

بررسی میزان مواد جهش‌زا در ادار کارکنان آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران: تست Ames

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: پیشگیری از بروز سرطان همچون تشخیص و درمان سرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. از آنجایی که برخی از ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی مانند بنزن، گزیلول و فرمالدئید جهش‌زا و سرطان‌زا بوده و پرسنل آزمایشگاهی که با این ترکیبات برای طولانی مدت کار می‌کنند ممکن است در ریسک ابتلاء به سرطان قرار داشته باشند لذا در این مطالعه آزمایشاتی که شرایط جهش‌زا بودن محیط را نشان دهد مدنظر قرار گرفت. **روش بررسی:** در این تحقیق ۵۷ نمونه ادار عصاره‌گیری شده پرسنل آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران به‌وسیله ستون C18 از طریق سوش‌های استاندارد TA100 و TA98 Ames، مورد آزمایش قرار گرفتند. برای هر نمونه از دو روش آزمایش همراه و بدون سیستم فعال‌کننده متابولیسم استفاده گردید تا مواد جهش‌زا و پیش‌جهش‌زا (پرو موتازون) شناسایی گرددند. **یافته‌ها:** نتایج مثبت جهش‌زا در بین نمونه‌های مورد آزمایش در یک مورد در روش بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم با استفاده از سوش‌های TA98 و دو مورد در روش همراه با سیستم فعال‌کننده متابولیسم و در مجاورت سوش‌های TA98 متعلق به پرسنل آزمایشگاه پاتولوژی مشاهده گردید. این دو فرد در طول هفته و ساعات طولانی در این بخش مشغول به کار بودند. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج مثبت آزمون جهش‌زا در این سری از آزمایشات می‌توان گفت که ریسک آسیب ژنتیکی از قبیل ابتلاء به سرطان در بخش پاتولوژی آزمایشگاه پاتولوژی پزشکی قانونی محتمل بوده و باید تمهیدات لازم مدنظر قرار گیرد. **نتیجه مثبت کاذب** با توجه به عدم حضور عوامل مداخله‌گر در کیس‌های مطرحه به احتمال بسیار زیاد متفقی می‌باشد.

کلمات کلیدی: جهش‌زا، تست Ames، پزشکی قانون.

علیرضا پرتواز^{*}

محمود قاضی خوانساری^۱

محمدحسن عابدی^۲، مهدی کاویانی^۲

سید مهدی نوراشرف الدین^۱

مجیدرضا بصیری^۱، مریم طالبی^۱

۱- گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه

علوم پزشکی تهران

۲- سازمان پزشکی قانونی تهران

* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان پورسینا،
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (گروه
فارماکولوژی) تلفن: ۰۶۴۰۲۵۶۹
email: partoazar@yahoo.com

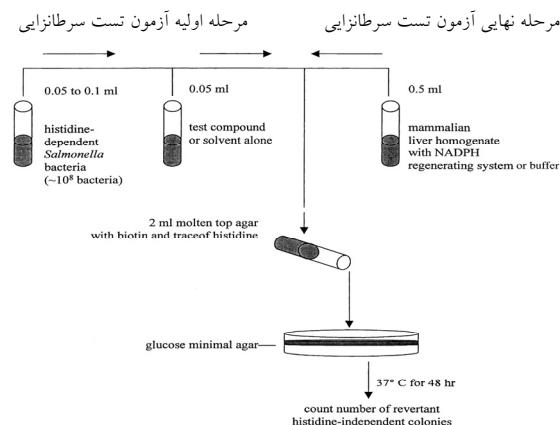
مقدمه

جهش‌زا در تست Ames می‌باشد که به عنوان آزمایشی حساس در تعیین جهش‌زا می‌باشد که شیمیایی، دارویی، صنعتی و بیومانیتورینگ محیط‌های کاری استفاده می‌گردد.^{۱-۲} در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی به علت کاربرد زیاد آلاینده‌های جهش‌زا مانند بنزن، گزیلول و فرمالدئید احتمال خطر ابتلاء به سرطان و یا انتقال ناهنجاری‌های ژنتیکی به نسل‌های بعد وجود دارد.^{۳-۴} لذا از آزمون Ames در بررسی میزان جهش‌زا محیط کاری آزمایشگاه‌های آن مرکز استفاده گردید.

روش بررسی

این بررسی یک مطالعه توصیفی بوده که در سال ۱۳۸۶ بر روی حدود ۵۷ نمونه ادار پرسنل (آزمایشگاهی و غیرآزمایشگاهی) آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران و در آخر هفته کاری جهت

در حال حاضر سه محور اصلی در مطالعات سرطان‌شناسی بر پیشگیری، تشخیص و درمان استوار است. در این میان پیشگیری سرطان از نظر صرفه‌جویی در هزینه‌های مالی ناشی از درمان بیماری و زمان طولانی دوره درمان و از طرفی جلوگیری از بروز تبعات فردی و اجتماعی ناشی از مرگ و میر بالای بیماری در کنترل سرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.^۱ از آنجایی که ترکیبات فراوانی وجود دارند که می‌توانند روی DNA اثر کرده و در نهایت منجر به جهش‌زا و سرطان‌زا شوند (حدود ۹۰٪ مواد جهش‌زا سرطان‌زا نیز هستند) شناسایی این ترکیبات در محیط زندگی و محل کار به شکل آلاینده‌های زیست محیطی گام موثری در پیشگیری از بیماری سرطان خواهد بود.^{۵-۶} یکی از مدل‌های مطرح و کاربردی جهت نشان دادن



شکل-۱: مراحل آزمایش ایمز (Ames)

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این سری از آزمایشات کارکنان بخش‌های مختلف آزمایشگاه پزشکی قانونی تهران بودند که طی هماهنگی قبلی نمونه اداری آخر هفته آنها جمع‌آوری و همراه پرسشنامه مربوطه به گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی تهران ارسال گردید. در مرحله اول، از نمونه‌های تهیه شده از کارشناسان و تکسین‌های آزمایشگاهی به عنوان گروه تست و کادر غیرآزمایشگاهی و اداری به عنوان گروه شاهد استفاده شد. عوامل مداخله‌گر احتمالی در آزمون مانند استعمال دخانیات، استفاده از داروهای خاص مانند داروهای شیمی‌درمانی، خوردن غذاهای کنسروی به میزان زیاد و نیز شرایط محیط زیست مثل مجاورت محل سکونت با مراکز تولید مواد شیمی‌ای و سمی از افراد از طریق پرسشنامه ارزیابی به عمل آمد و در نهایت جهت تفسیر نتایج در گروه تست و شاهد لحاظ گردید. از دو ماده سدیم آزاد در روش بدون سیستم فعال‌ساز و آمینو اتراسن در روش همراه با سیستم فعال‌ساز متabolism به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. همچنین از نمونه‌های پرستنل غیر آزمایشگاهی سازمان که به طور مستقیم در تماس مواد آزمایشگاهی نبودند همراه با DMSO برای کنترل منفی استفاده گردید (جدول ۱) و در نهایت میانگین نتایج ۱۰ نمونه در هر دو روش همراه و بدون سیستم فعال‌کننده متabolism به شکل کلی برگشتی در سطح پلیت در محاسبات به کار گرفته شد. همچنین محدوده رشد کلنی‌های برگشتی نمونه‌های گروه کنترل هر سوش با جدول رفانس مقایسه گردید تا در صورت وجود آلاینده‌های محیطی تداخل کننده و بالا بودن تعداد کلنی‌های برگشتی در گروه کنترل

دسترسی به حداقل غلظت آلاینده موجود در نمونه ایشان انجام شد، سپس با استفاده از ستون C18 شرکت واترز (آمریکا) از نمونه‌ها عصاره‌گیری به عمل آمد. نحوه نمونه‌گیری غیر ترموماتیک بوده و انجام آزمایش تحت شرایط *in-vitro* بر روی سوش‌های بی‌خطر و استاندارد سالمونلا صورت پذیرفت. مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش عمده‌تاً از شرکت مرك (آلمان) بوده و سوش‌های میکروبی استاندارد از مرکز کلکسیون میکروبی ایران تهیه گردید. در مرحله اول از دو سوش سالمونلا تایفی موریوم TA100، TA98 که از سوش‌های استاندارد در آزمون ایمز می‌باشد بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم استفاده گردید. سپس در مرحله بعد با استفاده از متد فعال‌سازی متابولیسم برای بررسی مواد پیش‌جهش‌زا بهره گرفته شد. برای انجام آزمایش ابتدا سوش‌های سالمونلا را در محیط کشت نوترینت براث غنی‌سازی نموده، سپس سوش‌ها را همراه نمونه در تاب آگارو محیط کشت حداقل گلوكز یا GM آگار در انکوباتور 37°C به مدت ۴۸-۷۲ ساعت قرار داده و پس از زمان یاد شده پلیت‌ها را برای شمارش کلنی‌های برگشتی بررسی می‌کنیم (شکل ۱). تمامی مراحل فوق برای انجام آزمایش سیستم فعال‌کننده متابولیسم با اضافه کردن 0.5 ml بافر S9 (رده سلولی کبد موش) به محلول قبلی تکرار گردید. در این روش با استفاده از فنوباربیتال سیستم آنزیمی میکروزو-مال موش را القا کرده و پس از یک هفته از طریق جراحی کبد حیوان هیستیدین باکتری‌های سالمونلا تغییراتی ایجاد نموده‌اند این سوش‌ها در محیط بدون هیستیدین قادر به رشد نبوده و در صورتی که ماده‌ای جهش‌زا باشد باعث ترمیم نقص به وجود آمده در آن ژن خاص می‌گردد و در نتیجه به علت به دست آوردن توانایی تولید مجدد هیستیدین، سوش‌ها قادر به رشد و تکثیر می‌شوند.^۳ در آزمون Ames نتایج از کسر تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه به تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه کنترل منفی به دست می‌آید. در این تست نمونه‌ای مثبت تلقی می‌گردد که نسبت (Ratio) آن بیشتر از دو برابر باشد.^۳ در اتمام کار نتایج حاصله با توجه به معیار و فرمول رایج آن به شرح زیر آنالیز شدند.

$$\text{Ratio} = \frac{\text{تعداد کلنی‌های نمونه}}{\text{تعداد کلنی کنترل منفی}}$$

نمونه مثبت: نسبت بزرگتر و یا مساوی با دو، نمونه منفی: نسبت کوچکتر از دو

جدول-۱: نتایج گروه کنترل آزمون جهش‌زایی نمونه‌های کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با استفاده از سوش‌های TA98 و TA100 همراه با و بدون استفاده از فعال‌ساز

شمارش کلی سوش TA98		شمارش کلی سوش TA100		گروه کنترل
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
۲۵	۲۶	۶۵	۸۶	مذکور
۲۷	۲۳	۷۲	۱۰۶	مذکور
۲۱	۲۶	۷۷	۱۰۰	مذکور
۲۴	۱۹	۷۵	۸۵	مذکور
۲۵	۲۲	۶۸	۸۸	مذکور
۲۴	۲۱	۶۵	۹۸	مذکور
۲۹	۲۳	۸۵	۹۵	مذکور
۲۰	۲۰	۸۵	۹۱	مونت
۲۸	۲۴	۸۶	۱۰۲	مونت
۲۴	۱۸	۷۶	۹۸	مونت
۲۴/۷ (~ ۲۵)	۲۲/۲ (~ ۲۲)	۷۵/۴ (~ ۷۵)	۹۴/۹ (~ ۹۵)	میانگین*

* مقادیر داخل پرانتز، رند شده با یک رقم اعشار می‌باشد.

جدول-۲: نتایج آزمون جهش‌زایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با سوش‌های TA100 همراه با و بدون استفاده از سیستم فعال‌ساز

Ratio of TA100		شمارش کلی سوش TA100		نمونه
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
۱/۲۶	۱	۹۵	۹۵	* ۱
۱/۱۰۴	۱	۷۸	۹۵	* ۲
۰/۹۸	۰/۸۹	۷۴	۸۵	** ۳

میانگین شمارش کلی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۷۵ میانگین شمارش کلی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۹۵

* نمونه‌های مربوط به پرستل بخش پاتولوژی ** نمونه مربوط به یکی از پرستل بخش تشریح

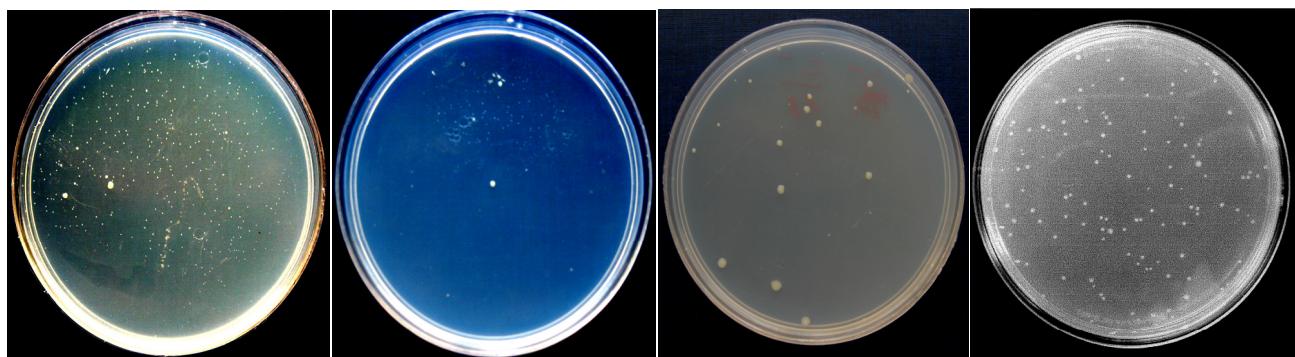
جدول-۳: نتایج آزمون جهش‌زایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با سوش‌های TA98 همراه با و بدون استفاده از سیستم فعال‌ساز متاپولیسم (رده سلولی ۸۹ کبد موش)

Ratio of TA98		شمارش کلی سوش TA98		نمونه
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
** ۲/۲	** ~ ۲۰	۵۵	~ ۵۵۰	۱
۱/۲	** ۱۵	۳۰	۳۴۰	۲
۱/۲۴	* ۱/۸۶	۳۱	۴۱	۳

میانگین شمارش کلی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۲۵ میانگین شمارش کلی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۲۲ * نتیجه مشکوک ** نتیجه مثبت

نسبت به جدول رفرانس بتوان از حضور و تاثیر آنها در نتایج آزمایش Matsuura شد. در ابتدا آزمایشات جهش‌زایی بدون استفاده از سیستم فعال کننده متاپولیسم صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست Ames نمونه شماره ۱ متعلق به یک خدمه مرد در بخش پاتولوژی بود. این نمونه در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش-های میکروبی نمود. همین نمونه در رقت ۱/۱۰۰ با سوش TA100 با

نسبت به جدول رفرانس بتوان از حضور و تاثیر آنها در نتایج آزمایش Matsuura شد. در ابتدا آزمایشات جهش‌زایی بدون استفاده از سیستم فعال کننده متاپولیسم صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست Ames نمونه شماره ۱ متعلق به یک خدمه مرد در بخش پاتولوژی بود. این نمونه در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش-های میکروبی نمود. همین نمونه در رقت ۱/۱۰۰ با سوش TA100 با



تست مثبت مریبوط به نمونه ۱ با شمارش
سلولی بالای ۵۰۰ کلینی در پلیت
(رقت ۱/۱۰۰) توسط سوش TA98

تست مثبت مریبوط به نمونه ۲ با شمارش
سلولی حدود ۴۰۰ کلینی در پلیت
(رقت ۱/۵۰) توسط سوش TA98

نمونه کنترل منفی تست (سوش TA98)

نمونه کنترل منفی تست (سوش TA100)

شکل-۲: پلیت‌های نمونه‌های مثبت و کنترل منفی سوش‌های TA98 و TA100 انکوبه شده در ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۴۸ ساعت

هود مناسب در زمان مطالعه می‌تواند از عوامل موثر در ایندکس مثبت جهش‌زایی محسوب گردد. در این مطالعه در دو مورد نتایج مثبت جهش‌زایی با استفاده از سوش TA98 همراه با فعال‌کننده متاپولیسم و در یک مورد بدون سیستم فعال‌کننده مشهود بود طی مطالعه‌ای در بررسی جهش‌زایی بر روی نمونه پرستارهای تهیه‌کننده داروهای شیمی‌درمانی در مراکز درمانی سرطان نشان داده شد که نتایج حاصل از سویه‌های TA98 در هر دو روش همراه و بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متاپولیسم معنی‌دار می‌باشد.^{۱۰} در مطالعه‌ای بر روی اثرات جهش‌زایی PAH بر روی نانویایان، نتایج مثبت از سوش‌های TA98 همراه با سیستم فعال‌کننده گزارش گردیده است.^{۱۱ و ۱۲} همچنین با توجه به استفاده از سیستم فعال‌کننده متاپولیسم در کسب نتایج مثبت در این سری از آزمایشات به این ترتیب این مواد به طور عمده در زمرة مواد پیش‌جهش‌زا قرار می‌گیرند. مواد پیش‌جهش‌زا فی‌نفسه و به‌تهاهی جهش‌زا نیستند ولی تحت تاثیر سیستم متاپولیسم انسانی به‌شكل جهش‌زا تبدیل می‌گردند.^{۱۳} از جمله این مواد می‌توان به گزیلول اشاره کرد که متاپولیت آن 2,6-xylidine به عنوان ماده کارسینوژن شناخته شده‌است.^{۱۴} از آنجایی که در تست‌های بیومانیتورینگ جهش‌زایی نتایج مثبت کاذب از طریق بررسی حضور عوامل مداخله‌گر از قبیل استعمال دخانیات و یا دیگر عوامل نیز عدم مصرف مواد جهش‌زا قبل از آزمون می‌گیرد^{۱۵} در این مطالعه نیز عدم مصرف مواد جهش‌زا قبل از آزمون محرز گردید. سپاسگزاری: بدین‌وسیله از پرسنل و مستولین سازمان پزشکی قانونی تهران و اساتید گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی تهران در انجام این مطالعه سپاسگزاری می‌نماید.

مشاهده گردید. این نمونه نیز متعلق به یک کارشناس خانم بود که در طول هفته و به مدت طولانی به‌علت انجام تهیه لام در معرض مواد سرطان‌زا قرار گرفته بود. همچنین نمونه شماره ۳ متعلق به تکنسین مرد بخش تشریح بود که با توجه به تست جهش‌زایی به میزان Ratio: ۱/۸۵ با سوش TA98 همراه با سیستم فعال‌کننده متاپولیسم می‌توان به مشکوک بودن جهش‌زایی آن اشاره داشت (جداول ۲ و ۳).

بحث

استفاده از آزمون جهش‌زایی در بیومانیتورینگ و شناسایی مناطق پرریسک در جهت پیشگیری از سرطان قویاً توصیه شده است.^۹ اهمیت بررسی تست جهش‌زایی عمدها در محیط‌های با تماس زیاد با مواد هیدروکربنی چند حلقه‌ای Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) و دیگر ترکیبات سرطان‌زا و متاپولیت‌هایشان مانند بنزن مطرح می‌باشد.^{۱۰} طی آزمایشات صورت گرفته با روش Ames Soraya بر نمونه‌های ادرار کارکنان آزمایشگاه شیمی با میزان تماس زیاد با حلال‌هایی همچون بنزن نتایج مثبت جهش‌زایی در نمونه افراد به‌دست آمد و ریسک ابتلا سرطان و آسیب ژنتیکی در این گروه اعلام گردید.^۷ در مطالعه بصیری در بررسی آزمون جهش‌زایی تعداد ۴۰ نمونه‌ادرار تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران نتایج مثبت جهش‌زایی ثبت گردید.^۹ در این مطالعه مشخص گردید که در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی موادی از جمله گزیل‌ازین، فرم‌آلدیید، بنزن و دیگر ترکیبات سرطان‌زا به میزان قابل توجه استفاده می‌گردد. طولانی بودن مدت زمان کار در این بخش و عدم استفاده از

References

- Mansoori GA, Mohazzab P. Nanotechnology in cancer prevention, detection and treatment: bright future lies ahead. *WRSTSD* 2007; 4: 226-57.
- Klaunig JE, Kamendulis LM. Chemical carcinogens. In: Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, editors. Casarett and Doull's toxicology. Casarett and Doull's toxicology. New York: McGraw-Hill 2008; 229-379.
- Hope SR. Occupaitional cancer. In: Current JL, editor. Current Occupational and Environmental Medicine. Australia: McGraw-Hill Professional; 2007. p. 231.
- Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res* 2000; 455: 29-60.
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1988; 11 Suppl 12: 1-157.
- Rezai-Basiri M, Samimi M, Ghazi-Khansari M, Rezayat M, Sahebgharani M, Partoazar M. Monitoring Ames assay on urine of clinical pathology laboratories technicians. *J Pharmacology and Toxicology* 2008; 3: 230-5.
- Varella SD, Rampazo RA, Varanda EA. Urinary mutagenicity in chemical laboratory workers exposed to solvents. *J Occup Health* 2008; 50: 415-22.
- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
- Choi BC, Connolly JG, Zhou RH. Application of urinary mutagen testing to detect workplace hazardous exposure and bladder cancer. *Mutat Res* 1995; 341: 207-16.
- Benhamou S, Callais F, Sancho-Garnier H, Min S, Courtois YA, Festy B. Mutagenicity in urine from nurses handling cytostatic agents. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 1489-93.
- Siwińska E, Mielżyńska D, Kapka L. Association between urinary 1-hydroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers. *Occup Environ Med* 2004; 61: e10.
- Mielińska D, Braszczyńska Z, Siwińska E, Smolik E, Bubak A, Sokal JA. Exposure of coke-oven workers to polycyclic aromatic hydrocarbons based on biological monitoring results. *Am Ind Hyg Assoc J* 1997; 58: 661-6.
- Chamberlain PL, Brynes SD. The regulatory status of xylazine for use in food-producing animals in the United States. *J Vet Pharmacol Ther* 1998; 21: 322-9.
- Dolara P, Mazzoli S, Rosi D, Buiatti E, Baccetti S, Turchi A, et al. Exposure to carcinogenic chemicals and smoking increases urinary excretion of mutagens in humans. *J Toxicol Environ Health* 1981; 8: 95-103.

Determining urine sample mutagenicity ratio using Ames test: Tehran forensic medicine laboratory personnels

Partoazar A.^{1*}
Ghazi Khansari M.¹
Abedi M H.²
Kaviani M.²
Norashrafeddin S M.¹
Basiri M R.¹
Talebi M.¹

1- Department of Pharmacology,
School of Medicine, Tehran
University of Medical Sciences
2- Legal Medicine Organization of
Tehran

Abstract

Received: January 17, 2009 Accepted: May 03, 2009

Background: Cancer prevention besides detection and treatment has a very important role in control of cancer disease. Since some chemical compounds that are used in laboratories, especially in pathology laboratory are potentially mutagens, lab assistances that are working with chemicals such as Benzene, Xylazine and Formaldehyde for long period of time may be exposed to overload of these carcinogens. Therefore, it is necessary to use an indicator for detecting these occupational exposures. Ames test has been recommended in biomonitoring of environment that has high risk carcinogenicity characteristic.

Methods: A total of fifty seven urine samples of forensic medicine laboratory personnel's were extracted by C18 column and then tested by TA100 and TA98 standard strains of Ames assay. Each sample was analyzed with and without activator to detect mutagen and promutagen materials.

Results: Levels of mutagenicity were found by TA98 strain without activator in one case as well as with activator in two cases of urine samples of pathology laboratory personnel's. These cases were working in laboratory for long time in all of the workdays.

Conclusion: Personnel's working in pathology laboratories may have greater risk of cancer and should be take care from these occupational exposures.

Keywords: Ames assay, mutagenicity, forensic medicine.

* Corresponding author: Dept. of Pharmacology, School of Medicine, Tehran University of Medical Science, Poursina St., Keshavarz Blvd., Tehran, IRAN
Tel: +98-21-66402569
email: partoazar@yahoo.com