premedication agent in minor operations that there is no need to potent analgesics.

**Key words:** Chlorpheniramine; Propofol; Anesthesia; Intraperitoneal; Mouse; Analgesia

#### *This paper should be cited as:*

Hajighahramani Sh. *The study of the effect of chlorpheniramine in mouse anesthesia with propofol.* J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(4): 329-39.

*\*Corresponding author: Tel: +98 9141593724, Email: hajighahramani@uma.ac.ir*